

RADIOSENSIBILIDAD IN VITRO EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO



Universidad de Granada
Facultad de Medicina
Departamento de Medicina

Memoria que presenta para aspirar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía

Pedro Luis Carrillo Alascio

Granada, 2008

Editor: Editorial de la Universidad de Granada
Autor: Pedro Luis Carrillo Alascio
D.L.: GR.1602-2008
ISBN: 978-84-691-4895-2

D. JUAN FRANCISCO JIMÉNEZ ALONSO, Jefe de Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada y Profesor Titular del Departamento de Medicina de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

CERTIFICA:

Que **D. PEDRO LUIS CARRILLO ALASCIO**, Licenciado en Medicina y Cirugía por la Universidad de Granada, ha realizado su Memoria de **TESIS DOCTORAL** con el título **RADIOSENSIBILIDAD IN VITRO EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO**, bajo mi tutela y dirección para optar al grado de **DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA** por la Universidad de Granada, dando mi conformidad para que sea presentada, leída y defendida ante el Tribunal que le sea asignado para su juicio crítico y calificación. Y para que conste y surta efectos donde proceda, expido el presente certificado

Granada a 29 de Abril de 2008

Fdo. Prof. Dr. Juan Francisco Jiménez Alonso.

D^a. MARÍA ISABEL NÚÑEZ TORRES, Profesora Titular del Departamento de Radiología y Medicina Física de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada.

CERTIFICA:

Que **D. PEDRO LUIS CARRILLO ALASCIO**, Licenciado en Medicina y Cirugía por la Universidad de Granada, ha realizado su Memoria de **TESIS DOCTORAL** con el título **RADIOSENSIBILIDAD IN VITRO EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO**, bajo mi tutela y dirección para optar al grado de **DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA** por la Universidad de Granada, dando mi conformidad para que sea presentada, leída y defendida ante el Tribunal que le sea asignado para su juicio crítico y calificación. Y para que conste y surta efectos donde proceda, expido el presente certificado

Granada a 29 de Abril de 2008

Fdo. Prof. Dra. María Isabel Núñez Torres.

D^a. MARÍA ESCARLATA LÓPEZ RAMÍREZ, Doctora en Medicina y Cirugía, Especialista en Oncología Radioterápica del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada.

CERTIFICA:

Que **D. PEDRO LUIS CARRILLO ALASCIO**, Licenciado en Medicina y Cirugía por la Universidad de Granada, ha realizado su Memoria de **TESIS DOCTORAL** con el título **RADIOSENSIBILIDAD IN VITRO EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO**, bajo mi tutela y dirección para optar al grado de **DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA** por la Universidad de Granada, dando mi conformidad para que sea presentada, leída y defendida ante el Tribunal que le sea asignado para su juicio crítico y calificación. Y para que conste y surta efectos donde proceda, expido el presente certificado

Granada a 29 de Abril de 2008

Fdo. Dra. María Escarlata López Ramírez.

La Memoria de Tesis Doctoral que lleva por título **RADIOSENSIBILIDAD IN VITRO EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO**, ha sido presentada por el Licenciado Pedro Luís Carrillo Alascio para aspirar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía, habiendo sido dirigida por D. Juan Francisco Jiménez Alonso, Jefe de Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada y Profesor Titular del Departamento de Medicina de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada, por D^a. María Isabel Núñez Torres, Profesora Titular del Departamento de Radiología y Medicina Física de la Facultad de Medicina de la Universidad de Granada, y por D^a. María Escarlata López Ramírez, Doctora en Medicina y Cirugía, Especialista en Oncología Radioterápica del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada.

Fdo. Pedro Luís Carrillo Alascio

El trabajo de esta Tesis Doctoral ha sido realizado en parte gracias al proyecto 02/175, titulado “Radiosensibilidad Molecular in Vitro en Pacientes con Lupus”, financiado por la convocatoria en la que se conceden ayudas a proyectos de investigación, de la Conserjería de Salud de la Junta de Andalucía, del año 2002.

AGRADECIMIENTOS:

Deseo expresar mi agradecimiento a las personas que me ayudaron a realizar este trabajo:

A mi amigo y co-director de esta tesis el Prof. Juan Jiménez Alonso, Jefe de Servicio de Medicina Interna del Hospital Universitario “Virgen de las Nieves” de Granada, por su estímulo en la realización de este trabajo y en mi formación como persona y médico.

A la Dra. María Isabel Núñez por su amistad, paciencia para conmigo a la hora de explicarme los secretos de los ensayos predictivos de radiosensibilidad, y supervisión en el diseño y co-dirección de esta tesis doctoral.

A la Dra. Escarlata López por su amistad, por ayudarme a entender las dificultades de la radioterapia, y supervisión en el diseño y co-dirección de esta tesis doctoral.

Al personal del Laboratorio de Investigaciones Médicas y Biología Tumoral (Hospital Clínico, Universidad de Granada), por su paciencia en la recepción de las muestras, su amabilidad y su trabajo.

A mis amigos y compañeros residentes, Curro, Aquilino, Bárbara, Paco, Isa, Carmen, Laura, Julián, Encarna, David, Piti, Nuria, Pilar, Fernando y Concha por su amistad y cariño recíproco, y la señal imborrable que me han

dejado. Especialmente a Mario, por la constancia en su ánimo, estímulo y ayuda para llevar a buen puerto este trabajo.

A los adjuntos y enfermeros del Servicio de Medicina Interna por su ayuda continua durante los años que pasé con ellos, que siempre recordaré.

A Ana, enfermera de la Consulta de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas por su ayuda y amabilidad siempre conmigo y con los pacientes.

A la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía, por su Ayuda al proyecto de investigación.

A María Teresa Camps, por la valoración de este trabajo y sus recomendaciones.

A todos aquellos que me han ayudado a superar con ilusión las largas horas y complicaciones que esta tesis ha originado.

A los enfermos, sin los que esta tesis doctoral no tendría sentido.

A mis padres, por su apoyo incansable.

A Maria Luisa, por su generosidad, y a nuestro hijo Pedro.

***La verdadera ciencia enseña, sobre todo,
a dudar y a ser ignorante.***

Miguel de Unamuno (1864-1936).

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN:

CAPÍTULO I:

GENERALIDADES DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO.	1
1. Epidemiología.	2
2. Etiopatogenia.	3
3. Clínica.	10
4. Datos de laboratorio.	13
5. Actividad y daño lúdico.	15
6. Diagnóstico.	17
7. Tratamiento.	17
8. Pronostico.	20
9. LUPUS ERITEMATOSO CUTÁNEO.	22

CAPÍTULO II:

ASOCIACION ENTRE CANCER Y LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO. ...	25
1. Asociación entre enfermedades autoinmunes sistémicas y cáncer. ...	25
2. Prevalencia de cáncer en el LES.	26
3. LES y linfoma.	28
4. LES y otras enfermedades malignas hematológicas.	33
5. LES y tumores sólidos.	34
6. Potenciales mecanismos involucrados entre cáncer y autoinmunidad	36

CAPÍTULO III:

ENFERMEDADES AUTOINMUNES SISTÉMICAS Y RADIOTERAPIA.	39
1. Introducción.	39
2. Reacciones agudas.	41
3. Reacciones tardías.	43
4. Características de la técnica radioterápica.	46
5. Actividad reumatológica en el momento de la radioterapia.	48
6. Lugar de irradiación.	48
7. Asociación con quimioterapia o inmunosupresores.	48
8. Asociación entre lupus y efectos secundarios a la radioterapia.	48

CAPÍTULO IV:

RADIOSENSIBILIDAD CELULAR INTRÍNSECA.	53
1. Generalidades del tratamiento antineoplásico y radioterapia.	53
2. Tolerancia de los tejidos sanos a la radiación. Condicionantes de radiosensibilidad.	54
3. Base genética de la radiosensibilidad.	57
4. Daño y reparación molecular del ADN.	58
5. Medida de la tolerancia de los tejidos sanos a la radiación. Ensayos predictivos de radiosensibilidad.	63
5.1. Radiosensibilidad celular. Ensayos clonogénicos.	63
5.2. Radiosensibilidad molecular.	65
6. Ensayos de roturas dobles de cadena de ADN. La electroforesis sobre campo pulsado.	68
7. Elección del tipo celular.	70

8. ¿Por qué las roturas de doble cadena de ADN no explican todos los resultados?	72
9. Utilidad potencial de los test predictivos.	73

CAPITULO V:

ESTUDIOS DE RADIOSENSIBILIDAD IN VITRO EN PACIENTES CON LUPUS.	77
--	-----------

CAPÍTULO VI:

OBJETIVOS.	81
1. Objetivo principal.	81
2. Objetivos específicos.	81
3. Hipótesis de trabajo.	82

CAPITULO VII:

MATERIAL Y METODOS.	83
1. Pacientes.	83
2. Consentimiento informado.	84
3. Procedimiento:	84
3.1. Variables clínicas y analíticas.	84
3.2 Células obtenidas a partir de sangre periférica.	88
3.3. Ensayo de radiosensibilidad molecular: lesión molecular inicial radioinducida.	88
3.4. Ensayo de radiosensibilidad molecular: estimación del parámetro de radiosensibilidad molecular.	90

4. Análisis estadístico.	91
--------------------------------------	-----------

CAPÍTULO VIII:

RESULTADOS.	93
1. Descripción general.	93
2. Diferencias de rdc de ADN entre los diferentes grupos del estudio. ...	97
3. Antecedentes personales en pacientes con LES.	98
4. Subgrupos en pacientes con LES.	100
5. Parámetros de laboratorio en pacientes con LES.	102
6. Autoanticuerpos en pacientes con LES.	105
7. Edad. Índices de actividad y cronicidad en pacientes con LES.	107
8. Características terapéuticas en pacientes con LES.	110

CAPÍTULO IX:

DISCUSION.	117
1. Objetivo principal. Radiosensibilidad.	119
1.1. Tamaño muestral.	122
1.2. Edad de los pacientes.	122
1.3. Técnica de radiosensibilidad.	123
2. Antecedentes personales.	126
2.1. Antecedentes personales patológicos.	126
2.2. Raza.	127
2.3. Sexo.	129
2.4. Edad.	130
3. Subgrupos clínicos.	132

4. Fotosensibilidad.	134
5. Analítica básica.	136
5.1. Anemia.	137
5.2. Leucopenia.	140
5.3. Parámetros inespecíficos de actividad: VSG, PCR, LDH.	141
6. Autoanticuerpos.	142
7. Índices de actividad.	145
8. Índices de cronicidad.	147
9. Tratamiento.	148
CAPÍTULO X:	
CONCLUSIONES.	157
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.	159
ANEXOS.	207

INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO I

GENERALIDADES DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune compleja en la que interaccionan factores medioambientales, socioeconómicos y de susceptibilidad genética (1, 2). Pese al enorme volumen de conocimientos obtenidos en los últimos años, aún permanecen sin aclarar numerosas preguntas fundamentales acerca de mecanismos etiopatogénicos, aspectos clínicos, terapéuticos y pronósticos de esta enfermedad.

El LES es una enfermedad de etiología desconocida en la que se produce una lesión tisular y citológica por depósito de autoanticuerpos e inmunocomplejos de carácter patógeno. El resultado final es la afectación de múltiples órganos y sistemas cuyos mecanismos patogénicos comienzan a ser dilucidados. Así, la asociación entre una determinada susceptibilidad genética y diversos factores ambientales, desencadenaría la producción de una respuesta inmunológica anormal. Esta se caracteriza por un incremento de la función cooperadora de los linfocitos T, que conlleva mayor actividad de los linfocitos B y producción anómala de anticuerpos que, directamente ó en forma de complejos inmunes, serán los responsables de la mayor parte de las lesiones

tisulares. El LES puede afectar a cualquier órgano y evoluciona por brotes, con periodos de actividad y otros de inactividad clínica (3).

Los criterios diagnósticos del LES según la American College of Rheumatism (ACR) de 1982 (4), revisados en 1997 (5), se recogen en el Anexo 1.

1. EPIDEMIOLOGIA:

Las características de la población estudiada (edad, sexo, raza o procedencia étnica, etc.) influyen considerablemente tanto en la incidencia como en la prevalencia de esta enfermedad (6). El 90% de los casos se registra en mujeres, habitualmente en edad fértil, aunque también puede afectar a niños, varones y ancianos. Es más frecuente en personas de raza negra. La edad media de aparición se encuentra entre los 15 y 40 años, sin embargo hasta un 30% de los casos pueden aparecer antes de los 15 ó después de los 50 años (7). Los estudios de incidencia varían en las cifras desde 1,9 casos/100.000 habitantes en la población femenina inglesa, hasta 14/100.000 en una población de mujeres negras en Estados Unidos. En países del centro y norte de Europa las cifras de prevalencia varían entre 12 y 27 casos por 100.000 habitantes (8). En los últimos 40 años, la incidencia del LES se ha triplicado, posiblemente en relación directa con la administración de tratamiento hormonal en forma de terapia hormonal sustitutiva o anticonceptivos orales, exposición a radiaciones ultravioletas, consumo de tabaco, y principalmente por la determinación de los anticuerpos antinucleares (AAN), como prueba de despistaje de la enfermedad y la utilización desde 1982 de unos criterios diagnósticos más sensibles (4,9).

2. ETIOPATOGENIA:

Existen una serie de respuestas inmunitarias anómalas que dependen de una interacción entre genes de susceptibilidad y ambiente. Estas respuestas son básicamente dos: una hiperactividad policlonal y con especificidad de antígeno de los linfocitos T y B, y una regulación anómala de esta hiperactividad (10)

Factores genéticos.

Numerosos estudios familiares han confirmado la importancia de los factores genéticos en el desarrollo del LES. Así, la incidencia entre hermanos gemelos monocigóticos tiene una concordancia elevada entre el 14% y el 57%, disminuyendo hasta 1-2% en hermanos dicigóticos (11,12). En un estudio se demostró que el 27% de los niños con madres lúpicas tenían AAN (13). Sin embargo, el hecho de que un 90% de pacientes con LES carezcan de historia familiar lúpica refuerza el papel de otros factores no genéticos.

De esta forma, es posible que el LES resulte de los efectos de cierto número de genes que actúan de forma aditiva, aunque la penetrancia es relativamente baja, ya que pese a que un individuo tuviera todas la variedades genéticas posibles requeridas para desarrollar la enfermedad, éste puede no desarrollarla (14).

Aunque la predisposición genética en el desarrollo del LES parece evidente, la mayoría de los genes susceptibles todavía se desconocen, si bien se ha demostrado que al menos ocho *loci* en seis cromosomas diferentes podrían estar implicados (15). Estos son: 1q23, 1q25-31, 1q41-42, 2q35-37, 4p16-15.2, 6p11-21 (el loci MHC), 12q24, y 16q12. Estos genes participarían a través de diferentes vías, bien favoreciendo directamente trastornos en el

sistema inmune (déficit de factores del complemento, formación de autoanticuerpos patógenos, manejo de inmunocomplejos, regulación de la apoptosis, hipereexpresión de antígenos de activación de los linfocitos B, procesamiento y presentación de antígenos, conformación de los receptores de los linfocitos T) ó bien modulando o modificando la expresión de otros genes. No se ha identificado aún ningún gen como responsable necesario o suficiente para la expresión de la enfermedad.

Los pacientes con LES también tienen una mayor frecuencia de marcadores genéticos específicos que la población general. Estos marcadores incluyen (15,16,17,18,19): HLA-B8; HLA-DR2; HLA-DR3; DQW1; HLA-DMA*O401; deficiencia C2 (C2D); deficiencia C1q; deficiencia C4 (especialmente C4A y C4D); Gm; bajos niveles del receptor del complemento 1(CR1); ciertos alelos del receptor Fc; polimorfismo del “mannose binding lectin” (MBL); polimorfismos de varias citoquinas y receptores de citoquinas; en el gen PDCD1, alelos nulos del gen GSTM1 para la enzima glutation S-5transferasa mu (GST).

Factores ambientales

Se considera que los factores ambientales podrían precipitar el LES en pacientes genéticamente predispuestos. Los factores ambientales involucrados en la etiología de esta enfermedad son numerosos y de naturaleza muy diversa. Entre los mejor conocidos están: la radiación ultravioleta (RUV), agentes infecciosos, ciertos productos químicos, algunos productos presentes en los alimentos y el estrés.

Se desconocen los mecanismos exactos por los cuales la RUV puede desencadenar o exacerbar la enfermedad lúpica (20). Se ha postulado que las modificaciones del ácido desoxirribonucleico (ADN) provocadas por la RUV podrían ocasionar antigenicidad de la célula epidérmica y desencadenar una respuesta autoinmune. Los mecanismos propuestos, de forma resumida, para explicar su acción son varios (21,22,23,24,25): a) Susceptibilidad de los queratinocitos epidérmicos a la RUV, sintetizando y liberando citoquinas proinflamatorias como interleucina-1 (IL-1), factor de necrosis tumoral (FNT) alfa e interleucina-6 (IL-6). La exposición a la RUV provocaría un aumento de síntesis y expresión de antígenos Ro/SSA, ribonucleoproteico (RNP) y Sm por queratinocitos en cultivo, mediante los que se unen a anticuerpos IgG con dichas especificidades provenientes de pacientes con LES. b) Actuación de mecanismos efectores inmunológicos activados por citoquinas, dirigidos contra antígenos dérmicos específicos. De esta forma, la exposición a RUV produce diversos fenómenos de modulación linfocitaria que modifican su capacidad funcional y que por lo tanto pueden favorecer la disregulación de la respuesta inmune con desencadenamiento de la pérdida de autotolerancia.

La idea de que el LES pudiera estar provocado por algún agente infeccioso es antigua, aunque aún no se ha logrado establecer una relación causal inequívoca con ninguno de ellos. Experimentalmente está bien demostrado que diversos estímulos antigénicos microbiológicos como vacunas y lipopolisacáridos bacterianos, aceleran el desarrollo de la enfermedad en los ratones NZBxNZW, y que un medio libre de gérmenes impide o retrasa su aparición en esos mismos ratones (26). Los virus de la familia Herpetoviridae han sido los más estrechamente implicados, sobretodo el virus de Epstein-Barr

y el Citomegalovirus (27). Recientemente se ha sugerido la posibilidad de que péptidos derivados de retrovirus humanos con conocida capacidad de inducir anomalías inmunológicas jueguen algún papel etiológico (28).

También diversos productos químicos relacionados con la actividad laboral, el ocio o determinados hábitos se han señalado como posibles factores de riesgo para el desarrollo de LES. Así, se ha sugerido que el tabaco puede incrementar el riesgo de padecer LES en comparación con sujetos no fumadores o ex-fumadores (29) y aumentar su actividad. Así mismo, el polvo de sílice, especialmente entre hombres, puede incrementar el riesgo de desarrollar LES. Por otro lado, aunque inicialmente se relacionaron las aminas aromáticas contenidas en el tinte de pelo tipo permanente con la aparición de LES, en un estudio realizado por nuestro grupo, se demostró que el uso de este tipo de tinte no sólo no provoca la aparición de esta enfermedad sino que tampoco modifica la evolución a largo plazo de la misma (30). Aunque se ha descrito la alergia a pólenes como más frecuente en los LES, un trabajo de nuestro grupo no ha encontrado diferencias frente a la población general (31).

Sistema neuroendocrino

Cada vez se conoce mejor la interconexión fisiológica que existe entre los sistemas endocrino, neurológico e inmunológico (32). Dada la importancia del estrés en la modulación del sistema inmunológico, parece lógica la investigación encaminada a conocer su posible influencia sobre una enfermedad como el LES (33), siendo además, los estudios iniciales contradictorios en sus conclusiones. Así, se desconoce si un evento estresante puede desencadenar el comienzo de la enfermedad, o si puede contribuir a una

peor evolución de la misma. Nuestro grupo recientemente ha descrito cómo el estrés diario, y no un estilo de vida estresante, empeora la sintomatología clínica percibida por los pacientes con LES, este incremento de estrés se asociaba con un mayor actividad del LES a los 2 días del evento (34,35).

Hormonas, embarazo y anticonceptivos orales

Las hormonas sexuales se han relacionado con la etiopatogenia del LES (36), contribuyendo presumiblemente al dimorfismo sexual del sistema inmune, en particular, los estrógenos han sido considerados como factores que predisponen para el desarrollo del LES. Diversos estudios realizados en modelos animales han mostrado que los estrógenos exacerban la enfermedad facilitando la producción de anticuerpos anti-ADN nativo o de doble cadena (Anti-ADNn) y de inmunocomplejos circulantes. Sin embargo, ni existe relación entre la edad de la menarquia y el riesgo de padecer LES (26), ni se ha observado una mayor predisposición a desarrollar esta enfermedad en mujeres con menopausia precoz, aunque la lactancia materna parece reducir el riesgo de desarrollar LES (37). La hipófisis puede modificar su secreción hormonal mediante el estímulo de mediadores de respuesta inmune o inflamatoria (citocinas). Algunas de las hormonas hipofisarias han demostrado actividad inmunoestimulante, como la hormona de crecimiento y la prolactina (PRL), y otras son capaces de mediar la inmunosupresión (ACTH).

La PRL tienen un importante papel inmunomodulador y patogénico del LES (38,39), a través de la producción de inmunoglobulinas y anticuerpos anti-ADNn por los linfocitos y células mononucleares. En estudios recientes se ha visto que la hiperprolactinemia moderada estaba presente en los sujetos con

LES y que los niveles de PRL se correlacionaban con la actividad clínica y serológica de la enfermedad y la necesidad de inmunosupresores (40,41).

Por lo que respecta a la relación entre embarazo ó anticonceptivos orales (ACO) y LES, continúan las controversias establecidas desde hace años. Mientras que algunas publicaciones sugieren que el LES puede activarse durante el embarazo y en el curso de tratamientos hormonales, otras han sugerido diversos efectos beneficiosos de los ACO en mujeres afectas de LES, como son una contracepción eficaz, preservación de la densidad mineral del hueso, protección de la fertilidad durante el tratamiento con ciclofosfamida y cierto control sobre la actividad cíclica de la enfermedad. Recientemente se ha demostrado que la administración de ACO modernos con dosis bajas de estrógenos en pacientes con LES no produce constantemente exacerbación inmediata y remarcable de la enfermedad, de manera que pueden administrarse a largo plazo y no influir en el curso de la enfermedad (42,43,44).

Alteraciones inmunológicas

En la patogénia del LES intervienen principalmente dos factores inmunológicos, por un lado la predisposición genética a una estimulación excesiva en los linfocitos B, y por otro lado, una respuesta excesiva, genéticamente determinada, frente a antígenos linfocitarios o nucleares. Este grado de hiperestimulación hacia los linfocitos y antígenos nucleares permite la expansión de las diferentes clonas de los linfocitos B, capaces de producir anticuerpos contra dichos antígenos (45). El resultado final son las manifestaciones clínicas de la enfermedad, la hipergammaglobulinemia, la síntesis de autoanticuerpos y la disminución de la función supresora.

La apoptosis participa en la selección de los linfocitos T y en el mantenimiento de la tolerancia, ya que este mecanismo es el encargado de eliminar las células que podrían dar lugar a respuestas autoinmunes. Se cree que cambios en la expresión de genes cuya transcripción es fundamental en este proceso (en particular Fas y Bcl-2) podrían influir en la patogenia de las enfermedades autoinmunes, al favorecer la proliferación de determinadas poblaciones celulares de efecto autorreactivo (46).

Los factores genéticos, hormonales y ambientales inciden sobre el sistema inmunológico provocando múltiples alteraciones (47). Se ha comprobado que los monocitos y los linfocitos B procedentes de la sangre periférica de enfermos lúpicos generan de manera espontánea grandes cantidades de interleucina-10 (IL-10), y que niveles altos de IL-10 se correlacionan con índices clínicos y serológicos de actividad lúpica, especialmente con títulos elevados de anti-ADNn. Por todo ello, se considera a la IL-10 como una de las claves de la etiopatogenia del LES (48).

Los AAN pueden aparecer a títulos bajos en sujetos sanos y formar parte del repertorio de autoanticuerpos naturales. En cambio, los pacientes con LES poseen niveles elevados de anticuerpos anti-ADNn (IgM y algunas subclases de IgG) con una alta afinidad para determinadas estructuras del ADN y capaces de activar el complemento. En la mayoría de las publicaciones se observa una fuerte correlación entre los niveles elevados de anticuerpos anti-ADNn, actividad de la enfermedad y aparición de glomerulonefritis. En los últimos años se le ha dado una especial relevancia a los nucleosomas y a la cromatina como fuentes antigénicas para la formación de anticuerpos anti-ADNn.

El sistema del complemento está compuesto por más de 30 proteínas dispuestas en el plasma y en la superficie de las células (49). El complemento tiene dos funciones que son antagónicas, la inflamación y la antiinflamación, esta última se realiza mediante el aclaramiento de los complejos inmunes procedentes de la circulación y los tejidos. El complemento se une también a las células apoptóticas y ayuda a eliminarlas. Cuando el complemento falla los materiales de deshecho no pueden eliminarse y se acumulan dando lugar a una respuesta inmune. Los déficit tempranos de las fracciones del complemento C1q, C1r, C1s y C4 tienen una alta prevalencia de LES severo (50,51).

3. CLÍNICA

La evolución de pacientes con LES suele ser en brotes, con periodos en remisión y otros de intensa actividad. En algunos casos el curso puede ser rápidamente progresivo. Entre los factores que pueden desencadenar brotes se encuentran algunos fármacos, los estrógenos, infecciones intercurrentes, RUV de la radiación solar y posiblemente el estrés tanto físico como emocional (52).

Los *síntomas generales* más frecuentes son la fiebre, anorexia, pérdida de peso y astenia. La fiebre aparece hasta en el 90% de enfermos y puede variar de febrícula a fiebre elevada con sudoración y escalofríos, características que condicionan un diagnóstico diferencial con procesos infecciosos (6).

La afectación del *aparato locomotor* es la forma de presentación más habitual (hasta en el 95% de pacientes), siendo las artralgias el síntoma más frecuente, soliendo predominar en pequeñas articulaciones, con carácter simétrico y muchas veces transitorias (53).

Las manifestaciones cutáneo-mucosas son, con las anteriores, las más frecuentes, hasta en 70-80% de enfermos (54). Se distinguen las lesiones cutáneas específicas, que pueden ser la única manifestación de la enfermedad, y que se clasifican en lupus eritematoso cutáneo crónico (LECC), lupus eritematoso cutáneo subagudo (LECS) y lupus eritematoso cutáneo agudo (LECA). Por otro lado, durante la evolución del LES, pueden aparecer una variedad de lesiones como *fotosensibilidad*, úlceras orales, exantema maculopapular, telangiectasias, livedo reticularis, úlceras de tipo crónico, urticaria, púrpura vasculítica, edema angioneurótico, eritema polimorfo y nódulos subcutáneos.

A nivel *renal*, casi todos los pacientes con LES presentan depósitos de inmunoglobulinas en los glomérulos, pero sólo entre un 30 y 50% padece nefritis clínica con proteinuria. La afectación renal condiciona negativamente el pronóstico de los enfermos con LES, pues constituye una causa mayor tanto de morbilidad como de mortalidad (55). Existen diversas formas anatomopatológicas, para cuyo diagnóstico es imprescindible la biopsia renal, según la clasificación de la OMS; recientemente y fruto de una conferencia de consenso, se ha hecho pública una revisión de esta clasificación de nefropatía lúpica, en seis tipos (56): mesangial mínima (I), mesangial proliferativa (II), focal (III), difusa (IV), membranosa (V) y esclerosis avanzada (VI). La información relativa a la localización de los depósitos inmunitarios, el patrón histológico de la lesión renal y la actividad y cronicidad de las lesiones son muy útiles para predecir el pronóstico y elegir el tratamiento más adecuado.

A nivel *hematológico*, la anemia de las enfermedades crónicas se observa en la mayoría de los pacientes con LES activo. La leucopenia,

generalmente linfopenia, y la plaquetopenia, también son frecuentes, aunque no suele condicionar situaciones de gravedad. Las manifestaciones clínicas que conllevan la presencia de anticoagulante lúpico (AL) o anticuerpos anticardiolipina (aCL) son la trombopenia, trombosis venosas o arteriales recidivantes, abortos de repetición y valvulopatías. Aproximadamente un 30% de los pacientes con LES tienen anticuerpos antifosfolípidos (AL y aCL), y entre estos un 30-40% desarrollan alguno de los síntomas antes comentados, lo que se conoce como síndrome antifosfolipídico (SAF).

Las *manifestaciones neuropsiquiátricas* varían ampliamente, dependiendo de cada serie entre el 25% y hasta el 91% (57). A nivel neurológico están descritas crisis convulsivas, migraña, hemiplejía, parálisis de pares craneales, mielitis, corea y meningitis aséptica. La combinación de convulsiones, trastornos psiquiátricos y otras manifestaciones del sistema nervioso central (SNC) constituyen el llamado síndrome orgánico cerebral implicándose recientemente a los anticuerpos antifosfolípidos como mecanismo patogénico de este.

La pericarditis (40%) es la manifestación más frecuente del *lupus cardiaco* (58), aunque solo ocasionalmente produce taponamiento y la pericarditis constrictiva es muy rara. La miocarditis puede causar arritmias, muerte súbita e insuficiencia cardiaca, pero es menos frecuente. Por lo que se refiere a la insuficiencia valvular, casi siempre es aórtica ó mitral siendo una secuela poco frecuente de la endocarditis de Libman Sachs, pudiendo ser una fuente de émbolos cerebrales; este síndrome se asocia con frecuencia al SAF.

Las trombosis en vasos de cualquier calibre pueden constituir un problema grave. Aunque la vasculitis puede ser la responsable de fenómenos

vasculares en algunas ocasiones, cada vez está más demostrado que la presencia de AL y aCL son los responsables más importantes (59).

La *pleuritis y los derrames pleurales* son frecuentes en la enfermedad lúpica (60). La neumonitis lúpica cursa con disnea, fiebre y tos, e infiltrados difusos en la radiografía de tórax con áreas de atelectasia segmentaria. La neumonitis intersticial es rara; sin embargo es importante sospecharla en la fase inflamatoria inicial, puesto que si evoluciona a la fase de fibrosis la respuesta al tratamiento es prácticamente nula.

Las manifestaciones gastrointestinales del LES son menos conocidas, debido a su baja frecuencia, aunque no por ello despreciable. La presencia de úlceras orales es una manifestación común en el LES y constituye unos de los criterios de la ACR para el diagnóstico de esta enfermedad. La afección del hígado en el LES es de aproximadamente un 15-20% de los casos. La vasculitis intestinal es la manifestación más peligrosa, pudiéndose producirse una perforación intestinal (61).

A nivel *ocular* puede afectar a cualquier estructura. El síndrome seco se debe en ocasiones a la coexistencia de un síndrome de Sjögren secundario. La vasculitis retiniana representa la manifestación más grave, pudiendo evolucionar a ceguera en un corto periodo de tiempo, y requiere un tratamiento inmunosupresor agresivo y rápido.

4. DATOS DE LABORATORIO:

La presencia de AAN confirma prácticamente el diagnóstico en pacientes con manifestaciones clínicas sugerentes de LES (62). Son inmunoglobulinas que se unen a epítopos de moléculas de ADN y ácido ribonucleico (ARN)

unidas ó no a proteínas, ó bien solo a proteínas individuales, de localización nuclear, nucleolar y/o citoplasmática. Todos estos componentes son dianas potenciales en las enfermedades autoinmunes. Si el sustrato de la prueba está constituido por núcleos de células vivas, como las células WIL-2 ó HEP-2 en más del 95% con LES serán positivos. La positividad de los AAN no es específico para el LES; pueden existir AAN, habitualmente a títulos bajos, en personas sanas, aumentando su frecuencia con la edad. Otras enfermedades autoinmunes, enfermedades virales agudas, procesos inflamatorios crónicos y diversos fármacos pueden también dar positividad para los AAN. Por tanto unos AAN positivos apoyan el diagnóstico de LES pero no son específicos. La negatividad, sin embargo hace el diagnóstico más improbable. Los estudios más amplios de pacientes con LES, indican que aquellos pacientes sin AAN en ningún momento de la evolución, que son en torno al 5% (63), presentan con más frecuencia lesiones cutáneas discoides ó de LECS y fenómenos trombóticos. Por inmunofluorescencia se observan varios patrones, de los cuales, el más específico del LES es el homogéneo con refuerzo periférico, que refleja la presencia de anti-ADNn. Estos anti-ADNn son muy específicos del LES, apareciendo entre un 40-70% de los pacientes, mientras que es raro encontrarlos en otras enfermedades autoinmunes. La presencia de títulos elevados, si además van unidos al consumo de complemento (C3 y C4) suele correlacionarse con la actividad clínica de la enfermedad, y sobre todo sugerir la existencia de una nefropatía ya establecida ó incipiente (64). Los anticuerpos anti-ADN desnaturalizado ó monocatenario (anti-ADNm), al contrario de los anteriores, no son específicos del LES. Los anticuerpos extraíbles del núcleo (anti-ENA) son un grupo de anticuerpos muy frecuentes en las enfermedades

autoinmunes. Están dirigidos contra antígenos nucleares y citoplasmáticos solubles, que corresponden a proteínas no histonas y complejos ARN-proteína (RNP). Dentro de este grupo se incluyen varias estructuras antigénicas diferentes (Sm, RNP, Ro, La). Aparecen entre un 10 y 40% de pacientes con LES, siendo los anti-Sm los más específicos del LES, detectándose hasta en un 20% de pacientes. Los anti-Ro se relacionan con LECS y también lupus neonatal. Se han detectado otros autoanticuerpos entre los que destacan los anti-histonas en el lupus inducido por fármacos y los anticuerpos antifosfolípidos, o los anticromatina relacionados con el desarrollo de nefropatía (65). El factor reumatoide (FR) puede ser positivo hasta en un 30% de pacientes. Entre los datos ya menos específicos que nos aporta el laboratorio general es importante valorar la velocidad de sedimentación (VSG), cuya elevación es frecuente en fases de actividad, la proteína C reactiva (PCR) que aumenta ligeramente en las fases activas, pero que clásicamente se ha utilizado, cuando sus valores son muy elevados, para sospechar infecciones de carácter bacteriano sobreañadidas (66). Es frecuente también detectar anemia, leucopenia, linfopenia, hipergammaglobulinemia policlonal y elevación de la beta-2 microglobulina. Pueden existir también alteraciones del sedimento urinario (hematuria, proteinuria, etc.) en caso de nefritis ó infecciones de orina.

5. ACTIVIDAD Y DAÑO LÚPICO:

Una de las principales características del LES es su evolución en brotes, con periodos de actividad y otros de inactividad. Se entiende por brote o exarcebación del LES como la presencia de manifestaciones clínicas o biológicas que indiquen la afección por esta enfermedad de un órgano o

aparato previamente sano, o bien el empeoramiento de una sintomatología ya presente con anterioridad, y pueden cuantificarse mediante la utilización de índices de actividad, como el SLEDAI (67), ECLAM (68,69), SLAM (70), entre otros. Es importante resaltar que al hablar de actividad nos estamos refiriendo a una serie de manifestaciones mediadas por fenómenos inflamatorios que son potencialmente reversibles. Cuando se pasa este umbral y el daño producido por el LES sobre un órgano ya es irreversible, por pasar de un fenómeno inflamatorio a un fenómeno esclerótico, hablamos de daño lúpico, para el que también se han establecido escalas de medida como el SLICC (71,72). La importancia de esta diferenciación reside, fundamentalmente, en la necesidad de instaurar un tratamiento, en el primer caso, que pueda ser eficaz, mientras que, si aparecen manifestaciones de lesión irreversible, estos fármacos ya no serán efectivos, por lo que será preferible no utilizarlos para evitar sus efectos secundarios.

Marcadores biológicos de actividad en el LES

Se han intentado correlacionar diversos marcadores analíticos e inmunológicos con la actividad lúpica. A los marcadores de actividad clásicos bien conocidos como las citopenias (anemia, leucopenia, trombocitopenia), el aumento de la VSG, la elevación de los títulos de anti-ADNn, el descenso del complemento (C3, C4, CH50) y el examen urinario en caso de afectación renal, se han sugerido otros nuevos. La utilidad clínica de éstos últimos es, en la mayoría de los casos, pequeña, habiéndose observado en algunas ocasiones resultados contradictorios (19).

En la práctica diaria, la clínica y el examen físico junto con la valoración del hemograma, la VSG, el sedimento urinario, los niveles de anti-ADNn y del

complemento, sigue siendo por el momento el método más fiable para la evaluación de estos enfermos (73).

6. DIAGNÓSTICO:

Las grandes variaciones tanto clínicas como serológicas del LES, junto a la ausencia de cuadros patognomónicos o de pruebas de laboratorio específicas, motivaron a un grupo de expertos del ACR a elaborar en 1982 unos criterios (4) que han supuesto un avance notable tanto en la sensibilidad como en la especificidad diagnóstica e investigadora sobre LES, y que se han actualizado en 1997 (5).

Es importante remarcar que se trata de criterios útiles básicamente para la clasificación de los enfermos con la finalidad de incluirlos en estudios científicos, pero que no deben reemplazar el proceso diagnóstico y terapéutico en la actividad clínica diaria. La presencia de 4 ó más de estos 11 criterios en un mismo paciente hace el diagnóstico de LES definido. Los pacientes que presentan algunas manifestaciones habituales en el LES, como por ejemplo artritis no erosiva, linfopenia, AAN positivos, pero que no reúnen 4 criterios del ACR para la clasificación de esta enfermedad, sin que por ello el proceso que padecen deje de ser un LES, se han definido como LES probable (74).

7. TRATAMIENTO

El tratamiento es complejo, puesto que no hay definido aún un tratamiento etiológico. Las pautas terapéuticas actuales son todavía empíricas, aunque el estudio de los mecanismos de apoptosis y sus alteraciones en el LES, está permitiendo comprender los mecanismos por los que actúan algunos

de los fármacos que se utilizan. Antes de plantearse un tratamiento se debe realizar una valoración global del enfermo, tipo y gravedad de los sistemas y órganos afectados, actividad de la enfermedad y monitorizar tanto la respuesta como los efectos secundarios de los fármacos que se utilicen. Existe un porcentaje de pacientes que muestra remisiones clínicas espontáneas, y otro cuya enfermedad muestra un curso tan benigno que apenas necesitan tratamiento farmacológico. El objetivo del tratamiento debe ser mantener al paciente sin actividad clínica, llevando una vida de la forma más normal posible (75).

Durante los brotes es necesario realizar reposo, tanto físico como psíquico, volviendo a una actividad normal una vez superado (76). Se recomienda evitar el sol y utilizar protección solar con cremas adecuadas. Se debe abandonar el hábito tabáquico (77).

Los antipalúdicos, los corticoides y los inmunosupresores, junto con los antiinflamatorios no esteroideos, son los fármacos esenciales en el tratamiento del LES, y en gran medida han contribuido a lograr un mejor pronóstico de la enfermedad (78). Aunque se desconoce con exactitud su mecanismo de acción, los antipalúdicos siguen siendo uno de los fármacos más empleados en el LES dada su eficacia en las manifestaciones cutáneas y musculoesqueléticas de intensidad leve-moderada (79,80). Aunque son muy bien tolerados, pueden provocar algunos efectos secundarios como manifestaciones gastrointestinales y cutáneas, siendo la retinopatía la más grave. En este sentido, nuestro grupo ha descrito una incidencia significativa de prurito acuagénico-like, en relación tanto con el uso de cloroquina como de hidroxicloroquina (81,82); así como una mayor incidencia de alteraciones

gastrointestinales en un nuevo preparado comercial, sin disminución de su eficacia (83). La prednisona, sola o en combinación con otros inmunosupresores, es el fármaco de primera elección en pacientes con una afectación significativa de órganos. El metotrexato ha demostrado su utilidad como ahorrador de corticoides en enfermos de LES con un curso clínico moderadamente agresivo, excluyendo la afectación renal y del SNC; destacando su eficacia en el control de manifestaciones cutáneas y articulares (84), pero su probada teratogenicidad limita el uso en pacientes que planeen quedarse embarazadas. La ciclofosfamida, administrada en pulsos intravenosos mensuales, se ha utilizado con éxito en el tratamiento precoz de la fibrosis pulmonar asociada al LES (85) y en otras formas clínicas severas, como la nefritis lúpica. Un mejor ajuste de las dosis administradas (menor dosis con similar eficacia) ha permitido disminuir los efectos secundarios asociados a este fármaco. Así, recientes estudios han demostrado que, en el tratamiento de la nefritis lúpica, una pauta de pulsos de ciclofosfamida a dosis bajas seguida de tratamiento oral con azatioprina alcanza resultados comparables con el régimen clásico de pulsos intravenosos de ciclofosfamida a dosis altas (86), salvo en casos graves en los que sería recomendable un régimen más agresivo (87,88). La azatioprina se utiliza en las mismas circunstancias que la ciclofosfamida, cuando esta está contraindicada (89), su efecto inmunosupresor es menor, pero es mejor tolerada. Otros fármacos que han demostrado su eficacia en la nefritis lúpica son: la ciclosporina (90), el micofenolato mofetil (91,92) y las dosis altas de inmunoglobulinas intravenosas (93).

Otros tratamientos, la mayoría aún en fase de investigación, han sido propuestos en el tratamiento del LES (94,95,96,97). Muchos de estos nuevos

fármacos actúan sobre pasos específicos en la patogénesis del lupus. El LJP 394 es un fármaco inmunomodulador que induce tolerancia en los linfocitos B, actuando como un “anti-anti-ADN” (98). El anticuerpo monoclonal anti-IL10 (99). Rituximab, un anticuerpo monoclonal quimérico anti-CD20, utilizado para disminuir la respuesta de los linfocitos B (100,101). Dehidroepiandrosterona (DHEA) (102), leflunomida (103), prasterona (104), inmunoglobulinas (105), bromocriptina (106), el ligando CD145 (107), entre otros, también se están investigando en el tratamiento contra esta enfermedad autoinmune.

Así mismo se ha propuesto el uso de la terapia génica (IL-2 y TGF-B1 I o Dnasa I recombinante humana), si bien aún se encuentran en fases muy experimentales y hasta el momento no han demostrado resultados favorables clínicos y/o serológicos (47,108).

Por último, se ha propuesto la inmunoblación mediante altas dosis de quimioterapia, seguido o no de trasplante (autólogo o alogénico) de médula ósea, con objeto de alcanzar una reconstitución inmunológica. Sin embargo, los resultados no son definitivos pues se trata de estudios que incluyen pocos pacientes, con un corto seguimiento, aunque sí esperanzadores (109,110).

8. PRONÓSTICO

El LES puede evolucionar con un curso clínico muy variado: desde un proceso relativamente benigno a una enfermedad rápidamente progresiva con fallo orgánico fulminante y muerte. Los factores que influyen en el pronóstico y evolución de la enfermedad son múltiples e incluyen: manejo en centros especializados, sexo, raza, edad de aparición de la enfermedad, forma de debut de la misma (con o sin afectación orgánica) y la existencia de otras

patologías asociadas (111,112). La tasa de supervivencia ha aumentado extraordinariamente en los últimos años, así se ha pasado de una supervivencia a los 5 años inferior al 50% a superar el 90% a los 10 años (52,55). Esta mejoría es debida a varios factores, entre los que destacan la precocidad del diagnóstico, el manejo más correcto de los corticoides, la aparición de los inmunosupresores, los avances en el tratamiento de la hipertensión arterial y de las infecciones intercurrentes, así como de una mayor disponibilidad de la diálisis y el trasplante renal. Este aumento de supervivencia se ha acompañado de una variación en las causas de muerte.

Desde los años 70 se describe un patrón de mortalidad bimodal en los enfermos de LES, en el que las muertes tempranas se asocian a la actividad de la enfermedad y/o infecciones, mientras que las tardías se deben a aterosclerosis generalizada. En un reciente estudio europeo sobre mortalidad y morbilidad (55), durante 10 años de seguimiento en 1000 pacientes con LES, el 36% presentó infecciones, el 16.9% hipertensión, el 12.1% osteoporosis, el 8.1% citopenias secundarias a los inmunosupresores y el 2.3% neoplasias (siendo las localizaciones más frecuentes útero y mama). Del 6.8% de muertes, el 26.5% correspondieron a LES activo, el 26.5% a fenómenos trombóticos y el 25% a infecciones. La probabilidad de supervivencia a los 10 años fue del 92%, reduciéndose al 88% en pacientes con nefropatía. Cuando se consideró la aparición de complicaciones a corto y largo plazo, las manifestaciones inflamatorias disminuyeron a largo plazo, probablemente por efecto de la medicación inmunosupresora, convirtiéndose las causas trombóticas en las principales determinantes de la morbilidad y mortalidad. Así mismo, en un estudio de mortalidad sobre 9547 pacientes con LES, y con un total de 1255

fallecimientos, los resultados mostraron un incremento de muertes observadas frente a esperadas de 2.4 (frente a la población general), siendo particularmente más alta la mortalidad en pacientes con enfermedad circulatoria, infecciones, enfermedad renal, linfoma no Hodgkin (LNH) y cancer de pulmón. El subgrupo de pacientes con mayor mortalidad fue el de mujeres jóvenes de raza afro-americana y duración del LES de menos de 1 año (113).

9. LUPUS ERITEMATOSO CUTÁNEO (LEC):

Las lesiones cutáneas del lupus eritematoso pueden formar parte de la afección multisistémica del LES, o presentarse como la manifestación única y exclusiva del proceso (54). Estas últimas permiten por sí mismas el diagnóstico de LEC, independientemente o no de los criterios para LES de la ACR. Se clasifican en tres tipos: a) lupus eritematoso cutáneo crónico (LECC) con lesiones crónicas, persistentes, que dejan cicatriz y que en el 90% afecta exclusivamente a la piel, acompañándose de AAN positivos de un 5 a un 70% de casos, su lesión más típica es definida como lupus eritematoso discoide (LED) y se caracteriza por una lesión en forma de placa eritematosa y descamativa o hiperqueratósica muy bien delimitada con tendencia a la cronicidad, otra forma de LECC es la paniculitis lúpica o lupus profundo; b) lupus eritematoso cutáneo subagudo (LECS) con lesiones descamativas en brotes desencadenados por el sol que curan completamente sin dejar cicatriz; y c) lupus eritematoso cutáneo agudo (LECA) que define al clásico eritema malar en alas de mariposa transitorio y que suele acompañar al LES.

Su diagnóstico es histopatológico, y se basa en la combinación de: a) atrofia epidérmica, b) degeneración hidrópica de las células de la capa basal de

la epidermis y c) infiltrado inflamatorio dérmico compuesto por células mononucleares y localizado en zona subepidérmica, perivascular y perianexial.

En el tratamiento es fundamental evitar la exposición solar. La aplicación de cremas de corticoides es útil y suficiente en algunos casos. Si no mejoran con tratamiento local, pueden utilizarse antimaláricos o corticoides orales. En pacientes con lesiones resistentes se pueden ensayar inmunomoduladores como la clofacimina, talidomina o azatioprina.

CAPÍTULO II

ASOCIACIÓN ENTRE CANCER Y LUPUS ERITEMATOSOS SISTÉMICO.

1. Asociación entre enfermedades autoinmunes sistémicas y cáncer.

La asociación entre enfermedades autoinmunes sistémicas (EAS) y enfermedades malignas se ha considerado tema de interés desde hace algunas décadas (114,115), mostrándose un incremento significativo de ciertas neoplasias en algunas enfermedades. Destacan las enfermedades hematológicas malignas, particularmente LNH, que están incrementadas en pacientes con artritis reumatoidea (AR) (116), el cáncer de pulmón en pacientes con esclerosis sistémica (ES) y fibrosis pulmonar (117), y el LNH en el síndrome de Sjögren (SS) (118) y la dermatomiositis (DM) (119).

Isao Okayasu et al (120) recogieron en seis años 180.350 autopsias, de ellas 757 correspondían a LES, 226 a Esclerodermia, 147 a Poliarteritis Nodosa (PAN) y 238 a Dermato-Polimiositis (DM-PM). Asociándolas al diagnóstico de cáncer encontró 9 en los LES, de estas 3 en estómago y 2 en tiroides; 20 en la esclerodermia, de estas 8 en pulmón y 3 en útero; 6 en las PAN, con 3 en estómago; y 89 en las PM-DM, de estas 43 en estómago, 8 en pulmón y 8 en útero. Destacaron que las enfermedades del colágeno que más frecuentemente desarrollaron cáncer fueron la PM-DM y la Esclerodermia.

Villa et al (121) estimaron la magnitud del riesgo de desarrollar enfermedades malignas (linfoproliferativas o sólidas), entre 360 pacientes con 5 diferentes enfermedades reumatológicas durante un periodo de 32 años. El grupo de LES incluyó 130 pacientes. La asociación entre enfermedad autoinmune y cáncer, utilizando la proporción entre cáncer observado y esperado fue la siguiente: DM y cáncer 2-8, SS y enfermedades linfoproliferativas 33-43, ES y cáncer de pulmón 4-16, y AR y enfermedades linfoproliferativas 2-8. Concluyeron que el LES tenía un menor riesgo de desarrollar enfermedades malignas cuando se comparaba con las otras enfermedades reumatológicas.

2. Prevalencia de cáncer en el LES:

La verdadera asociación entre LES y cáncer es desconocida, y ha sido sospechada en base a numerosos casos aislados, series de casos y estudios de cohortes. El primer caso descrito de asociación entre LES y cáncer fue publicado por Camarata et al en 1963 (114), aunque no fue hasta 1974 cuando se publicó la primera serie de pacientes con 70 LES (174). Así mismo, los estudios de mortalidad han reconocido al cáncer como factor de morbilidad y mortalidad a considerar en el LES (122, 123).

La frecuencia de cáncer en pacientes con LES se ha descrito entre el 2,5% y el 13,8%. Así, por ejemplo, Mellemkjer et al (124) encontraron una frecuencia de 6,4% en 1585 pacientes; de igual forma Abu-Shakra et al (125) describieron un 3,2% en 724 pacientes. En un estudio sobre mortalidad en la North American Lupus Clinic (122) sobre 665 pacientes, los tumores malignos

se describieron en el 9,7% de los 124 pacientes que murieron. La prevalencia más elevada fue de 13,8% en una cohorte sueca (126) de 116 pacientes.

La probabilidad de padecer cáncer entre pacientes con LES, en los artículos publicados, se ha estimado como la comparación entre el número de cáncer observado en la población de estudio, con el número de cáncer esperado en la población general, es decir, el número de cánceres que hubiesen ocurrido en la población de estudio, en el caso de que dicha población hubiese sufrido las mismas tasas de cáncer, específicas por edad, que la población de referencia; es lo que se conoce como razón de incidencia estandarizada (en inglés, *standardized incidence rate (SIR)*). Puesto que los pacientes con LES difieren entre sí en variables genéticas, hormonales y ambientales, este método de estimación puede ser sesgado y desorientador.

Se han publicado varios estudios longitudinales que estiman el riesgo de cáncer en pacientes con LES comparados con la población general (124,125,126,127,128,129,130,131,132,133,134,135). La mitad de estos artículos (125,126,127,129,130,131,134) no encuentran aumento del riesgo de cáncer, incluyendo a 1805 pacientes. El riesgo de cáncer fue significativamente menor en una cohorte de 724 pacientes con LES comparado con un total de 1426 pacientes con AR y 248 con ES (125).

El resto de estudios (124,128,132,133,135) describen un incremento del riesgo de padecer cáncer en pacientes con LES, respecto a la población general, siendo este riesgo pequeño en las dos publicaciones con más casos. El mayor de estos trabajos, un reciente estudio multicéntrico internacional (135), que incluyó a 9547 pacientes de 23 centros seguidos durante una media de 8 años, detectó un total de 431 cánceres; se comparó con la población

general, detectándose un ligero aumento del riesgo de padecer cáncer en estos pacientes; así el SIR global estimado fue de 1,15, con un intervalo de confianza del 95% (IC 95%) de 1,05-1,27. El segundo mayor de estos estudios (124) identifica un SIR global estimado de 1,3 (IC 95%, 1.06-1.58) entre 1585 pacientes con un seguimiento de 10807 pacientes/año. El riesgo mayor se observó entre 205 pacientes con LES en Finlandia (SIR 2,6, IC 95% 1.5-4.4) (128), que se relacionó con un rango excepcionalmente alto de LNH (SIR 44, IC 95% 11.9-111) y sarcomas de tejidos blandos (SIR 49; IC 95% 6.0-177).

Se ha postulado que el posible mayor riesgo de cáncer en los pacientes con LES se pueda deber a un mayor esfuerzo de detección en estos pacientes al presentar una enfermedad crónica. Así, este hecho tendría que llevar aparejado una detección más temprana de los cánceres. En este sentido, Bernatsky et al (136) realizaron un estudio retrospectivo, encontrando sin embargo un menor porcentaje de mujeres con cáncer de mama localizado (56,2%) comparado con la población general (63,5%).

3. LES y Linfoma:

Mientras que sigue la controversia sobre si el LES está asociado con un aumento del riesgo de todos los tipos de cáncer globalmente considerados, éste ha sido asociado con un incremento del riesgo de enfermedades malignas linfoproliferativas. Si esta asociación es casual o tiene una base etiopatogénica común es desconocido.

La sospecha del aumento del riesgo de desarrollar linfomas se basa tanto en modelos animales de LES, especialmente del modelo (NZB/NZW)F1 y MRL/lpr, que desarrollan espontáneamente linfomas malignos y

macroglobulinemia monoclonal (137), como en la existencia de pacientes con LES que desarrollaron Linfomas (138,139,140).

El desarrollo de neoplasias hematológicas en estos pacientes no se ha asociado con manifestaciones clínicas o subtipos específicos del LES. Los tumores linfoproliferativos fueron encontrados tanto en formas intermedias y severas de LES, LED o LECS (124,125,128,129,141,142,143,144).

El aumento del riesgo de linfomas malignos se ha mostrado en múltiples series de enfermos con LES, sin embargo, otros autores no han podido demostrar una asociación claramente positiva entre ambos (145,146).

Entre los trabajos más amplios que no han encontrado relación entre LES y enfermedades malignas hematológicas, destacan las siguientes: Lopez-Dupla et al (147) en un grupo de 96 pacientes con LES seguidos durante 11 años, Sweeney et al, primero sobre un grupo de 219 pacientes (129) y posteriormente sobre una cohorte diferente de 616 mujeres durante 11 años (130), así como Ines et al (148) con 294 LES en un estudio de casos y controles. En un estudio de cohortes reciente (134) sobre 238 pacientes con LES en Islandia encontraron 39 enfermedades malignas en 36 pacientes (32 mujeres y 4 hombres), la edad media de LES fue 43,2 años y para las enfermedades malignas de 62,7 años. El SIR para el total de LES fue de 1,38 (IC 95% 0,89-1,87), 1,45 para las mujeres (IC 95% 0,91-1,99) y 1,03 para los hombres (IC 95% 0,22-2,66), siendo para el linfoma de 5,48 (IC 95% 0,64-19,6). El global de los datos no sugerían un aumento del riesgo de neoplasias malignas, quedando los linfomas al borde de la significación estadística.

La mayoría de los estudios, sin embargo, muestran un incremento del SIR de sufrir enfermedades linfoproliferativas frente a la población general.

Petterson et al (128) analizaron la aparición de cáncer en una serie de 205 pacientes con LES tratados en Finlandia durante 21 años. El SIR de LNH fue extremadamente elevado (RR 44, IC 95% 11.9-111), siendo los autores incapaces de mostrar por estudio de casos y controles ninguna influencia de fármacos citotóxicos en la aparición del linfoma.

Abu-Shakra et al (125) mostraron un incremento de 4,1 veces en el riesgo de neoplasias hematológicas en una cohorte de 724 pacientes seguidos prospectivamente durante 24 años, especialmente por incremento del riesgo de LNH (SIR 5,4), mientras que algunos casos de leucemia y mieloma múltiple (MM) no alcanzaron significación estadística, cuando fueron analizados por separado. Ninguno de los que desarrollaron neoplasias hematológicas habían recibido previo al diagnóstico de cáncer terapia citotóxica.

Mellemkjer et al (124) siguieron 1585 pacientes con LES durante 15 años, concluyendo que el SIR de desarrollar LNH era de 5,2 (IC 95% 2.2-10.3). De los 8 pacientes que desarrollaron LNH en la evolución de su LES, 2 fueron tratados con azatioprina junto a esteroides, y en 2 se desarrolló un SS secundario.

Sultan et al (131) siguieron 276 pacientes durante un periodo de 20 años, sin encontrar un aumento significativo del SIR de cáncer globalmente considerado, aunque encontró un incremento de 17,82 veces de LNH. Sin embargo, y aunque estadísticamente significativo, estos datos se basaron sólo en un caso. Los autores no pudieron relacionar ningún cáncer observado con terapia citotóxica previa.

Cibere et al (132) siguieron a 297 pacientes con LES durante 10 años, y encontraron un SIR de 4,9 (IC 95% 1.57-11.43) para todos los cánceres

hematológicos, con un SIR 7,01 (IC 95% 1.88-17.96) para el LNH, sin identificar asociación entre ningún cáncer y terapia citotóxica previa.

Nived et al (133) describieron, en un estudio de 116 pacientes con LES seguidos durante 15 años en el sur de Suecia, un incremento 11,65 veces del SIR (IC 95% 1.4-42.0) de desarrollar LNH.

En un estudio sobre población escocesa, Zoma et al (149) describieron un aumento de 7 veces el SIR de desarrollar LNH.

Bernatsky et al (150) reunieron en un metaanálisis los datos procedentes de seis estudios de cohortes de LES y calcularon el riesgo de cáncer. El SIR para todas las neoplasias hematológicas fue 4,06, para LNH 3,57, para enfermedad de Hodgkin (EH) 2,35, y para leucemia 1,75, sugiriendo los datos globales un incremento de casi el 60% de enfermedades malignas hematológicas, cuando se compara con la población general. Los mismos autores, en otra publicación (151), demuestran como el riesgo de padecer EH está incrementado en pacientes con LES.

En un reciente estudio de cohortes internacional (135), que incluyó a 9547 pacientes con LES de 23 centros seguidos durante una media de 8 años, detectaron un total de 431 cánceres. Se comparó con la población general, detectándose un ligero aumento del riesgo de padecer cáncer en estos pacientes. Así, el SIR global estimado (proporción entre cáncer observado y esperado) fue de 1,15, con un intervalo de confianza del 95% de 1,05-1,27. Las neoplasias que mayor riesgo demostraron fueron las hematológicas en su conjunto, con un SIR de 2,75 (IC 95% 2,13-3,49), y los LNH con un riesgo de 3,64 (IC 2,63-4,93).

Xu y Wiernik (152), describieron 9 casos de LES o LED y linfoma-B, seguido de una revisión de los casos similares de LES publicados hasta 2001. De los 92 infomas-B recogidos por estos autores, 24 tenían EH, 56 LNH y 12 casos de enfermedades de células plasmáticas. La edad media del diagnóstico de LES fue de 38 años, para la EH 9 pacientes tenían entre 15-36 años y 12 entre 45 y 79 años (distribución bimodal similar a la población general). Para el LNH la media fue de 42 años, y para discrasias de células plasmáticas de 50 años. La mayoría de estos pacientes (el 68%) fueron dignosticados de LES antes del diagnóstico de Linfoma-B, de los que el 80% fueron tratados con prednisona, azatioprina o antimaláricos, sin embargo el resto desarrollaron linfomas-B sin ninguna exposición previa a inmunosupresores. Sólo 6 pacientes desarrollaron LES tras el diagnóstico de neoplasias de células B. Analizando todos los casos describieron que la edad de diagnóstico de enfermedad hematológica y de LES fue similar que para la población general, ocurriendo las hematopatías más frecuentemente tras el diagnóstico de LES.

Zhang (153) con 601 LNH realizó un estudio retrospectivo, comparado con controles, sobre los antecedentes o tratamientos previos que podrían relacionarse con su desarrollo; entre otros encontró un mayor riesgo entre mujeres con enfermedades autoinmunes, incluido el LES, y el uso de corticoides.

La asociación entre LES, LNH y SS ha sido descrita (129), pero el SS clásico con afectación parotídea, linfadenopatías y anti-Ro positivo es infrecuente entre los pacientes con LES, lo que parece indicar que el SS secundario no es un factor principal en el desarrollo de linfoma entre los pacientes con LES.

Por otro lado, el aumento del riesgo de neoplasias linfoproliferativas no se ha encontrado relacionado con la severidad o extensión de la enfermedad, esto es, LES frente a LED (124,125,128,129,141).

4. LES y otras enfermedades malignas hematológicas:

Las proteínas monoclonales aparecen en el 2% de pacientes con LES, una frecuencia que es mayor a la esperada en la población general. Se han descrito varios casos de macroglobulinemia de Waldenstrom y mieloma múltiple (MM) en asociación con LES (125,154,155), aunque ningún trabajo ha encontrado un riesgo superior que en la población general. El MM se desarrolló generalmente entre pacientes con enfermedad prolongada e inactiva. Recientemente Ali et al (156) han descrito, sobre un total de 1083 pacientes con LES, 59 casos de gammapatía monoclonal, con desarrollo de 9 neoplasias, ninguna de ellas MM, comparando los datos con un grupo control. Los autores concluyen que la gammapatía monoclonal es más frecuente en pacientes con LES que en la población general, con un curso más benigno en los LES. No encontraron diferencias en las manifestaciones clínicas, tratamiento o riesgo de neoplasias entre los LES con o sin gammapatía monoclonal.

Así mismo, se ha descrito un aumento en el riesgo de desarrollar leucemia de hasta 2-3 veces (125,124), siendo la mayoría de los casos de leucemia linfocítica crónica (LLC) o leucemia mieloide aguda (LMA). El desarrollo de leucemia en el LES, en particular de LMA, se relacionó con la terapia citotóxica o inmunosupresora administrada, incluyendo ciclofosfamida, azatioprina y metotrexato (157,158,159,160). Sin embargo, la leucemia puede

desarrollarse en LES que no hayan recibido ciclofosfamida u otros agentes citotóxicos antes del diagnóstico de leucemia (125,161).

5. LES y tumores sólidos:

La descripción de pacientes con LES que han desarrollado diferentes tipos de cáncer sólidos incluye, tanto publicaciones de casos anecdóticos en diferentes órganos, como estudios de cohortes.

La descripción de casos aislados se ha dado en casi todos los órganos, como en estómago (162), piel (163,164) especialmente de células escamosas sobre lesiones discoideas lúpicas, ginecológicos (cervix, útero) (165), pulmón (166,167), vejiga (168), sarcomas (169), hepatobiliares (170), cerebrales (171), canal anal (172), mama (136), por sólo nombrar algunos.

Varios estudios de cohortes (115,124,125,126,128,129,130,131,132, 133,134,135,173,174) han calculado localizaciones específicas de riesgo entre pacientes con LES. Una revisión de estos artículos indica que el LES, en general, no se asocia con aumento del riesgo de desarrollar muchos de estos tumores sólidos, aunque con resultados contradictorios. De esta forma, mientras Ramsey-Goldman et al (130) aportaron un SIR sobre la población general de 3,1 veces mayor de sufrir cáncer de pulmón entre mujeres con LES en un condado de Illinois, estos mismos autores no identificaron aumento del riesgo de cáncer de pulmón, u otras neoplasias sólidas, en mujeres residentes en otro condado. Así, mientras que en un estudio sueco (126) en el que los autores sugerían como hipótesis un aumento del riesgo de cáncer de pulmón en pacientes con LES, y donde estos no encontraron diferencias significativas respecto a la población general, Bernatsky et al (135), en un amplio estudio

multicéntrico de cohortes, demostraba un mayor SIR de sufrir cáncer de pulmón en los pacientes con LES que la población general de 1,37 (IC 95% 1,05-1,76). Estos últimos autores (175) describen una igual distribución de tipos histológicos de cáncer de pulmón que en la población general.

Otros estudios de cohortes realizados, ofrecen resultados interesantes. Ragnarsson et al (134) sobre 238 pacientes con LES, comparados con la población general, describieron un aumento significativo del SIR de padecer tumores cutáneos de células escamosas (SIR 6,43; IC 95% 1,31-18,5). Sin embargo, el SIR para el resto de cánceres sólidos más frecuentes (útero 2,46, ovario 2,0, pulmón 1,72, mama 1,6) no alcanzaban significación estadística. También Bernatsky et al (135) describieron un aumento de la probabilidad de cáncer hepatobiliar con un SIR 2,60 (IC 95% 1,25-4,78), en un amplio estudio multicéntrico de cohortes.

Varios estudios (132,133,134) describen la asociación entre neoplasias ginecológicas y LES. Así, Cibere et al (132) estimaron un SIR de 8.15 (IC 95% 1.63-23-81) para el cáncer de cervix. Tam et al (176) describieron, en un trabajo de casos y controles con 85 LES, una mayor prevalencia de papilomas en muestras cervicales, con aumento de lesiones escamosas en las mujeres con LES. Así mismo, Ognenovski et al (177) describieron en 61 mujeres con LES un aumento de la incidencia, a los 3 años de seguimiento, de neoplasia intraepidérmica cervical en las pacientes tratadas con ciclofosfamida intravenosa y prednisona que frente a otros regímenes terapéuticos.

En el trabajo de Nived et al (133) se describe un aumento significativo del SIR de cáncer de próstata (6,41; IC 95% 1,3-18,7), pero basado sólo en tres casos sobre 116 enfermos seguidos. Zoma et al (149) describieron un

aumento del riesgo de cáncer de estómago, timo, vagina y vejiga, entre pacientes de LES de Escocia.

Series de casos han apuntado la relación entre cáncer de vejiga y LES, especialmente entre los tratados con ciclofosfamida (168,178). Sin embargo, en dos estudios de seguimiento de 5 y 10 años, ninguno de los 38 pacientes con nefritis lúpica que fueron tratados con ciclofosfamida desarrollaron cáncer de vejiga (179,180).

En general, la detección de un aumento estadísticamente significativo del riesgo de cánceres específicos entre LES, comparado con la población general, estaba basado esencialmente sólo en unos pocos casos (2-6 casos). De esta forma, la significación clínica del desarrollo de estos tumores sólidos en pacientes con LES no está clara, y es posible que ocurra sólo por casualidad. Así, se describió un aumento del riesgo de sarcomas de tejidos blandos en un estudio finlandés (128), con un SIR de 49 (IC 95% 6 – 177), estando sus datos basados sólo en dos casos de este cáncer.

Por otro lado, los datos procedentes de una cohorte danesa (124) que muestra un aumento significativo del riesgo de hepatoma, cáncer de pulmón y cáncer de vulva y vagina, incluyen sólo pacientes hospitalizados. Así, el aumento del riesgo de padecer estas neoplasias puede ser el resultado de un sesgo de selección.

6. Potenciales mecanismos involucrados entre cáncer y autoinmunidad:

Varios postulados, en lo que respecta a los mecanismos patogénicos involucrados en el desarrollo de enfermedades malignas linfoproliferativas, en su asociación con las EAS, han sido sugeridos en estos años. Varias

publicaciones han revisado los mecanismos posibles para el desarrollo de cáncer entre los pacientes con LES, y su relación con la autoinmunidad (152,181,182). En resumen, serían los siguientes:

El papel de los oncogenes: El primer mecanismo teórico sería el fallo en la apoptosis como proceso para el desarrollo de LES, y de oncogenes como nexo de unión entre autoinmunidad y cáncer. La respuesta inmune anormal en el LES se caracteriza por la acumulación de linfocitos T y B autorreactivos, y por el fallo de múltiples circuitos inmunorreguladores. Defectos en el gen Fas, genes de supresión tumoral PTEN, o en el oncogen bcl-2, conduciría a prolongar la supervivencia de células B hiperactivas en el LES, aumentando así la probabilidad de una transformación en células B malignas.

Papel de la hiperactividad linfocitaria: El segundo mecanismo teórico sería la concentración de células hiperactivas B y T en los ganglios linfáticos, por la inmunotolerancia del LES, que pueden favorecer la transformación neoplásica. Aunque las células B y T en los ganglios linfáticos de pacientes con LES tienen hiperactividad celular benigna, la concentración y constante expansión clonal de estas células debida a apoptosis imperfecta, en respuesta a autoantígenos, puede presentar fallos ocasionales en su control y resultar en traslocaciones cromosómicas de oncogenes, predisponiendo de esta manera a la transformación maligna.

Papel del Virus de Epstein-Barr (VEB): El tercer mecanismo teórico sería la persistencia de infecciones por el VEB, como camino etiológico común tanto para el LES como para los Linfomas-B. Así, es tentador especular que la infección por VEB persistente en pacientes de LES, con inmunodeficiencia de

células T por varias causas, incluyendo tratamiento inmunosupresor, predispondría a una transformación maligna del VEB.

Influencia del tratamiento del LES: En algunas neoplasias desarrolladas en pacientes con LES, los inmunosupresores han sido involucrados (138,165,168,178,183). Hay algunos pocos casos descritos de leucemia o linfoma tras terapia con citotóxicos en el LES (157,184). Sin embargo, amplios estudios de cohortes (128,129) no han mostrado un aumento en la incidencia de cáncer asociado a la toma previa de azatioprina o ciclofosfamida en pacientes con LES. En un amplio estudio multicéntrico, Bernatsky et al (185), no encuentran que la terapia inmunosupresora se comporte como un factor de mayor riesgo para padecer cáncer, aunque puede contribuir a incrementar el riesgo de sufrir neoplasias hematológicas. Aunque el uso de ciclofosfamida ha sido descrito asociado al cáncer de vejiga, LNH, y leucemia linfocítica aguda y crónica, la mayoría de LES que desarrollaron LNH no habían recibido ciclofosfamida previo al diagnóstico de linfoma (128,153). Ruiz-Irastorza et al (186) sugieren la posibilidad de que los antimaláricos se comporten como un factor protector de cáncer en pacientes con LES.

Papel de factores ambientales: Bernatsky et al (187) estudiaron la posible influencia, como factor de riesgo de cáncer de mama, de la anticoncepción oral y del tratamiento hormonal sustitutivo, en 871 mujeres con LES: 15 desarrollaron cáncer, el doble que el esperado para la población general, pero sin ninguna influencia del tratamiento hormonal en ambas modalidades.

CAPÍTULO III

ENFERMEDADES AUTOINMUNES SISTÉMICAS Y RADIOTERAPIA

1. INTRODUCCIÓN

Algunos artículos han descrito la asociación entre EAS y efectos secundarios a la radioterapia (RT) más severos de lo esperado para la población general. La mayoría de los pacientes incluidos en estas publicaciones corresponden a AR (188,189,190,191,192), LES (188,189,191,192,193,194,195,196), LCC (189,193,195,196), PM o DM (188,189,191,192,195,197), ES (188,198,199,200), enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC) (189,201), esclerodermia (191,192,202,203), síndrome de CREST (198,195,197), SS (191,192,195), espondilitis anquilosante (EA) (189) o artritis reumática juvenil (ARJ) (189).

Estos artículos se basan, la mayoría, en casos puntuales que no nos permiten extraer conclusiones generales. Las publicaciones que incluyen un mayor número de pacientes son las de Ross et al (188) en 1993, Morris et al (189) en 1997, Chen et al (191) en 2001 y Phan et al (192) en 2003, pero cuyas conclusiones quedan limitadas por los pequeños subgrupos que constituyen cada una de las enfermedades.

Los criterios de radiotoxicidad descritos en estas publicaciones se basan en los propuestos por la Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) y la

European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC). Tanto para los efectos agudos como para los tardíos, se establecen unas tablas que puntúan en cada órgano las lesiones desde 0 (no lesión) hasta 4 (lesión muy severa), alcanzándose 5 puntos en caso de lesión mortal (204). Se consideran reacciones severas aquellas con 3 o más puntos en dichas escalas.

Ross et al (188) compararon, en un estudio de cohortes, a partir de 4249 EAS, un grupo de 61 pacientes en los que se asociaban EAS y cáncer (39 AR, 13 LES, 4 ES, 4 DM, 1 PM) frente a 61 controles, apareados respecto a edad, sexo, tumor y técnica radioterápica, considerando complicaciones significativas cuando alcanzaban en la escala RTOG 3 o más puntos.

Morris et al (189), sobre 7993 enfermos con EAS, de los cuales 330 a su vez estaban diagnosticados de cáncer, estudiaron 209 pacientes que cumplían criterios de inclusión. Se estudiaron 131 AR, 25 LES, 17 PM o DM, 18 CREST, 8 EA, 5 ARJ, 3 LED y 4 EMTC, con medición de los efectos secundarios según la escala ROTG, comparando el grupo de AR frente al resto de EAS.

Chen et al (191) estudiaron una cohorte de 36 pacientes con EAS (16 AR, 5 LES, 4 esclerodermia, 4 síndrome de Raynaud, 4 PM, 2 SS), y apareados cada uno con dos controles por edad, sexo, y tipo de cáncer y tratamiento, con un seguimiento medio de 12.5 años.

En otro amplio estudio, Phan et al (192) recogieron, entre 12000 pacientes tratados con RT, a 38 pacientes con EAS (21 LES, 4 fenómeno de Raynaud, 3 fibromialgia, 3 polimialgia reumática, 3 SS, 2 PM-DM, 2 esclerodermia), con una media de seguimiento de 35 meses, comparándolos con un grupo de 38 pacientes sin EAS, apareados por edad, sexo, tipo de tratamiento y tumor.

La literatura describe un amplio abanico de reacciones severas agudas y tardías en pacientes con EAS (189,190,191,194,195,198,199). Sin embargo, otros autores no han descrito aumento de la radiosensibilidad en las EAS (188,192,193). Ni tan siquiera las publicaciones con mayor número de casos recogidos son concluyentes, ni concordantes entre sí. De esta forma algunos oncólogos creen que deberían considerarse a las EAS una contraindicación relativa para la RT (205), incluyendo al LES (194,195).

2. REACCIONES AGUDAS

El daño agudo, o temprano, se caracteriza por el predominio de fenómenos de inflamación inespecífica: hiperemia, descamación, infiltrado inflamatorio, edema, etc.

Cuando consideramos las reacciones agudas severas, publicadas en los trabajos más amplios, en los pacientes con EAS, vemos como éstas han sido descritas con más frecuencia que en los grupos controles. Así, en el trabajo de Ross et al (188), describieron un 11% en el conjunto de sus 61 pacientes estudiados, frente a un 7% de los controles, aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa. Afectó especialmente a mucositis aguda en carcinoma de cabeza y cuello, neumonitis, depresión de médula ósea y descamación húmeda. No encontraron ninguna reacción aguda a dosis paliativa, pero sí a dosis definitiva, con un 19% en los casos frente al 11% de controles. Así mismo, describió un 8% de reacciones agudas en la AR frente al 5% del grupo control, y en el LES encontraron un 31% frente al 15% del grupo control. Sin embargo, no encontró ninguna reacción severa aguda entre los

pacientes con esclerodermia o DM-PM. Los autores destacaban que el LES era la EAS que más se correlacionaba con incremento de reacciones agudas.

Morris et al (189), en sus 209 pacientes con EAS describieron un 10% de reacciones agudas severas, sobre todo mucositis y disfagia en carcinoma de cabeza y cuello o de la región torácica. Las reacciones agudas aumentaban con las dosis recibidas. Respecto al uso de tratamiento médico quimioterápico, no se modificaba la incidencia de efectos agudos significativos. Los fumadores tenían pequeños incrementos de toxicidad aguda en cabeza y cuello.

Chen et al (191), estudiaron 36 pacientes con EAS, de ellos 16 con AR y 5 con LES, entre otras, emparejando cada caso con dos controles. Estos autores no encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a reacciones agudas entre los pacientes con EAS y el grupo control, aunque los pacientes con EAS desarrollaron más reacciones severas, un 14%, frente al 8% del grupo control.

Phan et al (192), basándose en 12000 pacientes tratados con RT, recogieron a 38 pacientes con EAS, comparándolos con un grupo de 38 pacientes sin EAS. En los 29 pacientes con dosis curativas, la incidencia de reacciones agudas grado 2 para los casos fue del 49% y del 58% para los controles, para lesiones de grado 3 fue del 7% para los casos y del 7% para los controles. Un porcentaje similar entre ambos grupos se dio para los tratados con dosis paliativas. Sólo los pacientes con esclerodermia tenían un ligero aumento en la incidencia de lesiones agudas, frente a controles, pero no significativo.

En 2006 Hölscher et al (392) realizaron una revisión sistemática de todas las publicaciones relacionadas con efectos adversos a la radioterapia en

pacientes con enfermedades del tejido conectivo, seleccionando aquellas que aportaban mayor valor científico y potencia estadística. De un total de 273 artículos, 70 fueron considerados relevantes, pero tan sólo 8 cumplían los requisitos exigidos por los autores. Estos artículos, que en total incluían a 349 pacientes frente a controles, fueron los de Teo et al en 1989 (199), Fleck et al 1989 (195), Ross et al en 1993 (188), Turesson et al en 1996 (222), Morris et al en 1997 (189), Chen et al en 2001 (191), Phan et al en 2003 (192) y Liu et al (320). En el análisis del conjunto de los datos de todos estos pacientes, los autores no encontraron aumento del riesgo de desarrollar efectos secundarios agudos radioinducidos de forma estadísticamente significativa.

3. REACCIONES TARDÍAS

El daño tardío aparece al cabo de meses o años, suele ser más grave que el agudo, menos reparable y está formado por fibrosis, retracción, necrosis, telangiectasias, defectos de vascularización, ulceración, etc.

Considerando las reacciones tardías descritas en la literatura, también Ross et al (188) describieron un aumento de incidencia en el conjunto de las EAS, un 10%, respecto al 7% de los controles, aunque no significativo, siendo estas más frecuentes en mama y pelvis. Respecto a la dosis, aparecieron un 16% de complicaciones tardías con dosis definitiva, frente al 11% en sus controles, sin significación estadística, presentando un 5% de complicaciones mortales que afectaron a un paciente con LES y dos con AR, frente a ninguna de controles. En la AR encontraron un 13% de reacciones severas tardías frente al 3% de sus controles, sin significación estadística; el 24% se desarrollaron con dosis definitiva frente al 5% de los controles, en este caso

muy próximo a la significación estadística. Sin embargo, para el LES tan sólo describieron un 8% de reacciones severas frente a un 15% de sus controles; el 9% con dosis definitiva frente al 18% de los controles. No encontraron complicaciones en la esclerodermia o la DM-PM.

Phan et al (192), describieron a 38 pacientes con EAS comparándolos con un grupo de pacientes sin EAS. La incidencia de reacciones tardías de grado 1 fue del 3% en los casos y del 7% en los controles, para el grado 2 fue del 7% en los casos y del 3% en los controles, y de grado 3 del 7% en los casos y del 7% en los controles. Sólo los pacientes con esclerodermia presentaron un ligero aumento en la incidencia de lesiones tardías, frente a controles, sin significación estadística.

De los 36 pacientes con EAS de Chen et al (191), comparados con controles, sí se observaron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, con un 17% de reacciones tardías en los casos frente a un 3% en los controles, aunque estas diferencias desaparecían al analizar cada enfermedad por separado, excepto en el caso de la esclerodermia cuya diferencia permanecía estadísticamente significativa.

Respecto al tiempo de latencia en la aparición de estas reacciones severas, Morris et al (189) encontraron un 11% a los 5 años y un 23% a los 10 años, siendo el riesgo para las EAS no AR, con un 21% a los 5 años, mayor que en la AR, con un 6% a los 5 años. Estas reacciones severas aparecían globalmente de forma más precoz en la ES, a los 2 años, y más diferida en el LES, a los 5-10 años. Por su parte, De Naeyer et al (196) describieron que el inicio de las reacciones severas variaba de 1 a 16 meses tras completar la RT, predominando la fibrosis y las telangiectasias.

En algunos trabajos, el uso de medicación reumatológica (antiinflamatorios, corticoides, cloroquina, metotrexate) se ha relacionado con un menor riesgo de aparición de complicaciones tardías; sin embargo, la coexistencia de otras enfermedades crónicas o quimioterapia adyuvante no parece correlacionarse con los efectos tardíos, salvo en el caso de pacientes que eran sometidos a cirugía local, en los que se observaba un cierto incremento de estas, siempre de forma no significativa (189).

Respecto a la relación de los efectos tardíos frente a los agudos, Morris et al (189) describieron un ligero aumento de efectos tardíos dentro de los 2 primeros años, cuando previamente se produjeron efectos agudos.

En cuanto a la planificación de la RT no se ha encontrado relación con la dosis, fraccionamiento, dimensión del campo irradiado, aunque el tratamiento con electrones no desarrolló morbilidad tardía (189), entre los grupos AR y EAS no AR. En un estudio con 34 pacientes que precisaron varios ciclos de RT, cuando en el primer ciclo no hubo complicaciones sólo un 4% las desarrollaron en los siguientes, sin embargo, cuando en el primero hubo complicaciones, el 20% volvió a tenerlas (189).

En la revisión antes comentada de Hölscher et al (392), al analizar los efectos secundarios tardíos tras radioterapia, los autores describieron un aumento estadísticamente significativo del riesgo de desarrollar tales efectos secundarios. La hipótesis unidireccional de que los pacientes con enfermedades del tejido conectivo tenían un incremento del riesgo de desarrollar efectos tardíos tras radioterapia alcanzó significación estadística, con una p de 0,03. El conjunto del riesgo relativo fue de 2,0 (IC 95% 0,99-4,1). Los autores aclaraban en la discusión que las secuelas crónicas de ciertas

enfermedades del tejido conectivo pueden interferir, o incluso simular, los efectos tardíos de la radioterapia, por afectar a las mismas estructuras, tales como vasos sanguíneos y fibroblastos.

4. CARACTERÍSTICAS DE LA TÉCNICA DE RADIOTERAPIA

La planificación de la técnica radioterápica fue descrita por Ross et al (188) y comparado frente a controles, sin encontrar efectos significativos agudos o tardíos para dosis paliativas (menos de 40 Grey (Gy)). Sin embargo, para dosis terapéuticas (mayores de 40 Gy) había un 19% de complicaciones agudas y un 16% de tardías, frente al 11% de las agudas y 11% de las tardías en los controles, siendo estas diferencias no significativas. Morris et al (189) no encontraron relación entre reacciones tardías con la dosis, fraccionamiento o dimensión del campo; sin embargo, con respecto a la morbilidad aguda ésta se incrementaba al reducir el campo o aumentar la dosis. Por otra parte, han sido descritas complicaciones tardías severas tras un dosis baja de RT de 18.7 Gy en un carcinoma rectal con ES (198). Comparando los tipos de radiación, Mayr et al (201) destacaban la presencia de reacciones agudas en el campo tratado con electrones, pero no con fotones, siendo los efectos tardíos similares para ambas técnicas.

5. ACTIVIDAD REUMATOLÓGICA EN EL MOMENTO DE LA RADIOTERAPIA

Algunos autores (193) han sugerido la posibilidad de que pacientes con EAS activa puedan ser más sensibles a los efectos secundarios de la RT, mientras aquéllos con enfermedad quiescente o controlada no lo sean. Hasta la

fecha no se ha documentado ninguna evaluación de la actividad medida con criterios internacionalmente validados de enfermos con respecto a su posible radiosensibilidad.

En un intento de acercamiento a este problema, se ha tomado como marcador el diagnóstico previo o posterior de la enfermedad reumatológica respecto al momento de la RT. Algunos autores (190,195,196) han descrito que los pacientes con diagnóstico de EAS previa a la RT desarrollaban más efectos secundarios que aquellos tratados con RT antes del diagnóstico de la EAS. Sin embargo, otros autores (188,198) han descrito reacciones severas en pacientes con EAS diagnosticada tras la RT. En la publicación de Ross et al (188), los pacientes con diagnóstico previo a la RT desarrollaron complicaciones en el 15% de los casos, el 7% de forma aguda y el 9% de forma tardía, frente al 67% de complicaciones (50% agudas, 17% tardías) cuando la EAS se diagnosticó tras la RT; concretamente en el subgrupo con LES 2 pacientes presentaron reacciones agudas, pero ninguna tardía. Finalmente se han descrito pacientes que desarrollan EAS entre dos cursos de RT, tolerando bien todas las tandas (188).

En una revisión de De Naeyer et al (196), resaltaban un aumento de la incidencia de efectos severos en pacientes con enfermedad activa antes o durante la RT. Esto fue descrito por primera vez por Fleck et al (195), sin encontrar por otra parte reacciones severas en sus 9 pacientes con diagnóstico de EAS tras la RT. Morris et al (189), no encontraron relación con ciertos parámetros inmunológicos (no descritos), VSG, o tiempo de inicio de la EAS.

6. LUGAR DE IRRADIACIÓN

Ross et al (188) describieron la relación entre mucositis y carcinoma de cabeza y cuello como la más frecuente en las reacciones agudas, y las localizadas en la pared torácica y la pelvis como las más frecuentes entre las reacciones tardías, al igual que Morris et al (189).

7. ASOCIACIÓN CON QUIMIOTERAPIA O INMUNOSUPRESORES

En publicaciones de casos aislados se describen efectos severos tras RT asociada a quimioterapia en pacientes con LED de tipo agudo y tardío (196), ES en forma de fibrosis pulmonar limitada (198) o DM y SS en forma de efectos agudos. En la revisión de Morris et al (189) no encontraron asociación entre la quimioterapia y los efectos tardíos; sin embargo, el uso de AINE, corticoides, cloroquina, oro o metotrexate se relacionó con una menor incidencia de reacciones tardías severas, pero de forma no significativa, sin modificación de las reacciones agudas severas.

8. ASOCIACION ENTRE LUPUS Y EFECTOS SECUNDARIOS A LA RADIOTERAPIA.

Se han descrito reacciones severas agudas y tardías a nivel cutáneo y en otros tejidos en pacientes con lupus, tanto LC como LES, tratados con RT, desde descamación húmeda cutánea a dosis bajas (194) hasta necrosis pélvica y muerte (206). Otros autores documentaban pacientes con lupus que no presentaron toxicidad aguda severa cutánea o de tejidos subcutáneos postradioterapia (188,193,207). En su trabajo, Benk et al (208), describieron

cuatro casos de LES sometidos a RT sin que ninguno desarrollara efectos severos agudos o tardíos.

En una reciente publicación sobre LES y RT, Benk et al (208) revisaron los efectos adversos publicados en artículos previos, que incluyeron reacciones agudas o tardías cutáneas en 9 casos, necrosis u obstrucción intestinal en 3, neumonitis en 2, y necrosis pélvica, osteomielitis, osteonecrosis, neuropatía y encefalopatía cada una en un paciente. Cuatro recientes estudios con pacientes con LES frente a controles no pudieron demostrar un aumento de radiosensibilidad en estos pacientes (188,191,192,209). En una de estas publicaciones (188), sobre 61 pacientes con EAS que incluía a LES, no encontraron aumento significativo del riesgo de reacciones severas en el conjunto, aunque los pacientes con LES presentaban mayor incidencia de complicaciones agudas frente a control (un 36% frente a un 18%), y una menor incidencia de complicaciones tardías frente a control (un 9% frente a un 18%). De los estudios presentados, sólo Fleck et al (195) concluyeron que los pacientes con LES fueron más sensibles a la radiación, basándose en sólo 3 casos de cáncer de mama, 2 con reacciones agudas cutáneas y 1 con toxicidad tardía. Otras publicaciones han aportado casos aislados, interrogándose sobre el impacto de la radiación (191,194,206,210,211). Rackfal et al (193), con 6 lupus (5 LES y 1 LED) y ningún caso de efecto severo, concluyeron que el lupus no es más radiosensible. De Naeyer (196) con 3 lupus (2 LES y 1 LED) y 3 casos de efectos severos, y Morris (189) con 25 lupus (22 LES y 3 LED) y 5 casos de efectos severos, dudaron de la relación con el lupus y mayor radiosensibilidad.

La publicación que realiza un estudio más sistemático sobre efectos secundarios a la radioterapia en pacientes con LES es la firmada por Pinn et al (393), y que describe la experiencia de la Clínica Mayo en estas patologías. Incluyeron a 21 pacientes con LES, con 35 cursos de radioterapia, el seguimiento medio fué de 5,6 años, la supervivencia media de 2,3 años, el 71% fueron mujeres, con una edad media de 57 años al momento de recibir la radioterapia. Las localizaciones tumorales más frecuentes fueron pulmón (29%) y próstata (19%). Tanto la localización tumoral como el esquema de tratamiento fué heterogéneo. En 19 casos se pudo evaluar la radiotoxicidad aguda, entendida esta como la que aparece en los primeros 30 días, y en 17 casos la tardía. Los pacientes con complicaciones agudas de cualquier grado fueron el 42%, y de grado 3 o mayor el 21%. En el análisis univariante, las reacciones de grado 3 o mayor se relacionaron con la dosis y esquema de tratamiento, así como con la localización anatómica, sin mostrar ninguna relación con caracterísclínicas del LES. Los pacientes con complicaciones tardías de cualquier grado fueron el 47%, y de grado 3 o mayor fueron el 24%. En los pacientes con toxicidad tardía severa, el momento medio de aparición fue a los 2,0 años. El análisis univariante mostraba relación significativa con la presencia de afectación renal para cualquier grado de toxicidad tardía, y para toxicidad severa tardía con la ausencia de fotosensibilidad, ausencia de artritis y presencia de rash malar. Quedaba próximo a la significación ($p < 0,053$) la asociación entre severidad del LES, considerada como el número de criterios de LES presentes, y cualquier grado de toxicidad tardía.

Una visión global de todas estas publicaciones nos puede sugerir que mientras en los artículos que muestran casos aislados pueden predominar las

descripciones de pacientes con los efectos secundarios más severos, las series retrospectivas describen un espectro mayor de radiotoxicidad con una mayoría de pacientes que no presentan complicaciones severas. En cualquier caso, ninguna de estas publicaciones aporta suficientes pacientes, por lo que las conclusiones que se extraen deben ser confirmadas en estudios con un tamaño muestral claramente más amplio.

CAPÍTULO IV

RADIOSENSIBILIDAD CELULAR INTRÍNSECA

1. GENERALIDADES DEL TRATAMIENTO ANTINEOPLÁSICO Y RADIOTERAPIA

El tratamiento de los enfermos con cáncer depende, esencialmente, del tipo de tumor, de su estadio evolutivo y de las características individuales del enfermo. Puede incluir cirugía, radioterapia (RT), quimioterapia, hormonoterapia o combinaciones de algunas de ellas. La RT juega un papel esencial en el tratamiento del cáncer. En el momento del diagnóstico, hasta el 78% de los pacientes pueden estar libres de metástasis y pueden ser curados con tratamientos loco-regionales. Entre estos pacientes, con enfermedad localizada, se estima que en el 30% la RT desempeña un papel relevante (212)

El éxito de la RT, es decir, la probabilidad de control de un tumor (PCT), depende de la dosis total administrada, del fraccionamiento de dicha dosis y del tiempo de irradiación. Para evitar el fracaso terapéutico es necesario elevar la dosis hasta un nivel tan alto como sea posible, aún sabiendo que hacer esto incrementa el riesgo de producir lesiones irreversibles en los tejidos peritumorales sanos.

Del estudio de la relación entre PCT y dosis, se sabe que un aumento del 1% en el valor de la dosis puede suponer un incremento de hasta el 5% de la PCT. Extendiendo estas cifras a toda la población europea, un incremento de la PCT de esta magnitud representaría, aproximadamente, desde 10.000 a 30.000 casos adicionales curados por año.

El control tumoral está en función de la magnitud de la dosis de radiación administrada, y la tolerancia a la radiación es el principal factor que, en términos generales, limita la dosis que es posible administrar en oncología radioterápica.

Si se consiguiese el reconocimiento de los pacientes con alto riesgo de complicaciones radioinducidas, del conocimiento de la radiotolerancia de sus tejidos sanos peritumorales, antes de que fuesen sometidos a tratamiento, podría ser posible el ajuste individual de las dosis prescritas. Así se podría reducir dosis a los pacientes más sensibles para incrementarla entre los más resistentes (213).

2. TOLERANCIA DE LOS TEJIDOS SANOS A LA RADIACIÓN. CONDICIONANTES DE RADIOSENSIBILIDAD.

Es un hecho cierto que las reacciones provocadas por la radiación sobre los tejidos sanos incluidos en el volumen terapéutico, varían de manera considerable de uno a otro paciente (214,215,216,217). Esta evidencia ha dado origen a una línea de investigación fundamentalmente clínica, cuya base conceptual radica en la existencia de distintos tipos de pacientes oncológicos que presentan efectos secundarios de diversa magnitud tras irradiación:

1.-Pacientes en los que la irradiación es bien tolerada y los efectos adversos son mínimos tanto a corto como a largo plazo.

2.-Pacientes que sufren de manera progresiva una reacción aguda importante, aunque soportan el tratamiento prescrito.

3.-Pacientes en los que se desencadenan efectos tisulares agudos, de tal magnitud, que obligan a la interrupción o a un cambio importante en el tratamiento.

4.-Pacientes que muestran un nivel de daño radioinducido tardío que excede al que expresan la mayor parte de los sujetos sometidos por la misma causa a tratamiento similar.

En función de los criterios utilizados para definir cada una de estas categorías, se estima que los pacientes incluidos en 3 y 4 alcanzan aproximadamente el 3 y el 10% de los pacientes tratados, los cuales se muestran altamente sensibles a la radiación. Este conjunto de enfermos es precisamente el que limita la dosis de RT e impide la administración de tratamientos más radicales. La existencia de pacientes en los que la radiación produce una toxicidad aguda excesiva (categoría 3), o utilizando el lenguaje anglosajón “over-reactors”, describe una situación rara, probablemente menor del 1% de pacientes tratados, en que la respuesta de los tejidos normales está fuera del rango normal.

Se ha observado que, en pacientes idénticamente tratados existe una gran variabilidad en la incidencia y severidad de las secuelas de la radiación (214), y aunque parte de la desigualdad en la respuesta a la RT podría ser explicada en función del azar, en la actualidad hay datos que sugieren que las variaciones del efecto de la radiación sobre los tejidos normales pueden

atribuirse bien a factores relacionados con el tratamiento (esquema de fraccionamiento, volumen del campo de tratamiento, calidad de la radiación, errores dosimétricos, etc), bien a características inherentes al paciente. Esto último podría estar influenciado por (a) la naturaleza destructiva de las células irradiadas, (b) factores individuales como edad, nivel de hemoglobina y tabaquismo, (c) comorbilidad como cáncer primario, enfermedades autoinmunes, diabetes mellitus, hipertensión, infección o inmunosupresión y (d) radiosensibilidad celular intrínseca tales como síndromes genéticos, hipersensibilidad clínica individual y variabilidad entre pacientes no escogidos (214,218,219,220).

Así, Turesson estima que factores físicos conocidos, como el volumen de los tejidos en el área irradiada y la dosis total o el fraccionamiento de la dosis sobre los tejidos normales, pueden establecer sólo el 30% de la variabilidad total entre pacientes con cáncer de mama bajo condiciones controladas (221,222).

Ya que hay hasta un 70% de los casos de radiosensibilidad inexplicada, es de interés entre los clínicos la identificación de las causas de esta variabilidad en la sensibilidad a la radiación, ya que podría tener importantes implicaciones en el tratamiento del cáncer. Así, sería fundamental la detección in vitro, previa al tratamiento, de la radiosensibilidad celular como indicador de la reacción de los tejidos normales (223). De esta forma, los resultados de la RT pueden mejorarse por una mayor comprensión de la variación individual en las reacciones sobre los tejidos normales que determinan la tolerancia (224). Es, por tanto, de gran importancia identificar las variaciones en la

radiosensibilidad celular intrínseca y los factores extrínsecos que están asociados con un cambio en el riesgo de morbilidad (221,222,225,226).

De esta forma, es comprensible que los esfuerzos de las investigaciones radiobiológicas actuales se dirijan a identificar pacientes con radiosensibilidad extrema, y el riesgo de efectos severos agudos o tardíos a la RT (227,228), así como a detectar moléculas que incrementen los efectos antitumorales de la RT (229).

3. BASE GENÉTICA DE LA RADIOSENSIBILIDAD

La evidencia de una posible base genética para estas diferencias ha sido proporcionada por publicaciones sobre aumento de radiosensibilidad celular y tisular en ciertos síndromes genéticos (230), y sobre una asociación entre la radiosensibilidad relativa de diferentes tipos celulares normales en el mismo individuo (231); esta evidencia también verifica que la radiosensibilidad celular puede estar relacionada con la respuesta tisular.

Una gran variedad de síndromes hereditarios, con radiosensibilidad conocida, indican la influencia de genes específicos en la respuesta de tejidos normales y células derivadas de su irradiación. Ya en 1967, Gotoff et al (232) advirtieron una respuesta adversa a dosis convencionales de radiación en un paciente con ataxia-telangiectasia en tratamiento por un linfoma, considerándose en la actualidad un prototipo de células con hipersensibilidad inherente a la radiación. Otras patologías de base genética relacionadas con hipersensibilidad a la radiación han sido: el Síndrome de Nijmegen, la deficiencia del MRE11, la anemia de Fanconi, cánceres de mama con genes BRCA1, agammaglobulinemia ligada al gen X, MEN-2, Inmunodeficiencia

combinada severa, síndrome de Li-Fraumeni, y los genes ligasa IV, XRCC4, DNA-PKcs y genes Ku, entre otros (230).

Este campo de estudio recibe continuas aportaciones, entre otros, en un estudio sobre carcinomas de células escamosas cervicales, se compararon los genes de 9 tumores radiosensibles y 10 radorresistentes, encontrándose 121 genes cuya expresión fue significativamente mayor en las células radiosensibles que en las radorresistentes, y 50 en las radorresistentes (233).

Si la radiosensibilidad tisular tiene un componente genético significativo, es razonable sugerir que la radiosensibilidad de células en cultivo reflejan la constitución genética de los individuos de las que proceden. Deschavanne et al (234) revisaron en 1996 las publicaciones hasta la fecha que mostraban los diferentes grados de radiosensibilidad in vitro, mediante cultivos clonogénicos, correspondientes a múltiples líneas celulares tumorales, de desórdenes genéticos o procedentes de tejidos normales. Recogieron 694 líneas celulares, con un amplio rango de radiosensibilidad, siendo las procedentes de la Ataxia-telangiectasia en promedio hasta 8 veces más radiosensibles que las líneas celulares procedentes de carcinoma de células renales. Así, el tipo celular es un factor incuestionable de radiosensibilidad in vitro. En cualquier caso, estas diferencias podrían estar influenciadas por factores técnicos, como el tipo de cultivo celular empleado.

4. DAÑO Y REPARACION DE MOLECULAS DEL ADN.

Aún cuando durante el estadio físico de la acción de la radiación (depósito de energía tras la interacción de los fotones con las estructuras moleculares de la célula) no deberían existir diferencias entre distintos tipos

celulares, en el estadio químico (etapa que sigue al estadio anterior) se producen una serie de reacciones radioquímicas que pueden aumentar o disminuir los efectos biológicos de la radiación.

Así, las radiaciones ionizantes provocan en la materia viva cambios químicos principalmente a través de la rotura de enlaces covalentes y de la formación de radicales libres, pudiendo afectar a cualquier tipo de molécula de una célula. Sin embargo, el daño molecular producido en el ADN es el que tiene la mayor trascendencia biológica. Una radiación ionizante interacciona con el ADN a través de un mecanismo de acción directo en el que la primera molécula que absorbe la radiación es el ADN. Posteriormente, a través de un mecanismo de acción indirecto, el agua absorbe la radiación tras lo que se forman radicales libres, especies químicas altamente reactivas que pueden llegar a reaccionar con la molécula de ADN, dando lugar a cambios químicos indistinguibles de la acción directa.

Los cambios que las radiaciones ionizantes producen en el ADN, ordenadas según el grado de trascendencia biológica, son las siguientes: a) cambio o pérdida de una base nitrogenada, b) ruptura de los puentes de hidrógeno entre bases complementarias, c) roturas simples (de una de las dos hebras de la cadena de ADN), d) roturas dobles (de las dos hebras de la cadena de ADN) y e) LMDS (Local Multiply Damaged Sites), es un tipo de lesión del ADN que se produce por múltiples lesiones pequeñas –cambios de base, roturas simples y dobles- que ocurren en una longitud de ADN de aproximadamente 10 pares de bases. Las roturas dobles y las LMDS son las lesiones más difíciles de reparar y cuyo efecto biológico puede ser mayor. La

mayoría de las lesiones que afectan a las bases nitrogenadas, los puentes de hidrógeno y las roturas simples de la cadena de ADN son reparadas.

La reparación del ADN es el mecanismo celular que restablece la secuencia del ADN a su estado original previo a la inducción de lesiones provocadas por la radiación. Las células humanas poseen una importante capacidad para reparar el daño producido en su ADN, que varían en velocidad, capacidad y fidelidad, y por ello se explica las diferencias de radiosensibilidad en las distintas poblaciones celulares.

Existen diferentes mecanismos en células humanas para la reparación de las lesiones radioinducidas en el ADN como son:

- 1.- Reparación de bases dañadas: Se realiza a través de la escisión de bases y escisión de nucleótidos.
- 2.- Reparación de roturas simples de cadena: Utiliza el mecanismo de escisión de bases. La reparación de roturas simples de cadena es un proceso rápido, ya que el 50% de las mismas se reparan en aproximadamente 15 minutos. Uno de los genes implicados en este tipo de reparación es el que codifica la enzima nuclear PARP-1 que reconoce las roturas simples de cadena (235).
- 3.- Reparación de roturas dobles de cadena: En este caso no existe una cadena intacta de ADN para ser utilizada de molde en el proceso de reparación. Las roturas dobles de cadena son reagrupadas entre 4 y 6 horas por la gran complejidad del proceso, y este tipo de reparación frecuentemente conlleva a errores o mutaciones, que conducen a la muerte celular, aunque existen células que soportan el daño, como las tumorales. Existen dos mecanismos de reparación que son:

- a) Reparación por unión de extremos no homólogos (“nonhomologous end joining”): Están implicados al menos 5 genes: Ku 70, Ku 80, DNA-PCKcx, ligasa IV, Xrcc4. Además existen otras dos proteínas como la ATM y la ATR que se activan al unirse a los extremos rotos del ADN originados por roturas dobles de cadena y comienzan la reparación. Algunas de estas proteínas intervienen en la interrupción del ciclo celular para que la célula tenga tiempo de reparar la lesión o inducir la apoptosis. También están involucrados los genes BRCA1 y BCRA2 (236).
- b) Reparación por recombinación de cromosomas homólogos: Requiere un locus recíproco en la cromátida hermana o secuencias de ADN que posean gran homología con aquella que ha sido dañada. Se activa cuando la lesión originada conlleva pérdida de material genético. Es un mecanismo de reparación minoritario, dada la baja posibilidad de encontrar el locus recíproco dentro del genoma completo de la célula.

El enorme paso adelante en nuestro conocimiento sobre la reparación de las roturas de doble cadena de ADN ha puesto énfasis sobre los procesos “nonhomologous end joining”, como los procesos principales de reparación en células humanas. Recientes investigaciones están comprobando cómo los procesos no homólogos intervienen en todas las fases del ciclo celular, mientras que los procesos homólogos sólo juegan un papel fundamental en la fase S/G2 (237).

El daño biológico causado por las radiaciones ionizantes en el ADN puede provocar la muerte de una célula. El concepto de muerte celular realmente relevante para el tratamiento del cáncer es la eliminación de la

integridad reproductiva de las células tumorales, aunque su aspecto y sus funciones metabólicas sigan durante cierto tiempo.

Las nucleoproteínas desempeñan un papel sumamente importante en la conservación de la integridad estructural y funcional del ADN (238). Y esto es así hasta el punto de que la separación completa de las proteínas sensibiliza la molécula de ADN que, en estas condiciones experimentales, resulta 70 veces más lábil (239). En cierta medida, las diferencias en el nivel de daño inicial radioinducido pueden ser también un reflejo del grado de empaquetamiento de la molécula de ADN, más que de la fragmentación real de la misma (240). Además, la conformación de la cromatina parece estar relacionada con el grado de metilación de la molécula de ADN, y de la metilación y acetilación de las histonas. De esta forma, por ejemplo, la zebularina, un inhibidor de la metilización de ADN, se ha demostrado como un potenciador de la radiosensibilidad celular tanto in vivo como in vitro, al inhibir la reparación del ADN (241).

Medidas del grado de empaquetamiento de la molécula de ADN podrían ser indicativas de su radiosensibilidad. Es sabido que el ADN en diferentes estadios conformacionales tiene distinta capacidad de reparación del daño inducido por la luz ultravioleta. Se ha demostrado también que la radiación produce más daño en regiones de ADN que se están transcribiendo o que están activas, que en regiones o en genes que se encuentran inactivos (242). Esto se podría explicar al considerar que existe la posibilidad de que estas diferencias de conformación sean causa de modificaciones en la accesibilidad de los radicales libres radioprotectores (243). Otros factores como los puntos de unión del ADN a la membrana nuclear, la estructura de esta membrana y el

nivel de la concentración de determinados precursores, han sido también considerados parámetros capaces de modificar la radiosensibilidad (244).

5. MEDIDA DE LA TOLERANCIA DE LOS TEJIDOS SANOS A LA RADIACIÓN. ENSAYOS PREDICTIVOS DE RADIOSENSIBILIDAD.

La evaluación in vitro de la radiosensibilidad ha sido propuesta desde hace 30 años, en el intento de individualizar los esquemas de tratamiento en RT. Hasta la fecha, diferentes ensayos han sido desarrollados, midiendo tanto efectos de la radiación a corto plazo como a largo plazo. Fundamentalmente se han utilizado tres objetivos para determinar la radiosensibilidad in vitro relacionando la medida de ellos con diferentes efectos clínicos de la RT: 1) la supervivencia clonogénica (215,221,245,246), 2) aberraciones cromosómicas (225,247), y, 3) daño y reparación sobre el ADN (roturas simples y dobles de cadena) (248,249,250).

5.1. RADIOSENSIBILIDAD CELULAR. ENSAYOS CLONOGÉNICOS.

El ensayo de clonogenicidad (o clonogénico) es un método experimental in vitro que se emplea para medir la sensibilidad celular frente a un agente citotóxico. Consiste en determinar en qué proporción disminuye la capacidad clonogénica de una población celular después de una exposición a un agente. Las células que tras un tratamiento son capaces de formar colonias se denominan células supervivientes (conservan su integridad reproductiva), y la proporción de células supervivientes se llama fracción de supervivencia o supervivientes.

A partir de un ensayo clonogénico se puede establecer una relación dosis-respuesta o curva de supervivencia celular. La comparación de curvas de supervivencia obtenidas mediante ensayos clonogénicos, según distintas condiciones experimentales, ha permitido conocer una buena parte de los principios de la RT actual. Así, el ensayo de clonogenicidad permite cuantificar la tasa de supervivencia celular tras una dosis de radiación.

Hay abundantes datos que demuestran que la supervivencia celular calculada mediante ensayo clonogénico por diferentes métodos, con fibroblastos, obtenidos mediante el estudio de muestras tisulares de piel cultivadas en el laboratorio, puede utilizarse en el intento de predecir la radiosensibilidad celular al compararlas con las lesiones que se observan clínicamente en la piel de esos mismos pacientes tras haber sido sometidos a irradiación con fines terapéuticos.

Esta asociación ha sido frecuentemente encontrada, y parece consistente cuando se comparan las lesiones radioinducidas que se manifiestan de forma tardía (245, 251). Sin embargo, la mayoría de los estudios realizados hasta la fecha indican una falta de correlación entre radiosensibilidad de los fibroblastos y respuesta tisular aguda frente a la radiación (252,253, 254).

La aplicación rutinaria de estos ensayos clonogénicos presenta algunos inconvenientes. No es fácil conseguir in vitro el crecimiento de las células tumorales ni de los fibroblastos, existen numerosos problemas de contaminación, y el tiempo necesario para conseguir resultados a partir del momento de la toma de la muestra se sitúa en torno a los 3-4 meses. De esta forma se han desarrollado métodos alternativos de medida de la

radiosensibilidad que, entre otras variables, ofrecen datos cuantitativos del daño producido por la radiación sobre la molécula de ADN, y que permiten una obtención más rápida de resultados.

5.2. RADIOSENSIBILIDAD MOLECULAR.

En ausencia de una demostración experimental suficiente como para definir alguna lesión “tipo” como responsable de la muerte celular, la investigación de los procesos moleculares que subyacen a la pérdida de la capacidad clonogénica inducida por la radiación, se ha dirigido hacia el estudio de correlación entre lesión molecular y supervivencia celular. La radiación ionizante induce una amplia variedad de lesiones en el ADN, desde daño sobre bases o nucleótidos hasta roturas simples y de doble cadena. Las roturas de doble cadena (rdc) de ADN se han considerado como el tipo de lesión más importante para los efectos citotóxicos de la radiación, ya que los resultados sugieren que sus niveles se relacionan de forma directamente proporcional con la muerte celular (255). La estrecha relación entre producción de fragmentos cromosómicos y muerte en muchos sistemas celulares, ha sido importante a la hora de vincular las rdc con muerte celular, ya que es un paso lógico relacionar roturas de las cadenas de ADN con rotura cromosómica.

No obstante, no está claro por qué las células difieren en su respuesta a la radiación ionizante. Los ensayos de sensibilidad a nivel molecular han puesto de manifiesto distintos hechos, y sugerido varios parámetros, cuyas modificaciones explican, al menos parcialmente, las diferencias encontradas, y que por ello pueden ser considerados como determinantes moleculares fundamentales de radiosensibilidad. Son los siguientes:

-El daño inicial medido como rdc de ADN inducidas por una dosis unitaria de radiación (219,256).

-La capacidad celular para reparar el daño radioinducido estimado en términos de cinética de reagrupamiento de las cadenas de ADN (220,257).

-El daño residual, es decir, la fracción de lesiones que no pueden ser reparadas por las células aún disponiendo de tiempo suficiente para hacerlo (258).

Por tanto, el daño de la radiación sobre las células humanas puede ser dividido en dos categorías: (a) daño letal irreparable que conduce a la muerte celular, (b) lesiones subletales que bajo circunstancias normales pueden repararse en horas, excepto si éstas se acumulan y pueden originar la muerte de la célula (231).

Estos determinantes moleculares, no mutuamente excluyentes, pueden permitir la predicción de la radiosensibilidad celular intrínseca. Daño inicial y velocidad de reagrupamiento de rdc de ADN parecen estar relacionadas a través de una causa común tal como la conformación de la cromatina (259,260). De esta forma, se ha sugerido que las células más radiosensibles sufren más rdc de ADN, por unidad de dosis en su genoma y además, en ellas, el proceso de reagrupamiento de las cadenas de ADN rotas por radiación es más lento que el observado en las células resistentes.

Existen numerosos procedimientos para valorar la magnitud de las lesiones moleculares radioinducidas sobre el material genético. Entre ellos se encuentran el ensayo de electroforesis de célula única (Comet assay o SCGE) (242), la técnica basada en el recuento de micronúcleos (261), la electroforesis

en gel de agarosa sobre campo pulsado (PFGE o CFGE) (262), la expresión de foci H2AX o la citometría de flujo (263); métodos que, adecuadamente utilizados, permiten determinar el daño inicial producido por radiación, así como evaluar el proceso de reagrupamiento o reparación de las lesiones radioinducidas.

La heterogeneidad de las poblaciones celulares es un problema potencial. Es bien conocido que la migración celular en geles de agarosa al ser sometidos a electroforesis depende de la fase del ciclo celular en la que se encuentre, probablemente debido a diferencias en la estructura de la cromatina. Así, si la variación en la distribución del ciclo celular es sustancial, el ensayo puede producir resultados falsos, ya que las fases G2 y M son las más radiosensibles y la menos la G1 y la mayoría de la fase S (264).

La heterogeneidad en el tipo de daño del ADN puede ser también una cuestión importante. Las roturas simples de cadena requieren unos pocos minutos para repararse, mientras que las rdc de ADN pueden requerir más de 2 horas para repararse. Se ha sugerido que la reparación de las rdc de ADN varía dependiendo sobre que otras lesiones son inducidas en su inmediata vecindad, en especial las proteínas asociadas a la cromatina (265) y el “Grupo de Alta Movilidad” de las histonas (266). Este nivel de daño inicial se ha relacionado también con la presencia o ausencia de radiosensibilizadores o radioprotectores (267).

En el estudio de células tumorales humanas tales sutilezas son raramente significativas, porque las diferencias encontradas son muy pequeñas, y la precisión de los datos son habitualmente insuficientes para permitir un análisis en profundidad. Sin embargo, una cierta correlación entre

radiosensibilidad y rango de reagrupamiento de rdc de ADN ha sido detectada, lo que al menos apoya la opinión de que la reparación es un determinante importante en la radiosensibilidad de las células tumorales humanas (256). Así, Nuñez et al (257), utilizaron cinco líneas celulares humanas de cáncer de mama y una de vejiga, de radiosensibilidad variable y conocida, para determinar si la reparación de las rdc de ADN mostraba relación con la radiosensibilidad. Encontraron diferencias estadísticamente significativas entre la fracción de supervivencia a los 2 Gy (SF2) y el tiempo medio del componente rápido de reparación, sugiriendo que las líneas celulares que mostraban una reparación rápida eran más radiorresistentes.

6. ENSAYOS DE ROTURAS DOBLES DE CADENA DE ADN. LA ELECTROFORESIS SOBRE CAMPO PULSADO.

Las rdc de ADN, y su reparación, pueden ser medidas exclusivamente en condiciones neutras, como por ejemplo con la versión neutra del “comet assay”, mediante PFGE o la expresión de foci H2AX.

La PFGE es el método de elección para la mayoría de los investigadores para detectar rdc de ADN como expresión de daño inicial (268), siendo sensible a pocos Gy, con modestos requerimientos en términos de cuantía celular.

El concepto de daño inicial tiene una definición práctica en el contexto de estos estudios. Hace referencia al daño detectado cuando se mantiene el experimento a 4°C, temperatura en la que los mecanismos de reparación del ADN están inhibidos. Así, es posible reflejar la posición al final del momento del depósito de energía y los rápidos procesos químicos que ocurren en una célula irradiada. Con la técnica de PFGE el rango de dosis puede mantenerse inferior

a 30 Gy, y la sensibilidad puede ser alcanzada con 2-5 Gy. Combinando los datos procedentes de varios estudios, se ha podido comprobar que hay una relación entre la pendiente de la curva de inducción de daño inicial y la sensibilidad a los efectos mortales de la radiación mediante ensayos clonogénicos (219, 220).

Núñez et al (231), tomando células cutáneas y linfocitos de 25 mujeres mastectomizadas, así como de 8 “over-reactors” (mujeres con reacciones agudas severas a la RT sin desórdenes genéticos conocidos), realizaron un ensayo de radiosensibilidad molecular. La relación, para un mismo paciente por debajo de 35 Gy, entre el valor medido de rdc/Gy/ADN para linfocitos y células epidérmicas fue altamente significativo. Comparando los “over-reactors” con las 25 mastectomizadas sin reacciones severas, los niveles calculados de rdc/Gy/ADN para linfocitos entre ambos grupos fueron significativamente diferentes. Los efectos severos se produjeron más frecuentemente en pacientes con un daño inicial en el ADN mayor de 3.5 rdc/Gy/ADN (con un riesgo relativo 4 veces más probable de sufrir reacciones adversas).

Adicionalmente, Pinar et al (395) analizaron las rdc radioinducidas en linfocitos, medidas mediante PFGE, en 40 pacientes diagnosticadas de cáncer de mama avanzado tratadas con radioterapia hiperfraccionada y su posible relación con la toxicidad aguda y tardía, demostrándose una relación significativa entre mayores tasas de rdc y toxicidad tardía grado 3, en un subgrupo de 29 pacientes tratadas con dosis de 81,6 Gy.

Los resultados sugieren que la sensibilidad relativa de diferentes tipos celulares tomados del mismo individuo es similar, quizá reflejando una influencia genética en la radiosensibilidad. Los estudios a nivel molecular han

permitido sugerir que las células más radiosensibles sufren más rdc de ADN, por unidad de dosis, en su genoma, y además, en ellas, el proceso de reagrupamiento de las cadenas de ADN rotas por radiación es más lento que el observado en las células resistentes (240,248,259).

7. ELECCIÓN DEL TIPO CELULAR

La elección del tipo celular para la predicción de la radiosensibilidad celular intrínseca de tejidos normales es importante (246). Durante el último decenio, los estudios han mostrado que la morbilidad inducida por RT de los tejidos normales en pacientes con cáncer se correlaciona con la radiosensibilidad de los fibroblastos cutáneos y los linfocitos de sangre periférica de esos pacientes (253,269,270). En ciertos pacientes con cáncer de mama o de cabeza y cuello, la supervivencia de fibroblastos tras irradiación de 2 Gy in vitro (fracción de supervivencia a 2 Gy) ha mostrado relación con la subsecuente morbilidad tras RT (245,253,269,271). Sin embargo, debido a variaciones en el diseño experimental y en la aproximación técnica (252), la observación de la relación entre la fracción de supervivencia a 2 Gy de fibroblastos y la morbilidad radioinducida encontrada en algunos estudios retrospectivos es controvertida (272,273). Así, procedente de una amplia base de datos, tanto Russell et al (274) como Peacock et al (221) mostraron en pacientes con cáncer de mama que la radiosensibilidad intrínseca de fibroblastos se correlaciona sólo débilmente con el desarrollo tardío de fibrosis subcutánea, indicando la utilidad limitada de este ensayo en predecir morbilidad sobre tejidos normales. Además, debido al prolongado tiempo necesario para generar los resultados, el ensayo clonogénico de

radiosensibilidad sobre fibroblastos no es adecuado para el propósito de uso clínico rutinario (246,248,274,275).

Sin embargo, la dosis-respuesta a la radiación in vitro de los linfocitos de sangre periférica parece correlacionarse fuertemente con la respuesta in vivo (276). Los linfocitos han recibido la atención como dianas celulares para predecir la radiosensibilidad sobre tejidos normales debido a que estos circulan continuamente a través de la circulación del cuerpo humano y el campo de radiación, las dosis-respuesta de radiación in vivo e in vitro de linfocitos son similares (276), y la radiosensibilidad de linfocitos entre individuos son significativamente diferentes (246,277). Debido a la facilidad de obtener muestras de linfocitos de sangre periférica, y a la rapidez y reproductibilidad de los resultados con los que pueden ser generados, los linfocitos de sangre periférica humanos son ahora preferidos para ensayos sobre la respuesta de los tejidos normales a la radiación (270,278,279). En pacientes con cáncer, la evidencia sugiere que la radiosensibilidad incrementada de los linfocitos de sangre periférica se correlaciona con el desarrollo de morbilidad relacionada con RT (246,270,279). Oppitz et al encontraron en 32 pacientes con cáncer de mama que la radiosensibilidad in vitro de linfocitos de sangre periférica medida por comet alcalino se correlacionaba significativamente con la morbilidad radioinducida aguda, así como por PFGE (257). Adicionalmente, West et al (280) demostraron que en 83 pacientes con cáncer cervical, la fracción de supervivencia a 2 Gy de los linfocitos tiene un factor predictivo altamente significativo para el desarrollo de morbilidad radioinducida tardía.

8. ¿POR QUÉ LAS ROTURAS DE DOBLE CADENA DE ADN NO EXPLICAN TODOS LOS RESULTADOS?:

Dado que la comparación del daño sobre el ADN y su reparación con los efectos clínicos tardíos y la radiosensibilidad in vitro no ha revelado una total y completa correlación (250,281,282), los defectos de reparación podrían constituir un factor agravante para la radiosensibilidad, pero la asociación incompleta indica otros factores de susceptibilidad (283). Otras características tisulares, tal como una propensión a las reacciones inflamatorias o producción de citoquinas, pueden jugar un papel modificador en la inducción de estos efectos en las áreas cutáneas irradiadas (284).

Las rdc de ADN han recibido la atención principal entre los distintos tipos de daño inflingido por la radiación, principalmente por su estrecha relación con el daño cromosómico, el cual se relaciona con la muerte celular en algunos tipos celulares. Sin embargo, el reconocimiento de que la apoptosis puede ser un importante modo de muerte radio-inducida en algunos tipos celulares, plantea la posibilidad de que otros tipos de daño pueden ser importantes desencadenantes para la muerte celular. Se ha reconocido que agentes que dañan el ADN y no producen rdc pueden inducir apoptosis; así, la determinación del principal mecanismo de muerte celular puede ser un factor importante en la evaluación de la utilidad de la medida del rdc.

Hasta hace poco ha sido generalmente aceptado que las consecuencias genotóxicas de la exposición a la radiación derivan de daños inflingidos directamente por la radiación, produciendo cambios irreversibles durante la replicación del ADN, la división celular, o durante el proceso de daño sobre el ADN por enzimas de reparación (285). Sin embargo, ahora hay evidencias

considerables de que células que son la progenie de las expuestas, pero que no se han expuesto directamente, pueden dividirse, expresar mutaciones genéticas retrasadas, y portar aberraciones cromosómicas. Este efecto, conocido como “inestabilidad genómica radioinducida”, puede ser expresado via mutaciones letales, causando perturbaciones prolongadas de volumen tisular dentro del campo de radiación (286). Aunque los mecanismos de estos efectos a largo plazo de la radiación ionizante no son bien conocidos, se han relacionado con la producción excesiva de especies de oxígeno reactivo (287). Experimentos recientes han mostrado que la activación de macrófagos y la infiltración de neutrófilos son consecuencias del reconocimiento y limpieza de células apoptóticas radioinducidas y que el aumento de la actividad celular fagocítica persiste tras eliminar los cuerpos apoptóticos. Esto demostró que el reconocimiento y limpieza de células apoptóticas tras exposición a radiación produce activación macrofágica persistente y una respuesta inflamatoria genotipo-dependiente (288). Este fenómeno y cambios genéticos radioinducidos pueden ser determinantes importantes de las consecuencias a largo plazo de la exposición a radiación (288). Además, nuevas evidencias sugieren que las interacciones multicelulares mediadas por citoquinas inician y sustentan el proceso fibrogénico (289,290) que es un efecto a largo plazo de la RT.

9. UTILIDAD POTENCIAL DE LOS TEST PREDICTIVOS:

Cualquier ensayo que pueda dar una indicación rápida y precisa de la sensibilidad de las células en tejidos sanos o tumorales tendría un beneficio potencial amplio en el planeamiento de la RT. En la actualidad los datos sobre

líneas celulares humanas han producido un abanico de posibles objetivos en la inducción y reparación de daño que pueden ser útiles (244). En la mayoría de los casos la precisión, reproductibilidad y relación con la radiosensibilidad todavía no son adecuadas para la aplicación clínica. La razón para esto es, probablemente, técnica. Es posible que el conocimiento sobre las roturas físicas del ADN necesite ser combinado con una amplia visión de la respuesta biológica al daño. Pese a que aún no se ha demostrado como totalmente fiable ningún ensayo de radiosensibilidad, es importante reconocer que el daño del ADN es un parámetro que puede ser considerado para valorar los efectos de la radiación (291,292).

Como hemos visto hasta ahora, el hecho de que la reacción de los tejidos normales, como efecto secundario indeseado, parezca fuertemente dependiente de la radiosensibilidad celular, y la posibilidad de que esa reacción se sustente sobre bases genéticas, invariables para cada individuo, ha motivado múltiples estudios. Se acepta de manera generalizada, que existen amplias diferencias en los valores que caracterizan la radiosensibilidad intrínseca de células procedentes ya sea de tumores humanos como de tejidos peritumorales sanos. Esta radiosensibilidad celular intrínseca individual parece ser un factor limitante de dosis en la radioterápica clínica, porque ésta determina la radiotolerancia de los tejidos normales circundantes (221,245,253,269,270,271,280). Sin embargo, los pacientes con cáncer en la misma localización anatómica y tipo tumoral, van a ser tratados con un planificación de dosis y fraccionamiento similar (293,270).

La identificación de la radiosensibilidad celular intrínseca podría permitir prescribir las dosis de radiación de forma individualizada

(225,246,248,252,253,271,277,278,281,293,294), facilitando así la mejor optimización del rango terapéutico. De esta forma, la morbilidad puede ser reducida al descender la dosis de RT en pacientes radiosensibles, y elevar la dosis en pacientes radioresistentes, lo que podría traducirse en una mejora de los niveles de control tumoral (245,253,277).

Esta morbilidad no sólo puede interferir con la calidad de vida del paciente, sino que también puede provocar cambios clínicos importantes durante y tras la RT (253,294). Así, el ajuste de la dosis de radiación, al conocer la radiosensibilidad individual, podría conducir a un beneficio estimado entre un 20% de control tumoral (246,293) y un 10% aumentando la dosis un 40%(295). De esta forma Alsbeih et al (296) mostraron cómo el ajuste de la dosis de la RT en pacientes pediátricos con síndromes de fragilidad cromosómica y radiosensibilidad conocida mejoraba los resultados clínicos y evitaba efectos severos radioinducidos.

CAPÍTULO V

ESTUDIOS DE RADIOSENSIBILIDAD IN VITRO EN PACIENTES CON LUPUS.

Estudios en pacientes con LES, tanto sobre linfocitos como sobre fibroblastos, han mostrado cierto aumento de la sensibilidad a la luz ultravioleta (297,298,299), al daño oxidativo (300,301) y un mayor número de aberraciones cromosómicas (302), que han sugerido un aumento sobre el daño del ADN o defectos en su reparación.

Harris et al (303) investigaron si los linfocitos procedentes de pacientes con enfermedades asociadas con autoinmunidad, tal como LES (14 pacientes, edad media 33,7 años), AR (25 pacientes, edad media 53,6 años) y PM (9 pacientes, edad media 39,1 años), serían más radiosensibles que aquellos procedentes de voluntarios sanos (14 pacientes, edad media 32,8 años) o pacientes con enfermedades no asociadas con autoinmunidad (8 pacientes, edad media 42,5 años). La proliferación de linfocitos de sangre periférica, cultivados con Con-A, puede ser inhibida por radiación ionizante. Utilizaron el material nucleico aislado procedente de linfocitos de pacientes con estas enfermedades autoinmunes, siendo, en promedio, más ligero en densidad que el material nucleico procedente de la mayoría de los controles sanos. Esta

diferencia de densidad no se relacionaba con incrementos de sensibilidad a la radiación ionizante; pero la recuperación de la densidad preirradiación del material nucleico, 1 h tras exposición a la radiación, tomada como índice de reparación del ADN, se correlacionaba con la radiosensibilidad de la proliferación de linfocitos (respuesta Con-A). El fallo del retorno a la densidad preirradiación estaría asociado con un aumento de la sensibilidad de la respuesta proliferativa de los linfocitos en cultivo. Los resultados indicaban que los pacientes con AR, LES y PM eran más radiosensibles que sus controles. No encontraron influencia de la edad de los grupos de estudio en la diferente radiosensibilidad. Tampoco encontraron diferencias en cuanto a tratamientos previos o actividad de la enfermedad, aunque no describen estas variables ni el método estadístico empleado. Para Harris et al estos resultados requerían nuevas investigaciones pero, considerando otros estudios aportados previamente del efecto de agentes metilantes sobre el ADN, apoyarían la idea de que el daño en el ADN y su defecto de reparación podría ser importante en la etiopatogénesis de las enfermedades autoinmunes.

Cossu et al (304) describieron un aumento de la radiosensibilidad en linfocitos procedentes de pacientes con LES con enfermedad activa. Para ello estudiaron la radiosensibilidad de cultivos de linfocitos de 8 pacientes de entre 18 a 32 años, 6 de ellos mujeres, con LES en fase activa y en remisión tras tratamiento con ciclosporina (5 mg/kg/día) y fluocortisolona (180mg/sem), comparado con un grupo de 5 sujetos sanos de entre 20 y 40 años, 4 de ellos mujeres. Usaron cultivos de linfocitos totales, así como subpoblaciones de linfocitos B, T, NK, Th y Ts irradiados con fotones gamma de Co-60 con dosis entre 0 y 10 Gy. El daño debido a la irradiación se evaluó a las 24 horas

usando cultivo clonogénico con $^3\text{H-TdR}$, estimulado previamente con tres mitógenos diferentes las muestras de cada enfermo y sus controles (PHA, Con-A y PWM), midiendo el resultado final como D/37. Los pacientes en fase activa mostraron un aumento de sensibilidad significativa de los linfocitos totales, así como de varias subpoblaciones, aunque eran variables según el mitógeno utilizado, frente a fase inactiva y a controles. La radiosensibilidad tendía a la normalidad en los pacientes con fase de remisión. Los autores concluían que debería hacerse un estudio preliminar de sensibilidad de los linfocitos de todos los pacientes con enfermedades autoinmunes que vayan a ser tratados, para evitar los daños debidos a la radiación. Más aún, sugerían que un test para sensibilidad de los linfocitos a la radiación podría aplicarse con vistas a la evaluación de la remisión clínica de pacientes afectados por LES

McCurdy et al (305) estudiaron la respuesta de linfocitos a la radiación ionizante en 24 LES. Estos pacientes tenían una edad media de 14,8 años, rango 9-21 años, de ellos 19 eran mujeres y 5 varones; la mayoría de origen asiático, todos con enfermedad bajo control, 23 con dosis bajas de esteroides y 10 con pulsos mensuales de ciclofosfamida por nefritis lúpica. Así mismo incluyeron a 15 ARJ, 2 ES, 4 DM, 2 ataxia-telangiectasia y 7 controles en menores de 20 años, así como 8 controles adultos (edad mayor de 21 años no descrita, 6 mujeres y 2 varones). Utilizó la técnica de electroforesis de "comet" alcalino para detectar roturas simples de cadena de ADN y midió la longitud de la cola del cometa en electroforesis tras irradiación a 1,5 Gy en diferentes momentos, siendo mayor la diferencia entre LES y controles a los 30 minutos. Inmediatamente tras RT todas las células tenían una cola mayor de 50 μm . LES, AR y ES tenían diferencias estadísticamente significativas respecto a los

controles (con una longitud de cola menor), encontrando más daño severo inducido por radiación en su ADN a los 30 minutos así como un retraso significativo en el proceso de reparación (medido como reducción del tamaño de la cola del cometa tras realizar la electroforesis) a los 30 minutos, siendo esta relación estadísticamente significativa. Los niños con DM y ataxia-telangiectasia tenían un grado de lesión/reparación similar a los controles. Ninguno se correlacionó con la medicación, estando todos los niños con su enfermedad bajo control.

CAPÍTULO VI

OBJETIVOS:

1. OBJETIVO PRINCIPAL:

Medir si existe diferente grado de radiosensibilidad molecular entre un grupo de pacientes con lupus eritematoso sistémico y un grupo control sano, determinado mediante el número inicial de roturas dobles de cadena de ADN por Gy de dosis y por unidad de ADN, utilizando la técnica de electroforesis de campo pulsado.

2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- a) Medir si existe diferente grado de radiosensibilidad molecular entre un grupo de pacientes con lupus eritematosos sistémico y un grupo de pacientes con lupus cutáneo.
- b) Establecer si existe diferente grado de radiosensibilidad molecular en función de la actividad, medido como SLEDAI, y daño acumulado, medido como SLICC, en pacientes con lupus eritematoso sistémico.
- c) Comprobar la relación entre la medida de radiosensibilidad molecular y diversos parámetros clínicos y biológicos en pacientes con lupus eritematoso sistémico.

3. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Los pacientes con lupus eritematoso sistémico presentan una mayor sensibilidad molecular a la radiación ionizante que la población general, aumentando ésta en función de la actividad de la enfermedad; hecho que debería tenerse en cuenta cuando un paciente con lupus precise recibir radioterapia como parte de un tratamiento oncológico, para minimizar efectos secundarios agudos y/o tardíos o modificar su tratamiento.

CAPÍTULO VII

MATERIAL Y MÉTODOS

1. PACIENTES.

Para el estudio se incluyeron a los pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) y lupus cutáneo (LC) en seguimiento por la Unidad de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas del Hospital Universitario Virgen de las Nieves de Granada, perteneciente al Servicio Andaluz de Salud, que recoge a la población del área sanitaria norte de Granada.

Criterios de inclusión: Se incluyeron como LES, los pacientes que cumplían 4 o más criterios de la ACR de 1982, revisados en 1997, y como LC aquéllos que cumplían criterios clínicos y anatomopatológicos.

Criterios de exclusión: Se excluyeron los pacientes menores de 16 años o mayores de 65 años, y los que sufrían de enfermedades genéticas con mayor radiosensibilidad demostrada (anemia de Fanconi, ataxia-telangiectasia, etc).

En el **grupo control** se incluyeron sujetos sanos o con afecciones generales no relacionadas con el lupus, todos ellos de una edad y sexo similares a los pacientes lúpicos, y procedentes del entorno de los investigadores. Los criterios de exclusión fueron: sujetos menores de 16 años o

mayores de 65 años, y los que sufrían enfermedades genéticas que supongan una mayor radiosensibilidad demostrada.

El **tamaño muestral** quedó limitado por ser el lupus una enfermedad poco prevalente, alcanzándose el tamaño máximo que permitieron los criterios de inclusión y exclusión durante el periodo de recogida de muestras, y dentro de las limitaciones temporales que un trabajo de tesis conlleva. Entre Diciembre de 2001 y Febrero de 2003, se incluyeron 52 LES, 13 LC y 48 controles sanos.

2. CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Todos los pacientes y controles debieron dar su **consentimiento informado**, tras una entrevista en la que se les informó de la relación riesgo/beneficio del estudio y de la imparcialidad en la selección y seguimiento de los participantes, así como de la confidencialidad de los datos obtenidos. (Anexo 2). El estudio fue aprobado por el Comité Ético del Hospital Virgen de las Nieves de Granada.

3. PROCEDIMIENTO.

3.1. Variables clínicas y analíticas:

La **recogida de datos** se realizó de forma sistemática. Se reclutaron a los cuatro primeros pacientes que cumplían los criterios de inclusión y que aceptaron telefónicamente participar en la investigación, tomando como referencia el listado de la consulta de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas, ordenado por hora de visita de cada jueves, aproximadamente un mes antes de la cita.

De cada caso se cumplimentó un formulario (Anexo 3), cuyos datos se recogieron en una base de datos introducida en programa Microsoft Acces, que incluyó las siguientes variables:

1. Filiación, dirección, teléfono, edad, sexo, raza.
2. Antecedentes familiares (lupus y otras EAS, patologías neoplásicas, tratamiento antineoplásico y sus efectos secundarios).
3. Antecedentes personales (EAS, enfermedad neoplásica y tratamiento, enfermedades genéticas “radiosensibles”, otras).
4. Tipo de lupus (sistémico o cutáneo).
5. En caso de pacientes con LES:
 - a) Número de criterios de la ACR.
 - b) Cálculo de la actividad del LES: Se calculó en cada paciente el índice de actividad del LES utilizando como escala el SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index), que se determinó en el momento del estudio, con referencia a los 2 meses anteriores a este. La puntuación máxima posible de esta escala corresponde a 105 puntos que se obtienen sumando los índices de cada descriptor, siempre que esté presente en el momento de la visita o en los 2 meses previos a la misma. (Anexo 4). La actividad es proporcional a la puntuación de menor a mayor.
 - c) Determinación en cada paciente del índice de daño corporal, utilizando como escala el SLICC (Systemic Lupus International Collaborating Clinics) del ACR para el LES: El daño corporal se define como aquel cambio no reversible, relacionado con inflamación activa ocurrido desde el comienzo del LES, determinado mediante valoración clínica y presente durante al menos 6 meses. Deben transcurrir al menos 6 meses para que episodios repetidos puedan

puntuar 2 veces. Así mismo la misma lesión no puede puntuarse 2 veces. El SLICC está compuesto por 12 ítems representando cada uno la afectación de un órgano. A su vez éstos se subdividen en varios apartados que se puntúan dependiendo de la gravedad (Anexo 5).

d) Grupos de LES según los órganos afectados: Cutáneo-Articular, Hematológico, Renal (cualquier patrón de afectación de la Organización Mundial de la Salud (OMS)), Neuro-Psiquiátrico, Poliserositis, Antifosfolípido y General.

e) Fotosensibilidad clínica.

f) Estudio de autoinmunidad, que incluyó:

- Anticuerpos antinucleares (AAN) por Inmunofluorescencia indirecta (células Hep 2), para determinar el título y patrón antinuclear.

- Anticuerpos antiADN nativo (AntiADNn) por método RIA.

- Anticuerpos antiantígenos extraíbles del núcleo (ENA) por inmunodifusión doble (Farmacia, Upsala, Sweden): anti-Sm, anti-RNP, anti-Ro (SSA), anti-La (SSB), anti Scl-70.

- Fracciones del complemento C3 y C4 por inmunonefelometria (Beckman, USA)

6. En todos los pacientes:

- Tiempo de evolución de la enfermedad, medido en meses, desde el diagnóstico a la fecha de realización del estudio.

- Analítica básica que incluyó: hemoglobina, plaquetas, leucocitos y fórmula, VSG, creatinina, urea, glutámico oxalacético transaminasa (GOT), glutámico pirúvico transaminasa (GPT), creatín fosfoquinasa (CPK), lactato deshidrogenasa (LDH), PCR, proteínas totales y sedimento de orina.

- Factor Reumatoide (FR).
- Determinación de la dosis total acumulada y de la dosis diaria media de prednisona y antipalúdicos (cloroquina e hidroxiclороquina) para cada paciente. Para ello revisamos la historia clínica desde el comienzo de la enfermedad y se hizo un cálculo casi exacto de la dosis total recibida por cada paciente. Así mismo se determinó la ingesta en algún momento de la evolución de la enfermedad de los siguientes fármacos inmunosupresores (IS): Azatioprina, Metotrexate, Ciclofosfamida, Ciclosporina, y Micofenolato, con dosis actual y acumuladas.
- Tratamiento asociado por otras patologías.

7. Apartado de Observaciones.

En el **grupo control** se han recogido los siguientes datos:

1. Filiación, dirección, teléfono, edad, sexo, raza.
2. Antecedentes familiares (EAS, lupus, patologías neoplásicas, tratamiento antineoplásico y sus efectos secundarios).
3. Antecedentes personales (EAS, enfermedad neoplásica y tratamiento, enfermedades genéticas “radiosensibles”, otras).
4. Fotosensibilidad clínica.
5. Analítica básica que incluye: hemoglobina, plaquetas, leucocitos y fórmula, VSG, creatinina, urea, GOT, GPT, CPK, LDH, PCR, proteínas totales, sedimento de orina.
6. Tratamiento administrado, si procede en su caso.
7. Apartado de Observaciones.

3.2. Células obtenidas a partir de sangre periférica:

Se obtuvieron muestras sanguíneas, mediante venopunción utilizando el sistemas Venojet que incluye en el tubo la presencia de 0.06 ml de EDTA (K3) como anticoagulante, procesándose en el Laboratorio de Investigaciones Médicas y Biología Tumoral de la Universidad de Granada.

Las células mononucleares se separaron mediante centrifugación a 1500 rpm durante 30 min. en un gradiente de densidad de ficol de 1.077 ± 0.001 g/ml (Ficoll/Hypaque, Sigma). En la capa intermedia quedó, en forma de anillo, el conjunto de células mononucleares (fundamentalmente linfocitos), que se retiró utilizando una pipeta Pasteur. Las células mononucleares separadas se lavaron 2 veces con tampón PBS. Las células se centrifugaron, se resuspendieron en medio de cultivo (DMEM) frío y se contaron en la cámara de Neubauer con un microscopio óptico para, finalmente, obtener el número de células por ml, resuspendiéndose en DMEM a 4°C antes de ser incluidas en agarosa para realizar el ensayo de radiosensibilidad molecular.

3.3. Ensayo de radiosensibilidad molecular. Lesión molecular inicial radioinducida:

Para estimar el número de lesiones moleculares inducidas por la radiación ionizante sobre las células, éstas se incluyeron en una solución de agarosa tipo IX de muy bajo punto de fusión (Sigma) al 0.8% en tampón PBS y a una densidad de $2-3 \times 10^6$ células/ml de agarosa. Una alícuota de la suspensión anterior se pipeteó sobre un molde (BioRad) y se mantuvo durante 1 hora aproximadamente a 4°C para permitir la gelificación. Este proceso da origen a una muestra de consistencia semisólida que puede ser fácilmente

manipulada y a la que denominaremos “plugs”. Los “plugs” obtenidos se transfirieron a viales conteniendo medio de cultivo a 0° C. La irradiación se llevó a cabo a esta temperatura introduciendo los viales en hielo picado. La dosis de radiación administradas fueron 0, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40 y 45 Gy. Se utilizó alta tasa de dosis (1.3 Gy/min). Terminada la irradiación se sustituyó el medio de cultivo por un tampón de lisis constituido por 0.5 mg/ml de Proteinasa-K, 0.5 M EDTA y 2% lauril-sarcosyl a pH 7.6. Los plug se mantuvieron en este tampón a 4°C durante 1 hora, después se transfirieron a una incubadora en la que se mantuvieron a temperatura de 37°C durante 24 horas. Finalmente la lisis se detuvo introduciendo las muestras en la cámara frigorífica a temperatura de 4°C. En estas condiciones las muestras mantienen su estabilidad al menos una semana.

La electroforesis se realizó utilizando un sistema de electroforesis de campo pulsado, modelo CHEF-DRII (BioRad), que permite la migración en el gel de los fragmentos de ADN de longitud comprendidas entre 100 y 10-12 x 10(6) pares de bases. La electroforesis se realizó cargando pequeñas secciones de los “plugs” de aproximadamente 25 µl de volumen, en los pocillos de un gel de 0.8% de agarosa tipo VII (Sigma) en tampon 0.5 x TBE. Tras sellar los pozos del gel, éste se reintrodujo en la cubeta del sistema de electroforesis conteniendo tampón 0.5 x TBE a pH 8.2 y termostatizado a 14-16 °C. La electroforesis se realizó a la diferencia de potencial de 45 voltios durante 96 horas. El sentido del campo eléctrico alternaba cada 60 minutos en dos direcciones con un ángulo de separación de 120°. Finalizada la electroforesis, el gel se tiñó con una disolución acuosa de bromuro de etidio a una concentración final de 0.5 µg/m durante un tiempo mínimo de dos horas.

Posteriormente el gel se lavó con agua destilada aproximadamente 24 horas y se fotografió en condiciones de iluminación ultravioleta (312 nm).

3.4. Ensayo de radiosensibilidad molecular: estimación del parámetro de radiosensibilidad molecular:

Dos de los pocillos del gel, en cada uno de los experimentos, se cargaron con “plugs” conteniendo cromosomas de *Saccharomyces cerevisiae* (BioRad) y *Schizosacharomyces pombe* (BioRad) que se utilizaron como marcadores de peso molecular. Dado que el tamaño de estos cromosomas (*S. Cerevisiae*: 2.2, 1.6 y 0.1 megapares de bases (Mpb) y *S. Pombe*: 5.7, 4.6 y 3.5 Mpb) es conocido, la posición a la que cada uno de ellos migró en el gel, sirvió para calibrar el tamaño de los fragmentos de ADN obtenidos tras irradiación de las células procedentes de muestras sanguíneas. Para ello, los puntos experimentales de cada uno de los cromosomas y las distancias de migración correspondientes, se ajustaron a una línea recta utilizando el procedimiento de aproximación por mínimos cuadrados. De esta forma ha sido posible calcular el tamaño medio de los fragmentos de ADN separados en el gel, una vez finalizada la electroforesis de cada una de las muestras estudiadas.

La tinción del gel con bromuro de etidio y la posterior visualización del mismo bajo iluminación ultravioleta (312 nm), permitió observar una imagen donde se pudo apreciar la fluorescencia correspondiente al pozo (ADN intacto o fragmentos de tamaño superior al que migra bajo las condiciones previamente detalladas de electroforesis) y a la línea de migración del ADN (fragmentos de ADN rotos por la radiación). Esta imagen se analizó elaborando perfiles de intensidad de tinción para cada dosis mediante un software para

Análisis de imagen (Visilog 5.0), este procedimiento permitió calcular la intensidad de tinción por pixel. Los valores de intensidad oscilaron entre 0 (no intensidad) y 255 (máxima intensidad). Finalmente, tras seguir la metodología y aplicar el modelo matemático adecuado (231,306), se estimó cuantitativamente el número inicial de rupturas dobles de cadena (rdc) de ADN por Gy de dosis y por unidad de ADN (200 Mega pares de bases, tamaño estimado del cromosoma), (219) parámetro que se ha considerado como indicativo de la radiosensibilidad molecular en este estudio.

4. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

El análisis **estadístico** se realizó mediante el paquete estadístico SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) para Windows 98, versión 11.0, usando la información recogida en una base de datos Microsoft Acces. Se contó con el asesoramiento de un especialista en Estadística perteneciente a la Unidad Docente de nuestro Hospital.

Se realizó un estudio estadístico descriptivo que incluyó distribución de frecuencias y medidas básicas de resumen (los resultados se expresan en medias \pm DE y proporciones). En el análisis inferencial, las variables continuas se compararon mediante test de correlación lineal paramétrica para hipótesis bilateral y posterior aplicación del coeficiente de correlación paramétrica de Pearson, o mediante test de correlación lineal no paramétricas para hipótesis bilateral y posterior aplicación del coeficiente de correlación no paramétrica de Spearman, según el caso. Las variables dicotómicas (subgrupos normal/patológico o tratamiento si/no) se compararon mediante el test de

Mann-Whithney para hipótesis bilateral, y las variables ordinales (variables continuas ordenadas en intervalos) mediante el test de Kruskal-Wallis. Se consideró estadísticamente significativo un valor de p inferior a 0.05.

Como **variable dependiente** se utilizó el número inicial de rdc de ADN por unidad de dosis y de ADN (rdc/Gy/200 mpb) en linfocitos tras radiación ionizante.

Como **variables independientes** principales se utilizaron el pertenecer al grupo LES, al grupo LC o al grupo control, el grado de actividad y daño acumulado de la enfermedad según criterios internacionales de la ARA, medido en test cuantitativos específicos (SLEDAI, SLICC). El resto de parámetros cuantitativos (analítica básica, autoanticuerpos, complemento, dosis de fármacos, etc) y cualitativos (fotosensibilidad, raza, dato normal/anormal) se tomaron como variables independientes secundarias.

Como control de calidad se utilizó una determinación doble del ensayo nuclear en cada paciente, a partir de dos muestras extraídas en el mismo momento (control de la variación intraensayo).

CAPÍTULO VIII

RESULTADOS

1. DESCRIPCIÓN GENERAL.

Se valoraron 69 pacientes, 55 con el diagnóstico de LES con 4 o más criterios de la ACR y 14 con el diagnóstico de LC, confirmado por estudio histológico. Se perdieron 3 LES y 1 LC por requisitos de la técnica de PFGE. Del total de 52 pacientes con LES incluidos, 43 (82.7%) eran mujeres y 9 hombres. La edad media fue de 42,08 años. De los 13 pacientes con el diagnóstico de LC incluidos, 11 (84.6%) eran mujeres con una edad media de 47,46 años. El grupo control estaba compuesto por 48 sujetos, 38 (79.2%) eran mujeres, con una edad media de 43.50 años.

En la tabla 1 se representan las características por edad y sexo de cada grupo, junto a las rdc de ADN media. La tabla 2 muestra las características generales de los pacientes con LES. La tabla 3 muestra que los tres grupos comparados no presentan diferencias entre sí, en cuanto a sexo, edad y principales antecedentes.

Tabla 1: Edad, sexo y rdc de ADN media de cada grupo.

Grupo	Total número	Edad media \pm DE	Femenino número (%)	Rdc[†] Media \pm DE
LES	52	42,08 \pm 10,52	43/52(82,7%)	1,452 \pm 0,895
LC	13	47,46 \pm 12,22	11/13(84,6%)	1,633 \pm 0,766
Control	48	43,50 \pm 13,59	38/48(79,2%)	1,665 \pm 0,928

DE, desviación estándar; LC, lupus cutáneo; LES, lupus eritematoso sistémico; Rdc, roturas de doble cadena de ADN; [†], resultados expresados como rdc/Gy/ADN.

Tabla 2: Características generales de los pacientes con LES. Expresado en número (%).

Número de pacientes	52	Tratamiento actual:	
Mujeres/Varones	43/9 (82,7%)	Prednisona	36 (69,23%)
Edad Media	42,08	Hidroxicloroquina	43 (82,7%)
Raza Blanca/Etnia Gitana	48/4 (92,3%)	Ciclofosfamida	1 (1,9%)
Antecedentes Familiares		Azatioprina	9 (17,3%)
EAS	2 (3,8%)	Metotrexato	8 (15,4%)
Cancer	19 (36,5%)	Ciclosporina	2 (3,8%)
Antecedentes Personales		Micofenolato	2 (3,8%)
Fumador	7 (13,5%)	AINE-AAS	16 (30,8%)
HTA	17 (32,7%)	Anticoagulantes orales	4 (7,7%)
TEP-TVP	5 (9,6%)	IBP	18 (34,6%)
Abortos	12 (23,1%)	Benzodiacepinas	11 (21,2%)
Diabetes Mellitus	2 (3,8%)	Levotiroxina	2 (3,8%)
Hiperlipemia	11 (21,2%)	Estatinas	8 (15,4%)
Hipoiroidismo	2 (3,8%)	Calcio	14 (26,92%)
Fibromialgia	4 (7,7%)	Bifosfonatos	6 (11,5%)
Osteoporosis	9 (17,3%)	Betabloqueantes	5 (9,6%)
Sjögren	4 (7,7%)	Antagonistas del calcio	3 (5,8%)
Subgrupos Clínicos		Diuréticos	6 (11,5%)
Cutáneo-articular	44 (84,6%)	IECA o ARA2	12 (23,1%)
Hematológico	29 (55%)	Tratamiento acumulado (han tomado en algún momento de su evolución)	
Renal	19 (36,5%)	Prednisona	49 (94,23%)
Neuro-Psiquiátrico	7 (13,5%)	Hidroxicloroquina	49 (94,23%)
Poliserositis	13 (25,0%)	Cloroquina	12 (23,1%)
Antifosfolípido	11 (21,2%)	Ciclofosfamida	11 (21,2%)
General	18 (34,6%)	Azatioprina	22 (42,3%)
Fotosensibilidad	42 (80,8%)	Metotrexate	15 (28,8%)
Años de evolución	10,25	Ciclosporina	4 (7,7%)
Número de órganos afectados	3,69	Micofenolato	5 (9,6%)
Nº criterios ARA	5,88		
Parámetros analíticos:			
Anemia	11 (21,2%)		
Plaquetopenia	3 (5,8%)		
Leucopenia	7 (13,5%)		
Creatinina >1.1	16 (30,8%)		
AAN ≥1/160	34 (65,4%)		
ADNn > 15	22 (42,3%)		
Sm > 9	6 (11,5%)		
RNP > 9	5 (9,6%)		
Ro > 8	18 (34,6%)		
La > 8	9 (17,3%)		
Scl-70 > 8	4 (7,7%)		
C3 < 79	15 (28,8%)		
C4 < 16	30 (57,7%)		
FR > 14	8 (15,4%)		

AAN; anticuerpos antinucleares; AAS, Acido acetil salicílico; AINE, Antiinflamatorio no esteroideo; ARA-2, Antagonista del receptor de la angiotensina-2; C3, fracción C3 del complemento; C4, fracción C4 del complemento; EAS, enfermedad autoinmune sistémica; FR, factor reumatoide HTA, Hipertension arterial; IBP, Inhibidor de la bomba de protones; IECA, Inhibidor enzima convertora de angiotensina; TEP, Tromboembolismo pulmonar; TVP, Trombosis venosa profunda.

Tabla 3: Comparación de los tres grupos estudiados, según sexo, edad y principales antecedentes.

GRUPO	SISTEMICO Número (%)	CUTANEO Número (%)	CONTROL Número (%)	P*
TOTAL	52	13	48	
FEMENINO	43/52(82,7%)	11/13(84,6%)	38/48(79,2%)	(NS)
EDAD (media±DE)	42,08±10,52	47,46±14,22	43,50 ± 13,59	(NS)
TABAQUISMO	7/52 (13,5%)	2/13 (15,4%)	6/48 (12,5%)	(NS)
AF CANCER	19/52 (36,5%)	4/13 (30,8%)	14/48 (29,2%)	(NS)
HTA	17/52 (32,7%)	3/13 (23,1%)	13/48 (27,1%)	(NS)
DM	2/52 (3,8%)	1/13 (7,7%)	2/48 (4,2%)	(NS)
CAUCASIANOS	48 (92,3%)	13 (100%)	45 (95,8%)	(NS)

AF, antecedentes familiares; DM, Diabetes mellitus; HTA, hipertensión arterial; *, p comparando LES, LC y control.

2. DIFERENCIAS DE RDC DE ADN ENTRE LOS DIFERENTES GRUPOS DEL ESTUDIO.

El grupo LES presentaba unas rdc de ADN media de $1,452\pm 0,895$, el grupo LC $1,633\pm 0,766$, y el grupo control $1,665\pm 0,928$, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre ninguno de ellos. Los datos se representan en la tabla 4.

Tabla 4: Pacientes con LES, LC y GC. Diferencias de rdc entre los diferentes subgrupos.

Comparaciones de rdc [†] de ADN	Media 1 [†] número±DE	Media 2 [†] número±DE	Diferencia de medias [†]	p*
LES vs Control	1,452±0,895	1,665±0,928	-0,177	0,421 (NS)
LES vs LC	1,452±0,895	1,633±0,766	-0,181	0,290 (NS)
LC vs Control	1,633±0,766	1,665±0,928	0,032	0,962 (NS)

DE, desviación estándar; LC, lupus cutáneo; LES, lupus eritematoso sistémico; NS, no significativo; *, p utilizando test de Mann-Whitney bilateral; †, resultados expresados como rdc/Gy/ADN.

3. ANTECEDENTES PERSONALES EN PACIENTES CON LES.

El siguiente cuadro representa los antecedentes familiares y personales de los pacientes con LES, la media de las rdc de ADN entre los que presentan y no presentan cada uno de los antecedentes, y las diferencias entre ellos, así como la significación estadística, determinada mediante el test de Mann-Whitney para pruebas no paramétricas, para un test de hipótesis bilateral.

Tabla 5: Antecedentes en pacientes con LES

Antecedente	Total si Número (%)	Media rdc [†] si media±DE	Total no Número (%)	Media rdc [†] no media±DE	Diferencia medias rdc [†]	p*
Caucasiano	48/52 (92,3%)	1,334±0,666	4/52 (7,7%)	2,860±1,955	-1,52504	0,069 (NS)
AF EAS	2/52 (3,8%)	1,080±0,438	50/52 (96,2%)	1,467±0,908	-0,38716	0,601 (NS)
AF cancer	19/52 (36,5%)	1,782±1,168	33/52 (63,5%)	1,261±0,638	0,52082	0,115 (NS)
Fumador	7/52 (13,5%)	1,458±0,604	45/52 (86,5%)	1,451±0,938	0,00728	0,639 (NS)
HTA	17/52 (32,7%)	1,614±1,178	35/52 (67,3%)	1,373±0,727	0,24116	0,733 (NS)
TVP-TEP	5/52 (9,6%)	0,976±0,596	47/52 (90,4%)	1,502±0,911	-0,52627	0,198 (NS)
Abortos	12/52 (23,1%)	1,483±0,523	40/52 (76,9%)	1,442±0,985	0,04071	0,302 (NS)
Diabetes	2/52 (3,8%)	1,005±0,035	50/52 (96,2%)	1,470±0,909	-0,46516	0,295 (NS)
Hiperlipemia	11/52 (21,2%)	1,547±0,861	41/52 (78,8%)	1,426±0,913	0,12130	0,754 (NS)
Hipotiroidismo	2/52 (3,8%)	1,071±0,902	50/52 (96,2%)	1,467±0,901	-0,39600	0,601 (NS)
Alergias/ HRB	1/52 (1,9%)	1,100	51/52 (98,1%)	1,459±0,903	-0,35918	0,665 (NS)
Fibromialgia	4/52 (7,7%)	1,742±0,860	48/52 (92,3%)	1,428±0,902	0,31442	0,345 (NS)
Osteoporosis	9/52 (17,3%)	1,519±0,814	43/52 (82,7%)	1,438±0,920	0,08150	0,726 (NS)
Sjogren	4/52 (7,7%)	1,270±0,368	48/52 (92,3%)	1,467±0,926	-0,19746	0,837 (NS)

AF, antecedente familiar; DE, desviación estándar; EAS, enfermedad autoinmune sistémica; HRB, hiperrreactividad bronquial; HTA, hipertensión arterial; NS, no significativo; TEP, tromboembolismo pulmonar; TVP, trombosis venosa profunda; *, p para test de Mann-Whitney bilateral; †, resultados expresados como rdc/Gy/ADN.

Ninguno de los antecedentes recogidos mostraban diferencias estadísticamente significativa respecto a las rdc de ADN, aunque el hecho de pertenecer a una raza no caucasiana (en nuestro caso todos eran de etnia

gitana) estaba muy próximo a la significación estadística ($p= 0,069$) y en menor medida el haber sufrido un tromboembolismo pulmonar (TEP) o una trombosis venosa profunda (TVP) y el antecedente familiar de cancer.

4. SUBGRUPOS EN PACIENTES CON LES.

Los pacientes con LES se subdividieron según la afectación orgánica, estableciendo en cada subgrupo de afectación orgánica la diferencia de rdc de ADN y su significación estadística.

Tabla 6: Pacientes con LES. Afectación por órganos y aparatos.

Subgrupo Clínico	Total Si Número (%)	Media rdc [†] Si media±DE	Total No Número (%)	Media rdc [†] No Media±DE	Diferencia Medias rdc [†]	p*
Cutáneo-Articular**	44/52 (84,6%)	1,489±0,955	8/52 (15,4%)	1,249±0,429	0,239	0,694 (NS)
Hematológico	29/52 (55,8%)	1,604±0,972	23/52 (44,2%)	1,260±0,766	0,344	0,148 (NS)
Renal	19/52 (36,5%)	1,399±0,706	33/52 (63,5%)	1,482±0,997	-0,082	0,783 (NS)
Neuro-Psiquiátric	7/52 (13,5%)	1,874±1,669	45/52 (86,5%)	1,386±0,718	0,487	0,583 (NS)
Poliserositis	13/52 (25,0%)	1,427±0,792	39/52 (75,0%)	1,460±0,937	-0,033	0,824 (NS)
Antifosfolípido	11/52 (21,2%)	1,018±0,444	41/52 (78,8%)	1,568±0,952	-0,550	0,071 (NS)
General	18/52 (34,6%)	1,566±1,145	34/52 (65,4%)	1,392±0,743	0,174	0,825 (NS)
Fotosensibilidad	42/52 (80,8%)	1,379±0,674	10/52 (19,2%)	1,758±1,530	-0,378	0,963 (NS)
Rash malar	38/52 (73,1%)	1,441±0,653	14/52 (26,9%)	1,482±1,389	-0,041	0,240 (NS)
Cut Subagudo	1/52 (1,9%)	0,985	51/52 (98,1%)	1,461±0,902	-0,476	0,443 (NS)
Cutáneo Crónico	11/52 (21,2%)	1,476±0,753	41/52 (78,8%)	1,445±0,938	0,030	0,754 (NS)
Alopecia	17/52 (32,7%)	1,655±1,284	35/52 (67,3%)	1,353±0,629	0,301	0,792 (NS)

DE, desviación estandar; NS, no significativo; *, p para test de Mann-Whitney bilateral ; **, la afectación cutánea y articular suele aparecer en los mismos pacientes. †, resultados expresados como rdc/Gy/ADN.

La afectación orgánica más frecuente fue la cutáneo-articular (84,6%), seguida de la hematológica (55,8%). Los subgrupos que mayor número de rdc de ADN alcanzaron fueron los pacientes con alopecia (1,655±1,284), con afectación hematológica (1,604±0,972), con afectación neuropsiquiátrica (1,874±1,669) y aquellos sin síndrome antifosfolipídico (1,568±0,952). Ningún

subgrupo mostró diferencias estadísticamente significativas, aunque quedaban próximas a significación la ausencia de síndrome antifosfolipídico ($p= 0,071$) y el subgrupo hematológico. La fotosensibilidad clínica referida por los enfermos (aumento de sus síntomas claramente relacionada con la exposición solar) fue del 80,8 %, en este subgrupo los pacientes sin fotosensibilidad alcanzaban mayor rdc de ADN ($1,758\pm 1,530$) frente a los más fotosensibles ($1,379\pm 0,674$), aunque estas diferencias no fueron significativamente estadísticas.

5. PARÁMETROS DE LABORATORIO EN PACIENTES CON LES.

La tabla 7 representa diferentes parámetros analíticos correspondientes al hemograma, bioquímica básica y sedimento urinario, en pacientes con LES, estableciendo las diferencias de rdc de ADN para cada parámetro y su significación estadística, en base al punto de corte para normalidad o anormalidad según nuestro laboratorio, estableciéndolos como variable dicotómica.

Tabla 7: Pacientes con LES. Parámetros analíticos básicos, ausencia/presencia de datos patológicos.

Parámetro analítico (valor no normal)	Total Normal Número (%)	Media rdc [†] normal Media±DE	Total no normal Número (%)	Media rdc [†] no normal media±DE	Diferencia medias rdc [†]	p*
Hemoglobina (<12 mg/dL)	41/52 (78,8%)	1,280±0,652	11/52 (21,2%)	2,093±1,347	-0,813	0,040 (p<0.05)
Plaquetas (<100.000)	49/52 (94,2%)	1,448±0,919	3/52 (5,8%)	1,516±0,408	-0,068	0,480 (NS)
Leucocitos (<4.000)	45/52 (86,5%)	1,337±0,703	7/52 (13,5%)	2,191±1,566	-0,854	0,086 (NS)
PMN (<3.000)	35/52 (67,3%)	1,392±0,750	17/52 (32,7%)	1,574±1,155	-0,181	0,605 (NS)
Linfocitos (<1.000)	37/52 (71,2%)	1,363±0,728	15/52 (28,8%)	1,671±1,218	-0,308	0,380 (NS)
VSG (>30 mm/h)	36/52 (69,2%)	1,236±0,558	16/52 (30,8%)	1,936±1,279	-0,699	0,042 (p<0.05)
Creatinina (>1.1 mg/dL)	39/52 (75,0%)	1,328±0,638	13/52 (25,0%)	1,823±1,386	-0,494	0,410 (NS)
Urea (>50 mg/dL)	41/52 (78,8%)	1,461±0,968	11/52 (21,2%)	1,419±0,580	0,041	0,583 (NS)
GOT (>31 UI/L)	47/52 (90,4%)	1,464±0,937	5/52 (9,6%)	1,340±0,333	0,124	0,877 (NS)
GPT (>31 UI/L)	43/52 (82,7%)	1,361±0,876	9/52 (17,3%)	1,885±0,908	-0,523	0,088 (NS)
CPK (>170 UI/L)	51/52 (98,1%)	1,460±0,902	1/52 (1,9%)	1,010	0,450	0,484 (NS)
LDH (>460 UI/L)	46/52 (87,4%)	1,389±0,885	6/52 (12,6%)	1,935±0,899	-0,545	0,069 (NS)
PCR (>1 mg/dL)	45/52 (86,5%)	1,470±0,927	7/52 (13,5%)	1,335±0,702	0,135	0,925 (NS)
Proteinuria +	31/52 (59,6%)	1,544±1,003	21/52 (40,4%)	1,316±0,707	0,228	0,484 (NS)
Hematuria +	47/52 (90,4%)	1,477±0,889	5/52 (9,6%)	1,212±1,021	0,265	0,232 (NS)
Leucocituria +	49/52 (94,2%)	1,480±0,913	3/52 (5,8%)	0,993±0,315	0,487	0,280 (NS)

CPK, creatín fosfoquinasa; DE, desviación estandar; GOT, glutámico oxalacético transaminasa; GPT, glutámico pirúvico transaminasa; LDH, lactato deshidrogenasa; NS, no significativo; PCR, proteína C reactiva; PMN, Polimorfonucleares; VSG, velocidad de sedimentación globular; *, p para test de Mann-Whitney bilateral; †, resultados expresados como rdc/Gy/ADN.

Las anormalidades más frecuentemente encontradas fueron sedimento con presencia de proteínas en cualquier grado (40,4%), neutropenia (32,7%), VSG elevada (30,8%) y leucopenia (28,8%). Los subgrupos que mayor número de rdc de ADN presentaban fueron aquellos con leucopenia ($2,191 \pm 1,566$), anemia ($2,093 \pm 1,347$), VSG elevada ($1,936 \pm 1,279$) y LDH elevada ($1,935 \pm 0,899$). Los subgrupos que menor número de rdc de ADN presentaban fueron aquellos en los que en su sedimento se detectaba leucocituria ($0,993 \pm 0,315$) o hematuria ($1,212 \pm 1,021$). En cuanto a las diferencias observadas, eran significativamente estadísticas para la presencia de anemia ($p = 0,040$) y VSG elevada ($p = 0,042$). Quedó próximo a significación estadística la LDH elevada ($p = 0,069$), la leucopenia ($p = 0,086$) y la GPT elevada ($p = 0,088$).

La tabla 8 representa diferentes parámetros analíticos correspondientes al hemograma y bioquímica básica, en pacientes con LES, establecidos como variable continua

Tabla 8: Pacientes con LES. Parámetros analíticos básicos, como variable continua.

Parámetro analítico	Valor medio media±DE	p*	r**
Hemoglobina	13,29±1,82	0,001 (p<0.05)	-0,439
Plaquetas	216096±82704	0,841 (NS)	0,029
Leucocitos	6001±2703	0,540 (NS)	-0,087
PMN	3806±1708	0,805 (NS)	-0,035
Linfocitos	1629±976	0,400 (NS)	-0,119
VSG	28,54±22,69	0,228 (NS)	0,170
Creatinina	1,098±0,664	0,798 (NS)	0,036
Urea	45,87±33,88	0,928 (NS)	0,013
GOT	20,13±8,02	0,644 (NS)	0,066
GPT	21,65±11,08	0,221 (NS)	0,173
CPK	70,83±40,59	0,331 (NS)	-0,137
LDH	375,37±77,45	0,145 (NS)	0,205
PCR	0,483±0,755	0,784 (NS)	-0,039

CPK, creatín fosfoquinasa; DE, desviación estandar; GOT, glutámico oxalacético transaminasa; GPT, glutámico pirúvico transaminasa; LDH, lactato deshidrogenasa; NS, no significativo; PCR, proteína C reactiva; PMN, polimorfonucleares; VSG, velocidad de sedimentación globular; *, p para una correlación lineal paramétrica bilateral; **, r para Coeficiente de correlación paramétrica de Pearson.

Aplicando una correlación paramétrica entre los valores de cada parámetro de laboratorio y el número de rdc de ADN, el nivel de hemoglobina resultó con significación estadística ($p = 0,001$), con un coeficiente de correlación de Pearson de $-0,439$. Sin embargo, el nivel de VSG, que al analizarlo como variable dicotómica normal/patológico resultó con diferencias significativas, no alcanzó en este caso significación.

6. AUTOANTICUERPOS EN PACIENTES CON LES.

En la siguiente tabla se exponen el total y los porcentajes de pacientes con LES que presentaban determinaciones positivas a título significativo, a los distintos anticuerpos, niveles de complemento y FR, así como la media de rdc de ADN para cada grupo, y las diferencias estadísticas entre ellos.

Tabla 9: Pacientes con LES. Presencia de anticuerpos elevados, complemento disminuido y elevación de FR, a títulos significativos.

Anticuerpo	Total Si Número (%)	Media rdc [†] Si Media ± DE	Total No Número (%)	Media rdc [†] no Media ± DE	Diferencia medias rdc [†]	p*
AAN ≥1/160	34/52 (65,4%)	1,491±0,953	18/52 (34,6%)	1,378±0,794	0,113	0,665 (NS)
ADNn >15 UI/mL	22/52 (42,3%)	1,424±0,788	30/52 (57,7%)	1,472±0,979	-0,048	1,000 (NS)
Sm >9 UI/mL	6/52 (11,5%)	1,892±1,017	46/52 (88,5%)	1,394±0,874	0,497	0,174 (NS)
RNP >9 UI/mL	5/52 (9,6%)	2,236±0,794	47/52 (90,4%)	1,368±0,872	0,867	0,011 (p<0.05)
Ro >8 UI/mL	18/52 (34,6%)	1,437±0,776	34/52 (65,4%)	1,460±0,963	-0,022	0,954 (NS)
La >8 UI/mL	9/52 (17,3%)	1,887±0,860	42/52 (80,8%)	1,351±0,893	0,536	0,037 (p<0.05)
Scl-70 >8 UI/mL	4/52 (7,7%)	1,917±0,933	48/52 (92,3%)	1,413±0,891	0,504	0,175 (NS)
C3 <79 mg/dl	15/52 (28,8%)	1,465±0,842	37/52 (71,2%)	1,446±0,927	0,019	0,816 (NS)
C4 <16 mg/dl	30/52 (57,7%)	1,547±1,058	22/52 (42,3%)	1,322±0,607	0,225	0,598 (NS)
FR >14 UI/mL	8/52 (15,4%)	1,409±0,758	44/52 (84,6%)	1,460±0,925	-0,050	0,899 (NS)

AAN, anticuerpos antinucleares; ADN, anticuerpos anti ADN nativo; C3, fracción C3 del complemento; C4, fracción C4 del complemento; FR, factor reumatoide; NS, no significativo; *, p para test de Mann-Whitney bilateral; †, resultados expresados como rdc/Gy/ADN.

Los anticuerpos detectados con mayor frecuencia a título elevado fueron AAN (65,4%), C4 (57,7%) y anti-ADNn (42,3%). Los subgrupos con mayor número de rdc de ADN fueron anti-RNP >9 (2,236±0,794), anti-Scl70 >8 (1,917±0,933), anti-Sm >9 (1,892±1,017) y anti-La >8 (1,887±0,860). Los subgrupos con menor número de rdc de ADN fueron los pacientes con C4 >16

(1,322±0,607) y los pacientes con anti-La no elevado (1,351±0,893). Se encontraron diferencias significativamente estadísticas en los subgrupos con anti-La a título elevado ($p = 0,037$), y con anti-RNP a título elevado ($p = 0,011$).

En la tabla 10 se establecieron subgrupos en los pacientes con LES respecto al patrón de inmunofluorescencia de los AAN.

Tabla 10: Pacientes con LES. Patrón de AAN y relación con rdc de ADN

Patrón AAN	Número	Media rdc[†] media±DE	p*
Homogeneo	12	1,315±0,558	0,997 (NS)
Nucleolar	6	1,437±0,967	
Moteado	25	1,517±1,018	
Centromerico	1	1,200	

AAN, anticuerpos antinucleares; DE, desviación estandar; NS, no significativo; *, p para test de Kruskal-Wallis; †, resultados expresados como rdc/Gy/ADN.

No se encontraron diferencias en cuanto al patrón de inmunofluorescencia.

7. EDAD. ÍNDICES DE ACTIVIDAD Y CRONICIDAD EN PACIENTES CON LES.

Las siguientes tablas muestran la correlación de algunos parámetros clínicos y de actividad en pacientes con LES con el número de rdc de ADN. En el valor medio del SLEDAI y del SLICC no se incluyen aquellos pacientes cuya puntuación fue igual a cero.

Tabla 11: Pacientes con LES. Parámetros clínico-biológicos.

Parámetros clinicobiológicos	Valor medio Media \pm DE	p*	r**
Edad (años)	42,08 \pm 10,52	0,705 (NS)	0,054
Años de evolución	10,25 \pm 6,74	0,884 (NS)	0,021
Nº órganos afectados	3,69 \pm 1,14	0,536 (NS)	0,088
Nº criterios ACR de LES	5,88 \pm 1,26	0,754 (NS)	0,045

ACR, American College of Rheumatology; LES, lupus eritematoso sistémico; NS, no significativo; *, p para test de correlación lineal paramétrica bilateral; **, r para coeficiente de correlación paramétrica de Pearson.

Tabla 12: Pacientes con LES. Índices de actividad (SLEDAI) y cronicidad (SLICC).

Parámetro	Número pacientes	Valor medio Media \pm DE	p*	r**
SLEDAI	30	8,87 \pm 8,41	0,764 (NS)	0,057
SLICC	27	2,11 \pm 1,45	0,856 (NS)	0,037

DE, desviación estandar; NS, no significativo; SLEDAI, Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index; SLICC, Systemic Lupus International Collaborating Clinics; *, p para test de correlación lineal no paramétrica bilateral; **, r para coeficiente de correlación no paramétrica de Spearman.

La edad media de los pacientes con LES incluidos en el estudio fue de 42,08 \pm 10,52 años, el periodo medio de evolución desde el diagnóstico de la enfermedad para el total de pacientes con LES fue de 10,25 \pm 6,74 años. El número medio de órganos afectados en los pacientes con LES fue de 3,69 \pm 1,14, y el número medio de criterios de la ACR para LES fue de

5,88±1,26. Respecto a la escala de actividad SLEDAI para el LES, la puntuación media fue de 8,87±8,41, y en la escala de daño acumulado SLICC fue de 2,11±1,45 puntos. No se encontró ninguna correlación estadísticamente significativa, como se muestra en las tablas 11 y 12.

La siguiente tabla muestra a las variables sexo y brote clínico como dicotómicas, comparándoles frente al número de rdc de ADN.

Tabla 13. Pacientes con LES. Subclasificación según sexo y brote clínico.

	Total si número	Media rdc[†] Si Media ± DE	Total No número	Media rdc[†] no Media ± DE	Diferencia Medias rdc[†]	p*
Sexo (F)	43	1,5110,904	9	1,169±0,841	0,34216	0,191 (NS)
Brote Clínico	11	1,706±0,845	41	1,383±0,906	0,32284	0,190 (NS)

DE, desviación estandar; F, femenino; NS, no significativo; *, p para test de Mann-Whitney bilateral; †, resultados expresados como rdc/Gy/ADN.

No se apreciaron diferencias estadísticamente significativas, aunque el sexo femenino y la presencia de brote clínico presentaban mayor número de rdc de ADN que la ausencia de estos factores.

La siguiente tabla muestra la variable edad dividida en cuatro intervalos:

Tabla 14. Pacientes con LES. Subclasificación según la edad de los pacientes.

Edad	Número	Media rdc[†] Media ± DE	p*
Menor de 31	7	1,503±0,839	0,801 (NS)
31 - 40	17	1,216±0,536	
41 - 50	15	1,653±1,259	
Mayor de 50	13	1,501±0,829	

DE, desviación estandar; NS, no significativo; *, p para test de Kruskal-Wallis; †, resultados expresados como rdc/Gy/ADN.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a intervalos de edad, el intervalo menos radiosensible fue entre los 31 y los 40 años.

8. CARACTERÍSTICAS TERAPÉUTICAS EN PACIENTES CON LES.

La tabla 15 refleja el número de rdc de ADN entre los pacientes con LES que estaban tomando activamente los siguientes fármacos, frente a los que no los tomaban.

Tabla 15: Pacientes con LES. Tratamiento actual con fármacos contra el LES.

Tratamiento actual	Total Si número	Media rdc [†] Si Media ± DE	Total no número	Media rdc [†] no Media ± DE	Diferencia Medias rdc [†]	p*
Prednisona	36	1,525±0,991	16	1,286±0,624	0,238	0,539 (NS)
Antipalúdico	44	1,456±0,919	8	1,427±0,808	0,029	0,939 (NS)
Ciclofosfamida	1	1,010	51	1,460±0,902	-0,450	0,484 (NS)
Azatioprina	9	1,343±0,474	43	1,475±0,963	-0,131	0,744 (NS)
Metotrexate	8	2,012±1,715	44	1,350±0,635	0,661	0,462 (NS)
Ciclosporina	2	1,832±1,608	50	1,437±0,880	0,395	0,739 (NS)
Micofenolato	2	1,500±0,367	50	1,450±0,912	0,049	0,536 (NS)

DE, desviación estandar; IS, inmunosupresor; NS, no significativo; *, p para tes de Mann-Whitney; †, resultados expresados como rdc/Gy/ADN.

El grupo con mayor número de rdc de ADN es el que estaba tomando metotrexate (2,021), seguido del que tomaba ciclosporina (1,832). Los pacientes que menos número de rdc de ADN presentaron fueron aquellos en tratamiento con ciclofosfamida (1,010) y los que no recibían prednisona (1,286). En ningún caso se establecieron diferencias estadísticamente significativas.

La tabla 16 muestra el “tratamiento actual”, es decir, el tratamiento en el momento del estudio, con fármacos contra el LES, estableciendo la correlación entre la dosis actual media de cada fármaco y el número de rdc de ADN. Se utilizó el test paramétrico cuando “n” fué mayor de 30, y el no paramétrico cuando “n” fué menor de 30.

Tabla 16: pacientes con LES. Tratamiento actual con fármacos contra el LES.

Dosis actual	Número	rdc [†] media media ± DE	Dosis media (mg) media ± DE	p*	r**	p***	r****
Prenisona	38	1,525±0,991	8,4±13,0	0,380 (NS)	-0,124		
Antipalúdico	44	1,456±0,919	1,5±2,0	0,264 (NS)	0,174		
Ciclofosfamida	1	1,010	500,0				
Azatioprina	9	1,343±0,474	91,6±35,3			0,748 (NS)	-0,046
Metotrexate	8	2,012±1,715	7,5±2,3			0,467 (NS)	-0,103
Ciclosporina	2	1,832±1,608	125,0±35,3				
Micofenolato	2	1,500±0,367	1500,0±707,1				

DE, desviación estandar; mg, miligramos; NS, no significativa; *, p para Correlación paramétrica dos colas; **, r para Coeficiente Pearson; ***, p para Correlación no paramétrica dos colas; ****, r para Coeficiente Spearman; †, resultados expresados como rdc/Gy/ADN.

La dosis media de prednisona fue de 8,4±13,0 mg al día, la de hidroxicloroquina de 1,5±2,0 g a la semana, la azatioprina de 91,6±35,3 mg al día y la de metotrexate de 7,5±2,3 mg a la semana, como fármacos más utilizados. Ninguna correlación resultó significativa.

La tabla 17 refleja la distribución de pacientes según hubieran tomado o no, en algún momento de su enfermedad, cada uno de los fármacos utilizados contra el LES.

Tabla 17: Pacientes con LES. Tratamiento alguna vez con fármacos contra el LES.

Tratamiento alguna vez	Total Si número	Media rdc[†] Si Media ± DE	Total No número	Media rdc[†] no Media ± DE	Diferencia Medias rdc[†]	p*
Prednisona	49	1,454±0,922	3	1,423±0,195	0,030	0,596 (NS)
Antipalúdicos	49	1,457±0,911	3	1,365±0,704	0,092	0,922 (NS)
Hcloroquina	49	1,360±0,708	3	2,950±2,201	-1,589	0,081 (NS)
Cloroquina	12	1,461±1,317	40	1,449±0,748	0,011	0,397 (NS)
Ciclofosfamida	11	1,389±0,711	41	1,469±0,945	-0,079	0,955 (NS)
Azatioprina	22	1,496±0,704	30	1,419±1,023	0,076	0,304 (NS)
Metotrexate	15	1,877±1,329	37	1,279±0,585	0,598	0,154 (NS)
Ciclosporina	4	1,586±0,974	48	1,441±0,898	0,145	0,706 (NS)
Micofenolato	5	1,695±0,844	47	1,426±0,905	0,268	0,277 (NS)

DE, desviación estandar; IS, inmunosupresor; NS, no significativo; *, p para test de Mann-Whitney dos colas; †, resultados expresados como rdc/Gy/ADN.

Los pacientes con mayor número de rdc de ADN fueron los que no tomaron hidroxicloroquina (2,950±2,201), los que tomaron metotrexate (1,877±1,329) y los que tomaron micofenolato (1,695±0,844) en algún momento de su enfermedad. Los pacientes con menor número de rdc de ADN fueron los que nunca habían recibido metotrexate (1,279±0,585) y los que en algún momento habían recibido hidroxicloroquina (1,360±0,708). No se encontró ninguna diferencia estadísticamente significativa, quedando próximos a significación los pacientes que nunca habían recibido tratamiento con hidroxicloroquina (p=0,081).

La tabla 18 muestra el tratamiento acumulado con fármacos contra el LES, estableciendo la correlación entre la dosis actual de cada fármaco y el número de rdc de ADN. Se utilizó el test paramétrico cuando “n” fue mayor de 30, y el no paramétrico cuando “n” fue menor de 30.

Tabla 18: Pacientes con LES. Tratamiento alguna vez con fármacos contra el LES.

Dosis acumulada	n	rdc [†] media media ± DE	Dosis media acumulada (mg) Media ± DE	p*	r**	p***	r****
Prednisona	49	1,454±0,922	36572,92±56297,00	0,401 (NS)	0,123		
Hcloroquina	49	1,360±0,708	309146,63±200802,80	0,607 (NS)	0,075		
Cloroquina	12	1,461±1,317	179812,50±148036,04			0,480 (NS)	-0,226
Ciclofoamid	11	1,389±0,711	13040,91±4772,67			0,991 (NS)	0,004
Azatioprina	22	1,496±0,704	35617,05±29498,81			0,876 (NS)	0,035
Metotrexate	13	1,877±1,329	2283,08±3798,95			0,643 (NS)	-0,142
Ciclosporina	4	1,586±0,974	61562,50±69746,67			0,328 (NS)	-0,672
Micofenolato	5	1,695±0,844	560000,00±260768,09			0,657 (NS)	-0,273

DE, desviación estandar; mg, miligramos; NS, no significativo; *, p para correlación paramétrica dos colas; **, r para coeficiente Pearson; ***, p para correlación no paramétrica dos colas; ****, r para coeficiente Spearman; †, resultados expresados como rdc/Gy/ADN.

La dosis media acumulada de prednisona fue de 36572,9±56297,0 mg, la de hidroxicloroquina de 309,1±200,8 g, la de azatioprina de 35617,0±29498,8 mg y la de metotrexate de 2283,0±3798,9 mg, como fármacos más utilizados. Ninguna correlación resultó significativa.

La tabla 19 muestra el número de rdc de ADN entre los pacientes que estaban tomando activamente cada uno de los siguientes fármacos por enfermedades generales (HTA, osteoporosis, etc) frente a los que no los tomaban.

Tabla 19: Pacientes con LES. Tratamiento con fármacos generales

Tratamiento general	Total Si número	Media rdc [†] Si Media ± DE	Total No número	Media rdc [†] no Media ± DE	Diferencia Medias rdc [†]	p*
AINE-AAS	16	1,464±0,623	36	1,446±1,001	0,018	0,513 (NS)
Sulfonas	0		52	1,452±0,895		
ACO	4	0,791±0,619	48	1,507±0,897	-0,715	0,064 (NS)
IBP	18	1,554±0,722	34	1,397±0,980	0,156	0,208 (NS)
Benzodiazepinas	11	1,404±0,682	41	1,465±0,951	-0,061	0,867 (NS)
Levotiroxina	2	1,071±0,902	50	1,465±0,901	-0,396	0,601 (NS)
Estatinas	8	1,184±0,499	44	1,501±0,945	-0,317	0,417 (NS)
Calcio	14	1,620±0,819	38	1,390±0,924	0,230	0,317 (NS)
Bifosfonatos	6	1,432±0,799	46	1,454±0,915	-0,022	0,977 (NS)
Betabloqtes	5	1,418±0,341	47	1,455±0,937	-0,037	0,598 (NS)
Antagonist Calcio	3	1,750±0,622	49	1,434±0,911	0,315	0,289 (NS)
Diuréticos	6	1,434±1,009	46	1,454±0,892	-0,019	0,753 (NS)
IECA o ARA2	12	1,770±1,247	40	1,356±0,754	0,413	0,175 (NS)

AAS, ácido acetil salicílico; ACO, anticoagulantes orales; AINE, antiinflamatorios no esteroideos; ARA-2, antagonista del receptor de la angiotensina 2I; DE, desviación estándar; IBP, inhibidores de la bomba de protones; IECA, inhibidores de la enzima convertora de angiotensina; NS, no significativo; *, p para test de Mann-Whitney dos colas; †, resultados expresados como rdc/Gy/ADN.

Los pacientes con mayor número de rdc de ADN fueron los que estaban tomando IECA o ARA2 (1,770±1,247), los que tomaban algún antagonista del calcio (1,750±0,622) y los que tomaban calcio (1,620±0,819). Los pacientes que menos número de rdc de ADN presentaron fueron aquellos en tratamiento

con anticoagulantes orales ($0,791\pm 0,619$), los que tomaban levotiroxina ($1,071\pm 0,902$, aunque sólo fueron dos pacientes) y aquellos en tratamiento con estatinas ($1,184\pm 0,499$). En ningún caso se establecieron diferencias estadísticamente significativas, aunque los pacientes que no recibían anticoagulantes orales se aproximaron a la significación ($p 0,064$).

CAPÍTULO IX

DISCUSIÓN

Debido a los avances en el tratamiento del LES, la esperanza de vida de estos pacientes es similar a la de la población general. Este hecho ha provocado que surjan nuevas complicaciones como la patología aterosclerótica y la neoplásica. Particularmente interesante es la asociación entre LES y cáncer, que ha sido sugerida, pero aún no totalmente probada, especialmente los relacionados con la proliferación de células B, como se expuso en la introducción.

La prevalencia de cáncer a nivel mundial se espera que se dispare por encima del 20% en los próximos 20 años (307). En la actualidad la RT es un componente esencial en el tratamiento, recibéndola el 40% de los enfermos en el curso de su enfermedad (308). El objetivo de la RT es alcanzar la mayor probabilidad de control tumoral sin complicaciones.

Algunos estudios han sugerido la asociación entre ciertas enfermedades del tejido conectivo, incluido el LES, y la aparición de efectos severos, agudos o tardíos, secundarios a la RT, con una frecuencia y severidad mayor que la esperada en la población general (188,189,193,194,196,255). Lo mismo sucede en el lupus cutáneo (189,193,195,196). Estos efectos adversos abarcan

un amplio abanico de manifestaciones: desde descamación húmeda cutánea a dosis bajas (194) hasta necrosis pélvica y muerte (206). Así, en 1992, la ACR recomendó que una historia de enfermedades del tejido conectivo se considerara como una contraindicación relativa para el tratamiento conservador del cáncer de mama, al indicar las publicaciones previas que tales pacientes toleraban pobremente la irradiación (309). Esta impresión también llevó a la Asociación Canadiense de Radiooncólogos en 1998, en varios documentos de consenso, a considerar al LES y a la esclerodermia como una contraindicación relativa para el tratamiento del cancer de mama con RT (310,311).

De esta forma, y dado que la patología neoplásica se está convirtiendo en una complicación esperable en una enfermedad con supervivencia prolongada, es lógico aclarar si realmente el LES se trata de una enfermedad con radiosensibilidad incrementada, como ocurre en algunos síndromes de base genética. Esto es especialmente importante, dado que actualmente, como demostraba el trabajo de Benk et al (208) en el año 2005, al considerarse el LES como una contraindicación relativa para la RT, ésta se puede estar infrautilizando, restando posibilidades de tratamientos no erradicadores en estos pacientes.

De esta forma, Benk et al (208), quisieron demostrar si la RT realmente originaba toxicidad inusual en aquellos pacientes con LES que la recibían. Para ello realizaron un estudio retrospectivo en la University of Toronto Lupus Clinic entre 1972 y 2001 con un total de 1041 LES, seleccionando 38 pacientes con LES que además sufrieron cáncer, en su mayoría de mama, de neoplasia cutánea y hematológica. Cada caso fué reevaluado posteriormente por tres radiooncólogos diferentes, que desconocían el antecedente de LES, y se

recabó su opinión sobre la necesidad de RT. La mayoría eran mujeres, con una edad media de 55 años y un SLEDAI medio de 4.3; además el 19% de los pacientes presentaba algún grado de fotosensibilidad. Los tres oncólogos recomendaron RT en 26 casos (al 65% de los LES), 14 de forma curativa y 12 sintomática. Pero sólo 4 casos realmente recibieron RT, 3 de ellos de forma curativa, sin desarrollar ninguno efectos adversos a corto o largo plazo. De esta forma, por ejemplo, de los 8 cánceres de mama, sólo 6 recibieron tratamiento adecuado. Así, observaron cómo en estos casos, la RT estaba infrautilizada en los pacientes con LES que desarrollaban cáncer. De los 40 casos de cáncer, el 65% podrían haber recibido RT (54% de forma curativa y 46% sintomática), pero sólo el 10% la recibieron. Estos autores concluyeron que la RT en personas con LES no debería ser negada, en particular en mujeres con cáncer de mama que quisieran tratamiento conservador. Aunque en los pacientes con LC y LES con manifestaciones cutáneas activas, la precaución debería quizá ser recomendada y el uso de fraccionamiento estandar, como oposición al fraccionamiento acelerado, podría ser ofrecido como una aproximación segura.

1. OBJETIVO PRINCIPAL. RADIOSENSIBILIDAD.

Entre las publicaciones con mayor número de casos clínicos recogidos, aquéllas que sugieren una mayor radiosensibilidad son las de Fleck et al (195) con dos reacciones agudas y una tardía en sus tres lupus, De Naeyer et al (196) con una aguda y dos tardías en tres pacientes con lupus, Morris et al (196) con cinco reacciones tardías en veinticinco pacientes lúpicos, y Pinn et al (393) con ocho agudas y ocho tardís en 21 pacientes con lupus. El porcentaje de pacientes con reacciones agudas y tardías severas, 21% y 17%

repectivamente, descrito por Pinn et al (393), fue similar a algunos estudios en fase III que incluyen pacientes sin enfermedades del tejido conectivo (394). Por el contrario, Chon et al (209) con una aguda y una tardía en cinco enfermos, Ross (188) con cuatro agudas y una tardía en trece enfermos, Rackfal et al (193) sin reacciones en sus seis pacientes y Benk et al (208) sin reacciones en cuatro pacientes con lupus, no sugieren encontrar mayor radiosensibilidad que la esperada en la población general.

Frente a las mencionadas discrepancias sobre la peor tolerancia clínica a la RT de los pacientes con LES, que han motivado este trabajo, en los tres ensayos in vitro sobre radiosensibilidad que incluían pacientes con LES se sugieren una mayor radiosensibilidad en este tipo de enfermos. Harris et al (303) concluyó, mediante un ensayo clonogénico, que los linfocitos procedentes de pacientes con enfermedades asociadas con autoinmunidad, tal como AR, LES y PM, eran más radiosensibles que aquellos procedentes de voluntarios sanos o pacientes con enfermedades no asociadas con autoinmunidad. Incluía 14 pacientes con LES, con una edad media de 33,7 años, comparado con 14 individuos sanos, no hacía referencia a la actividad de la enfermedad. Por otro lado, Cossu et al (304) estudiaron la radiosensibilidad de cultivos de linfocitos de 8 pacientes con LES en fase activa, y posteriormente en remisión tras tratamiento con ciclosporina y fluocortisolona, comparándolos con un grupo de 5 sujetos sanos; así, describieron un aumento de sensibilidad significativa de los linfocitos totales y de varias subpoblaciones en fase activa, aunque eran variables según el mitógeno utilizado, frente a fase inactiva y a controles. McCurdy et al (305) estudiaron la respuesta de linfocitos a la radiación ionizante en 24 pacientes con LES sin actividad clínica mediante

la técnica del “comet” alcalino para detectar roturas simples de cadena de ADN, entre otras patologías autoinmunes. LES, AR y ES tenían diferencias estadísticamente significativas respecto a los controles, encontrando tanto más daño severo inducido por radiación en su DNA, como un retraso significativo en el proceso de reparación.

En nuestro trabajo, en el que hemos analizado 65 pacientes con lupus eritematoso, 52 con el diagnóstico de LES y 13 con el diagnóstico de LC, junto a 48 sujetos como grupo control, no hemos encontrado diferencias estadísticamente significativas entre la radiosensibilidad molecular de pacientes con LES, medida como número de rdc de DNA por unidad de dosis, mediante técnica PFGE, frente a un grupo control ajustado por edad y sexo. Tampoco se han encontrado diferencias entre el grupo LES y el grupo LC. En todos los casos se ha recogido de forma pormenorizada los antecedentes, resultados analíticos básicos y aquellos relacionados con su trastorno autoinmune, el tratamiento en el momento del estudio y el recibido previamente, así como el cálculo del SLEDAI y el SLICC. Esta descripción pormenorizada de cada paciente no ha sido aportada por ningún trabajo previo. Así mismo, nuestro trabajo es el que aporta un mayor tamaño muestral a nivel in vitro.

La discordancia de nuestros resultados respecto aquellas publicaciones que describen una mayor radiosensibilidad in vitro en los pacientes con LES pueden deberse a varias circunstancias: tamaño muestral, edad de los pacientes y técnica de radiosensibilidad utilizada.

1.1. Tamaño muestral:

La mayoría de las descripciones clínicas se han basado en casos anecdóticos, las publicaciones que más casos han recogido, de forma retrospectiva, han sido: Morris et al con 25 (189), Pinn et al con 21 (393), Ross et al con 13 (188), Rakfal and Deutsch con 6 (193), Chon and Loeffler con 5 (209), Benk et al con 4 (208), Fleck et al con 3 (195) y De Naeyer et al con 3 (196). En cuanto a los ensayos in vitro, en el trabajo de Harris et al (303) estudiaron a 14 pacientes con LES comparados con 14 sujetos sanos, Cossu et al (304) estudiaron 8 pacientes con LES comparado con 5 sujetos normales, y McCurdy et al (305) estudiaron 24 LES, entre otras patologías autoinmunes, respecto a 15 controles. En nuestro trabajo hemos analizado 65 pacientes con Lupus Eritematoso, 52 con el diagnóstico de LES y 13 con el diagnóstico de LC, respecto a 48 sujetos como grupo control. Siendo así nuestro trabajo el que aporta un mayor tamaño muestral tanto a nivel in vitro como in vivo, por lo que desde el punto de vista estadístico sus resultados serían más fiables a la hora de extrapolarlos a la población de pacientes con LES.

1.2. Edad de los pacientes:

En nuestro trabajo se han excluido pacientes con menos de 16 años y más de 65 años, ya que las edades extremas de la vida son un factor conocido de mayor radiosensibilidad y peor tolerancia (312,313,314,315). Esto podría explicar la discrepancia con los resultados obtenidos por McCurdy et al (305), ya que las diferencias significativas frente a controles pueden deberse a un sesgo de selección, puesto que sus casos tienen una edad media de 14,8 años, y la mitad de sus controles una edad mayor de 21 años.

1.3. Técnica de radiosensibilidad:

Sólo un trabajo previo (305), se basa en un test predictivo de radiosensibilidad molecular rápido similar al nuestro, el comet alcalino sobre linfocitos. Sin embargo, este ensayo mide roturas simples de cadena, mientras que nuestro estudio aporta la primera descripción basada en roturas dobles de cadena de ADN, más específico para detectar daño irreparable en el ADN y más fiel a la hora de correlacionarlo con la radiotoxicidad clínica, como se expuso en la introducción. Los otros dos trabajos in vitro se basan en cultivos clonogénicos sobre linfocitos, que aunque son técnicas donde los mecanismos de lesión y reparación determinan quizá el resultado final de una forma más fiable, al jugar un papel activo el ambiente que rodea a la célula, estos dos trabajos adolecen de un escaso tamaño muestral y segmentan la muestra en varios subgrupos, por lo que sus conclusiones quedan limitadas. Harris et al (303) realizaron su ensayo clonogénico con linfocitos cultivados en Con-A, encontrando diferencias estadísticamente significativas con los sujetos sanos, al calcular la radiosensibilidad como el fallo del retorno a la densidad preirradiación de las muestras. Cossu et al (304) usaron tanto cultivos clonogénicos de linfocitos totales como de múltiples subpoblaciones y con 3 mitógenos diferentes, y aunque la radiosensibilidad medida por linfocitos totales fue significativa, esta significación se pierde en algunas subpoblaciones y con algunos mitógenos.

Aún así, la técnica utilizada por nosotros también puede tener sus limitaciones, por lo que nuestros resultados deberían ser tomados con precaución:

Como ya se explicó en la introducción, las roturas de doble cadena de ADN se han considerado como el tipo de lesión más importante para los efectos citotóxicos de la radiación, ya que los resultados sugieren que la muerte celular se relaciona de forma directamente proporcional con el nivel de roturas dobles de cadena. De esta forma, se ha sugerido que las células más radiosensibles sufren más rupturas dobles de cadena de DNA, por unidad de dosis, en su genoma, y además, en ellas, el proceso de reagrupamiento de las cadenas de ADN rotas por radiación es más lento que el observado en las células resistentes.

La electroforesis en gel sobre campo pulsado ha sido en los últimos años el método de elección utilizado por la mayoría de los investigadores para medir rupturas doble de cadena de ADN, ya que es sensible a pocos Gy, con modestos requerimientos en términos de cuantía celular, con una conocida fidelidad de la medición de la reparación (268), y con una buena correlación con resultados de cultivos clonogénicos como demuestra Ruiz de Almodovar et al (219), y con la radiosensibilidad clínica aguda (227). El daño inicial sobre el ADN y la supervivencia celular post-irradiación han sido directamente relacionados en experimentos in-vitro (259).

La hipótesis de que la respuesta de los tejidos normales a la radiación puede predecirse por un test in vitro (280,316), no es confirmada por todos los investigadores (221,225). Un reciente trabajo estimula la discusión acerca de la fiabilidad de las actuales técnicas moleculares de radiosensibilidad. En la publicación de Lopez et al (217), donde se incluyó de forma prospectiva a 108 mujeres con cáncer de mama que recibieron RT y fueron seguidas durante 7 años, se les realizó un test predictivo de radiosensibilidad midiendo rdc de

ADN mediante PFGE en linfocitos, no se encontró relación entre efectos clínicos agudos y test predictivo, ni entre efectos clínicos tardíos y test predictivo, ni entre efectos agudos y tardíos. Así, se indica que el nivel de daño inducido por radiación ionizante sobre el ADN en células normales no fue un determinante mayor de severidad de daño cutáneo agudo en este trabajo. Los defectos de reparación podrían constituir un factor agravante para la radiosensibilidad, pero la asociación incompleta indica otros factores de susceptibilidad (283). Una posible explicación es que los tests de radiosensibilidad in vitro y los ensayos de daño molecular de ADN no toman en consideración el variable grado de la respuesta de citoquinas, remodelamiento tisular y depósitos de colágeno que pueden caracterizar la respuesta específica de los tejidos normales en cada paciente (284,289). Mientras el depósito físico de energía puede ser similar para todas las células, hay factores solubles y asociados a la cromatina que pueden influir en el resultado final de daño inflingido al ADN (317,318).

Aunque los mecanismos de estos efectos retrasados de la radiación ionizante no son bien conocidos, la producción excesiva de especies de oxígeno reactivo ha sido implicada (287). El reconocimiento y limpieza de células apoptóticas tras exposición a radiación produce activación macrofágica persistente y una respuesta inflamatoria genotipo-dependiente (288). Estas interacciones multicelulares mediadas por citoquinas inician y sustentan el proceso fibrogénico (289,290) que es un efecto a largo plazo de la RT.

Así mismo, es necesario recordar que los efectos severos agudos a veces pueden diferir en el tiempo, y que si estos son medidos en el primer día de tratamiento, sin contabilizar los que aparezcan inmediatamente de forma

posterior, pueden inducir a error y explicar en estos casos la falta de correlación con los tests predictivos (217).

Además, los efectos agudos y tardíos pueden ser también inducidos por inesperadas interacciones entre células radiadas y no irradiadas (“bystander effects”), hipótesis que puede sustentarse por publicaciones que muestran una clara relación entre la severidad de toxicidad tardía en RT y el volumen del tejido normal incluido en el campo de tratamiento (319).

2. ANTECEDENTES PERSONALES.

2.1. Antecedentes personales patológicos:

Las patologías de base genética relacionadas con hipersensibilidad (230) fueron criterio de exclusión en nuestro estudio. Un buen número de trabajos han relacionado la Diabetes Mellitus (DM) y la Hipertensión Arterial (HTA), especialmente si cursan unidas (321,322), el hábito tabáquico (314), o la Enfermedad Inflamatoria Intestinal (EII) (321,323) con el riesgo de morbilidad clínica inducida por la RT. En los casos clínicos o in vitro publicados con pacientes con LES, no hay ninguna referencia a estos antecedentes como factor de influencia en una supuesta radiosensibilidad.

En nuestro trabajo, al analizar los pacientes con LES, no encontramos diferencias entre aquellos que presentaban determinado antecedentes frente a los que no los presentaban.

El 13% de pacientes fumadores tenían un número de rdc (1,458) similar a los no fumadores (1,451). No había ningún paciente con antecedente de EII. Salvo la publicación de Wang et al (324) describiendo en un trabajo de radiosensibilidad cromosómica sobre 441 sujetos sanos, una mayor

radiosensibilidad en los fumadores frente a los no fumadores, así como en hombres frente a mujeres, no hemos encontrado ninguna referencia sobre radiosensibilidad molecular entre estos antecedentes.

Pese a que los pacientes con HTA (1,641 rdc) tenían mayores rdc de ADN que los no hipertensos (1,373 rdc), y los diabéticos (1,005 rdc) tenían menores rdc de ADN que los no diabéticos (1,470 rdc), estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Esta ausencia de diferencias significativas puede ser debido a que las hipótesis etiopatogénicas de radiosensibilidad incrementada para estas patologías, se basan en alteraciones clínicas en la microcirculación, que no tienen traducción a nivel del grado de roturas de ADN. Tan sólo un trabajo hace referencia a la radiosensibilidad molecular en relación a estos antecedentes. Lorenzi et al (325) describieron cómo los pacientes con altas concentraciones de glucosa presentaban un aumento de roturas simples de cadena de ADN en células endoteliales, así como que pacientes con DM-1 con HbA1c elevada tienen más lesiones que aquellos con HbA1c controladas. Estos resultados son contrarios a los nuestros, pudiendo corresponder esta mayor radiosensibilidad al hecho de que se basa en una técnica que mide roturas simples, por lo que los falsos positivos para detectar lesión irreparable pueden ser mayores al ser la técnica más sensible.

2.2. Raza

Desde hace años se sabe que la prevalencia de LES es superior en determinados grupos étnicos, como las mujeres norteamericanas de raza negra y china (7). Aunque la diferente prevalencia entre los grupos raciales y ciertas

diferencias clínicas sugieren la importancia de la carga genética interracial en la etiopatogenia del LES, en estudios recientes se discute que parte de estas diferencias podrían deberse a factores socioeconómicos, que condicionan el acceso a la sanidad, prevalencia de infecciones, etc (1). Bernatsky et al (327), en un estudio multicéntrico, describen la relación entre diferentes grupos étnicos y la aparición de cancer en pacientes con LES, siendo la raza blanca la que se asocia con un mayor riesgo de cancer, tanto para todos los cánceres como para los linfomas, de forma estadísticamente significativa, frente a afro-americanos, hispanos y asiáticos. Estos resultados pueden deberse tanto a diferencias genéticas, ambientales como a la severidad del LES.

Al analizar la procedencia racial de nuestros pacientes con LES, 48 de origen caucásico y 4 de origen gitano, no encontramos diferencias estadísticamente significativas entre estos dos grupos raciales; si bien el número de rdc de ADN en los pacientes de etnia gitana (rdc 2,860) era llamativamente mayor que en los cucasianos (rdc 1,334), y con una significación estadística $p= 0,069$, estos resultados quedan sesgados por la desproporción del número de pacientes entre ambos grupos.

No disponemos de publicaciones que correlacionen una diferente radiosensibilidad según el grupo étnico en pacientes con LES. En la publicación de McCurdy et al (305), midiendo roturas simples de ADN, donde 11 de los 24 LES eran de origen asiático, se encontraron diferencias estadísticamente significativas respecto a los controles, donde tan sólo 4 de los 15 controles eran de origen asiático y 9 de origen caucasiano, aunque no se discutió la influencia de la raza en los resultados. Nuestro grupo viene estudiando desde hace varios años las características clínicas, evolutivas y serológicas de una serie de 25

enfermos gitanos lúpicos, procedentes del área de Andalucía oriental, y hemos comprobado un inicio más precoz de la enfermedad, menor SLEDAI, una mayor incidencia de síndrome antifosfolípido con complicaciones trombóticas y lívedo reticularis, y menor prevalencia de manifestaciones cutáneas, articulares, renales, gastrointestinales y ocular (328,329), que aunque como ya se ha referido puede tener influencia por la carga genética, lo más probable es que se deba a factores socioeconómicos. Sin embargo, la proximidad a la significación estadística de esta técnica molecular, no influida por factores socioeconómicos (aunque si podría serlo por influencia de estos en el control de la enfermedad), debe hacer pensar en que la carga genética puede influir en este resultado. Esta hipótesis no es sustentada por la publicación de Wang et al (324), donde en un trabajo de radiosensibilidad cromosómica sobre 441 sujetos sanos, no se encuentran diferencias en razón del grupo étnico.

Probablemente un estudio dirigido hacia esta hipótesis, con un mayor tamaño muestral, pueda aclarar este hallazgo próximo a la significación estadística.

2.3. Sexo.

La distribución en cuanto a sexo en pacientes con LES oscila entre el 78% y el 98% de mujeres, según las diferentes series. En nuestros pacientes, el 82% correspondían al sexo femenino. No encontramos diferencias estadísticamente significativas en pacientes con LES al analizar la distribución de las rdc de ADN en función del sexo. En los trabajos previos de radiosensibilidad sobre pacientes con LES no se han analizado estos parámetros, tan sólo fue evaluado por Pinn et al (393) sobre 21 LES, sin

encontrar diferencias estadísticamente significativas ni con las reacciones agudas ni con las tardías, aunque con una tendencia a mayor toxicidad severa en los varones.

El sexo no es un factor definido que influya en la radiosensibilidad clínica de los pacientes con cáncer. Algunas publicaciones han intentado buscar en el género de los pacientes diferencias en cuanto a radiosensibilidad. Estas publicaciones son escasas y contradictorias. Así, en un trabajo de radiosensibilidad cromosómica sobre 441 sujetos sanos, se describe una mayor radiosensibilidad en hombres frente a mujeres (324). Por otro lado, en un trabajo de Mayer et al (330), estudiando la capacidad de reparación de las rdc de ADN en linfocitos, donde se relacionaba una disminución de la capacidad de reparación de rdc de ADN con el aumento de la edad, comprobaron cómo esta disminución fué más pronunciada en mujeres que en varones. En un estudio sobre 62 voluntarios sanos, utilizando una técnica molecular, no se encuentran diferencias entre sexos del mismo grupo etario (315).

2.4. Edad.

La edad de los pacientes es considerada como un factor modificante de la radiosensibilidad, sugiriéndose las edades extremas de la vida como un factor que aumenta el riesgo de sufrir mayores efectos secundarios en tejidos sanos. En los pacientes adultos se han descrito modificaciones en el grado de los efectos secundarios a la RT, aunque los diferentes trabajos toman diferentes objetivos para valorar estas complicaciones. Tomando como objetivo los cambios funcionales, Bentzen et al (312) describieron un aumento

significativo de complicaciones en pacientes mayores de 60 años al someterse a RT postmastectomía. Koga et al (313) describieron un mayor grado de neumonitis postradiación en pacientes mayores de 70 años, muy próximo a significación estadística. Por otro lado, Jensen et al (314) describieron cómo la edad joven (menores de 30 años) era considerado como un factor de riesgo significativo en pacientes con enfermedad de Hodgkin, en el desarrollo de fibrosis pulmonar tras RT.

En nuestro trabajo no hemos encontrado diferencias en pacientes con LES al analizar la distribución de las rdc con la edad, siendo el intervalo de edad entre los 31 y los 40 años el que menos rdc de ADN presentaba. De los trabajos previos realizados sobre pacientes con LES, tan sólo el de Pinn et al (393) analiza este parámetro, no encontrando diferencias ni en el desarrollo de lesiones agudas ni tardías. Es interesante constatar como los dos trabajos in vitro más importantes se realizaron sobre población infantil, adolescente y joven, lo que podría tener influencia en sus resultados con diferencias estadísticamente significativas sobre los controles, de edad algo más elevada (304,305). Recientemente, Gorbunova y Seluanov (331) revisaron la influencia de la edad avanzada sobre las roturas de ADN, considerando el acúmulo de mutaciones somáticas como causa principal de las enfermedades relacionadas con la edad, siendo los reordenamientos genómicos, que surgen de reparaciones aberrantes de roturas de ADN, el componente más característico de los espectros de mutaciones en células y tejidos envejecidos, proponiéndose que el daño en el ADN y el declinar en la reparación del ADN relacionado con la edad, forman un círculo vicioso que conduce a amplificar el daño. De esta forma, Mayer et al (330,332) describieron una menor reparación

por recombinación de rdc de ADN en linfocitos de sujetos sanos sometidos a radiación ionizante en un grupo de mayor edad (rango 66-78 años), frente a otros dos grupos de menor edad (rangos de 23-39 y 42-57 años). Así mismo, en un estudio sobre 62 voluntarios sanos, utilizando una técnica molecular, no se encontraron diferencias entre sexos del mismo grupo etario, pero sí entre el grupo joven (edad media 23, rango 20-29 años) y el adulto (edad media 37, rango 30-48 años) de ambos géneros (315). En cualquier caso, hemos de recordar que nosotros hemos tomado como criterios de exclusión las edades extremas de la vida (menores de 16 años y mayores de 65 años), para evitar que la edad se convirtiera en un sesgo de selección, como puede haber ocurrido en los trabajos comentados.

Hay que aclarar que, en los pacientes ancianos con un estado general aceptable y con intención curativa no debe contraindicarse la RT atendiendo sólo a la edad. Aunque algunos datos biológicos y moleculares indican un aumento de la radiosensibilidad con el aumento de la edad, unido a la reducción de la capacidad de las enzimas reparadoras de ADN, esto aún no está totalmente probado (333).

3. SUBGRUPOS CLÍNICOS.

En nuestro grupo de pacientes, la afectación orgánica más frecuente fué la cutáneo-articular (84,6%), seguida de la hematológica (55,8%). Los subgrupos que mayor número de rdc de ADN alcanzaron fueron los pacientes con afectación neuropsiquiátrica ($1,874 \pm 1,669$), con afectación hematológica ($1,604 \pm 0,972$), y aquellos sin síndrome antifosfolipídico ($1,568 \pm 0,952$). Al comparar la radiosensibilidad según los diferentes subgrupos clínicos del LES,

ningún subgrupo mostró diferencias estadísticamente significativas, aunque quedaba próxima a significación la ausencia de síndrome antifosfolípídico (p 0,071).

La publicación de Pinn et al (393) es la única que analizó el riesgo de radiotoxicidad en pacientes con LES en función de determinados órganos afectados. Analizó tres características clínicas de afectación mucocutánea: rash discoide y aftas orales no presentaban ninguna influencia; sin embargo, la presencia de rash malar se relacionaba de forma estadísticamente significativa con toxicidad tardía severa (p 0,04), quedando próximo a significación con toxicidad aguda de cualquier grado (p 0,09). La ausencia de afectación articular se relacionó de forma estadísticamente significativa con la toxicidad tardía severa. La afectación hematológica no se relacionó de forma significativa con mayor radiotoxicidad, pero existía una evidente tendencia hacia mayor radiotoxicidad aguda severa y tardía de cualquier grado. La afectación renal se relacionó de forma estadísticamente significativa con mayor toxicidad tardía de cualquier grado. La afectación neurológica presentaba una tendencia hacia mayor toxicidad tardía severa, pero de forma no significativa (p 0,062). El subgrupo con serositis no presentaba diferencias. El resto de subgrupos clínicos no fue evaluado.

En el trabajo de Pinn et al (393) vemos que únicamente la toxicidad tardía, y no la aguda, se relacionaba de forma estadísticamente significativa con algún parámetro clínico de LES, pero en nuestro estudio esto no ocurría con ningún subgrupo clínico. Aún así, es de destacar que la afectación orgánica que más severidad y complicaciones origina en los pacientes con LES, como el daño renal, neurológico y hematológico tienden a una mayor

radiotoxicidad, tanto clínica como in vitro. Podría especularse que una mayor lesión orgánica se correlacionaría con una mayor radiosensibilidad, tanto in vivo como in vitro, especialmente en sus manifestaciones tardías.

4. FOTOSENSIBILIDAD.

La fotosensibilidad clínica referida por nuestros enfermos (aumento de sus síntomas claramente relacionada con la exposición solar) fue del 80,8 %, en este subgrupo los pacientes sin fotosensibilidad alcanzaban mayor rdc de ADN ($1,758 \pm 1,530$) frente a los fotosensibles ($1,379 \pm 0,674$), aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas. Tan sólo un trabajo previo ha analizado la relación entre fotosensibilidad y radiosensibilidad en pacientes con LES. Pinn et al (393), sobre 21 LES sometidos a radioterapia, describió una relación estadísticamente significativa entre ausencia de fotosensibilidad y desarrollo de toxicidad tardía severa. Por el contrario, y sin ser estadísticamente significativo, existía una tendencia hacia mayor radiosensibilidad aguda de cualquier grado ($p 0,19$).

Nuestros resultados irían en la misma dirección que los encontrados por Pinn et al en cuanto a toxicidad tardía. Sin embargo, parecería lógico que fotosensibilidad y radiosensibilidad compartieran los mismos mecanismos lesivos moleculares, y por tanto el grado de lesión fuera paralelo entre ambas, es decir, a mayor radiosensibilidad mayor fotosensibilidad. Esto podría ser así como también sugieren los datos de Pinn et al en cuanto a radiotoxicidad aguda, algo lógico por ser la fotosensibilidad también un efecto agudo; la divergencia entre fotosensibilidad (un “efecto agudo”) y radiotoxicidad tardía

tendría sentido si no compartieran los mismos mecanismos moleculares ni titulares de lesión.

La fotosensibilidad es conocida como un hecho clínico relevante en los pacientes con LES. Estudios que compararon la respuesta a la radiación ultravioleta (RUV) sobre cultivos de fibroblastos procedentes de pacientes con lupus cutáneo discoide, subagudo y controles, mostraron un descenso significativo del grado de proliferación de las muestras procedentes de las lesiones cicatriciales cutáneas, frente a las procedentes de donantes sanos y de tejido sin cicatrizar de pacientes con lupus. Las investigaciones de Furukawa et al (334) demostraron, sobre cultivos de queratinocitos, cómo la radiación UVB inducía la unión de anticuerpos anti-Ro, anti-La y anti-RNP sobre los queratinocitos de forma dosis-dependiente, no sucediendo lo mismo con los anti-Sm, ni al someterlos a radiación UVA. La susceptibilidad individual para el desarrollo de la enfermedad fotosensible depende de diferencias genéticas que inciden en estos mecanismos. Se ha sugerido que el genotipo homocigótico nulo GSTM1 puede modificar el efecto de la exposición solar sobre pacientes lúpicos caucasianos, favoreciendo los mecanismos lesivos de la RUV. Así mismo, sobre 29 pacientes, se ha mostrado que de los queratinocitos en cultivo procedentes de diferentes formas de lupus, los subgrupos sistémico y subagudo muestran mayor citotoxicidad in vitro cuando se irradian con RUV, y mayor susceptibilidad a citotoxicidad celular anticuerpo-dependiente si la fuente de anticuerpos es su propio suero o una sonda anti-SSA/RO (frente a otros anticuerpos). Estos fenómenos también han sido observados en modelos murinos (335,336).

Por otro lado, en un estudio de supervivencia clonogénica de Golan et al (337), sobre 20 pacientes con LES y 5 donantes sanos, se comprobó una menor supervivencia y capacidad de reparación del ADN en las muestras de los pacientes con lupus sometidos a altas dosis de UVB, pero no en los controles, ni en los sometidos a UVA. No se encontró correlación con las características clínicas, inmunológicas o terapéuticas de los pacientes con LES.

Rosenstein et al (338) comprobaron cómo en dos de tres pacientes con LES, sometidos a luz ultravioleta, desarrollaban más roturas de cadena simple que tres controles sanos.

Dado que el LES es una enfermedad fotosensible, y como hemos visto se están dilucidando sus mecanismos bioquímicos, sería interesante conocer si fotosensibilidad y radiosensibilidad comparten mecanismos patogénicos comunes, que ayuden a explicar el posible papel de la supuesta radiosensibilidad en el LES, especialmente aquella relacionada con determinadas características clínicas y bioquímicas.

5. ANALÍTICA BÁSICA.

Analizando las variables correspondientes a la analítica básica, los subgrupos que presentaron mayor número de rdc de ADN estadísticamente significativo fueron: la presencia de anemia (p 0,040) y VSG elevada (p 0,042). Quedaron próximos a significación estadística la LDH elevada (p 0,069), la leucopenia (p 0,086) y GPT elevada (p 0,088). Analizando estos mismos datos como variables continuas y aplicando una correlación paramétrica entre los valores de cada parámetro de laboratorio y el número de rdc de ADN, el nivel de hemoglobina persistía con significación estadística (p 0,001), con un

coeficiente de correlación de Pearson de $-0,439$, perdiéndose la significación con el resto de parámetros.

Las publicaciones previas que describen radiosensibilidad en los pacientes con LES no discuten estas alteraciones analíticas como condicionantes de radiosensibilidad.

Aquellos parámetros analíticos sugerentes de una mayor actividad (anemia, leucopenia, VSG elevadas) son precisamente los que mayor rdc presentan.

5.1. Anemia:

La anemia es una situación común en una amplia variedad de cánceres, bien por la propia enfermedad, o secundaria a mielotoxicidad inducida por quimioterapia o RT (339). La hipoxia tumoral se considera un factor de crecimiento tumoral y radio-quimioresistencia, tanto de forma directa como indirecta, al generar angiogénesis, mutaciones genéticas, resistencia a la apoptosis y resistencia a los radicales libres (340,341). Esto es así especialmente en los tejidos tumorales, siendo los tejidos sanos menos sensibles a su efecto, al tener un terreno vascular sano que puede compensar la hipoxia. La anemia, como condicionante de hipoxia, es un factor también relacionado con la radioresistencia, pero con mecanismos menos claros (342).

La radiación provoca una serie de reacciones fisicoquímicas inducidas por la radiolisis de las moléculas de agua, incrementando la formación de radicales libres, que en presencia de oxígeno fijan el daño sobre las células tumorales (343). Inhibe la proliferación celular al acumular células en fase G0 del ciclo celular, e incrementa la inestabilidad del ADN tumoral condicionando

el desarrollo de clones celulares con menor potencial apoptótico y mayor potencial metastático (344,345). Varios estudios han demostrado que las células tumorales pueden desarrollar resistencia a la RT, proliferando bajo condiciones hipóxicas; de esta forma tras la cirugía los enfermos pueden desarrollar bajos niveles de hemoglobina, lo que puede condicionar bajas condiciones de oxigenación tisular. Así, en un estudio sobre 120 pacientes con cancer de cabeza y cuello, se demostró que con bajos niveles de hemoglobina postquirúrgicos empeoraron los resultados beneficiosos de la radioquimioterapia (346). De igual manera, algunos estudios retrospectivos, muestran cómo los pacientes con niveles de hemoglobina normales que reciben RT externa tenían mejor control loco-regional del tumor y una mejor supervivencia global que los pacientes con anemia (347,348). Así, el éxito de la RT puede estar comprometido por la presencia de factores desfavorables tales como la hipoxia tisular y un nivel bajo de hemoglobina (349).

En nuestro estudio, la anemia se asoció de forma significativa a una mayor cantidad rdc de ADN, tanto medida de forma continua como diferenciando entre nivel normal o patológico.

El nivel de hemoglobina ha sido poco estudiado como factor de influencia en los efectos de la RT sobre los tejidos sanos. Al contrario que en nuestros resultados, Dische et al (350) encontraron una correlación estadísticamente significativa entre altas concentraciones de hemoglobina y el riesgo de mielitis postradioterapia, especulando los autores sobre la modificación de las concentración de oxígeno en la médula mediadas por el nivel de hemoglobina como mecanismo etiopatogénico. Igualmente, en un estudio sobre pacientes con cancer de cabeza y cuello, se estudió como factor

pronóstico de reacciones agudas el nivel de hemoglobina, estimándose que un descenso medio de 1 gr/dl predecía una reducción del riesgo de desarrollar lesiones cutáneas grado 2 o 3, o mucosas grado 3, independientemente de la dosis de radiación. En este mismo sentido, pacientes con anemia severa desarrollaron mucositis o dermatitis grado 3 menos a menudo comparado con los que tenían niveles de Hb por encima de 11g, pero estas observaciones no resultaron estadísticamente significativas (351).

Otras publicaciones no han encontrado ninguna relación entre nivel de hemoglobina y radiosensibilidad sobre tejidos sanos. De esta forma, Esco Baron et al (352) analizaron recientemente la posible correlación entre concentraciones de hemoglobina y la aparición de toxicidad aguda inducida por RT, en un estudio prospectivo sobre 86 pacientes, 24 de ellos con anemia, tratados durante 3 meses, y seguidos durante 45 días tras finalizar la RT. No encontraron diferencias significativas entre pacientes con o sin anemia, entre el valor absoluto de hemoglobina y grado de toxicidad, ni entre la concentración de hemoglobina y la aparición o el grado de toxicidad tras RT. Igualmente, Daly et al (353), recogieron 350 pacientes de forma retrospectiva que fueron sometidos a RT, dividiéndolos entre hemoglobina normal y hemoglobina baja, analizando la supervivencia y el desarrollo de mucositis como parámetro de radiotoxicidad aguda. De los 238 pacientes en los que se recogía el valor de hemoglobina, 45 tenían anemia. Encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en cuanto a control loco-regional y supervivencia a favor del grupo con hemoglobina normal. Sin embargo, no hubo diferencias entre ambos grupos en cuanto al desarrollo de toxicidad aguda o tardía.

No hemos encontrado ningún trabajo que correlacione la anemia con mayor radiosensibilidad, salvo en defectos genéticos que per sé condicionan radiosensibilidad incrementada, como en la anemia de Fanconi. Así, Casado et al (354), recientemente han descrito como las células de pacientes con anemia de Fanconi tienen un defecto en los mecanismos de recombinación no homólogos de las rdc de ADN radioinducidas, medido por PFGE, limitando el impacto de este defecto en los organismos irradiados los mecanismos compensadores de reparación del ADN y la regeneración de las células madre.

En este caso la discusión es difícil, ya que el parámetro que mayor radiosensibilidad molecular predice en todo el estudio, está descrito como factor que induce radioresistencia, o en el mejor de los casos sin influencia, pero nunca como inductor de mayor radiosensibilidad. Podría tener sentido si se hubiera demostrado que una mayor actividad de la enfermedad o un tratamiento inmunosupresor más intenso se relacionara con mayor radiosensibilidad, al ser la anemia un factor más de actividad y un efecto secundario de los inmunosupresores. Pero en nuestro trabajo no ocurre esto, aunque es cierto que todos los parámetros que se relacionan con mayor actividad clínica tienden en mayor o menor grado de significación hacia un aumento de las rdc de ADN.

5.5. Leucopenia:

Los pacientes con leucopenia tendieron a presentar una mayor cantidad de rdc de ADN, aunque sin llegar a la significación ($p = 0,086$), No hemos encontrado ninguna referencia que describa la influencia de la leucopenia sobre roturas de cadena de ADN o una mayor radiosensibilidad clínica sobre

los tejidos sanos. No está descrita la leucopenia como factor pronóstico de mayor radiosensibilidad, ni a nivel clínico ni in vitro. Probablemente la leucopenia adquiriría significación con un mayor tamaño muestral, pudiendose comportar como un factor de radiosensibilidad incrementada, explicable quizá si la actividad clínica de la enfermedad se comportara también como un factor de mayor radiosensibilidad.

Tan sólo el trabajo de Pinn et al (393) muestra una tendencia hacia mayor radiosensibilidad aguda severa y tardía de cualquier grado en pacientes con LES relacionada con alteraciones hematológicas, aunque es cierto que sin significación estadística, y consideradas de forma global, sin especificar el grado de anemia, leucopenia o trombopenia que presentaban.

5.3. Parámetros inespecíficos de actividad: VSG, PCR, LDH:

Ciertos parámetros de fase aguda parecen incrementarse tras RT. Así, varios autores (355,356) han encontrado un aumento significativo de PCR y VSG en pacientes tras someterse a RT. Por otro lado, Hildebrandt et al (357), demostraron en ratas con enfermedad artrítica, una disminución significativa tanto de la VSG como de otros parámetros de actividad inflamatoria, tras someterlas a dosis bajas de radiación ionizante.

En nuestros pacientes, la VSG parece comportarse como un factor predictor de mayor radiosensibilidad. Cuando diferenciamos entre VSG normal y patológica, éstas presentan significativamente más rdc de ADN. Sin embargo, no hubo correlación entre la VSG y el número de rdc de ADN ($p = 0,228$).

Por otro lado, tampoco hubo diferencias significativas en cuanto a las rdc de ADN entre pacientes con PCR normal y patológica.

Muy próximo a diferencias estadísticamente significativas queda el tener una LDH patológica (>460), con una p de 0,069, así como su correlación con rdc de ADN (p 0,145, con coeficiente de correlación 0,205). Estos datos, que tampoco han sido analizados previamente como factor de radiosensibilidad, podrían explicarse en el contexto general de las alteraciones inespecíficas de actividad.

Como hemos visto, algunos parámetros inespecíficos de actividad pueden aumentar tras RT, pero es desconocido si estos mismos parámetros se correlacionan con una mayor radiosensibilidad de los tejidos sanos, pudiendo predecir efectos severos a la RT, como parecen indicar nuestros resultados.

6. AUTOANTICUERPOS.

Dividiendo nuestros pacientes con LES en diferentes subgrupos según su título de AAN, y posteriormente según su patrón de fluorescencia, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ellos. Respecto a la determinación de autoanticuerpos contra antígenos extraíbles del núcleo (ENA), los subgrupos con mayor número de rdc de ADN fueron anti-RNP >9 UI/mL, anti-Scl70 >8 UI/mL, anti-Sm >9 UI/mL, y anti-La >8 UI/mL. Los subgrupos con menor número de rdc de ADN fueron los pacientes sin anti-La, así como los pacientes con C4 > 16 mg/dL. Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los subgrupos con anti-La y anti-RNP a título positivo.

Estos parámetros no han sido analizados en ningún trabajo previo de radiosensibilidad en pacientes con LES, excepto en el de Pinn et al (393), donde tan sólo hace referencia a AAN positivos o no, y “alteraciones inmunes”, sin encontrar diferencias con el desarrollo de radiotoxicidad.

No podemos establecer ninguna discusión que trate de justificar estos resultados en lo que respecta a radiosensibilidad, al carecer de publicaciones previas en este sentido. Sin embargo, sí que se ha estudiado la posible relación de estos autoanticuerpos con la fotosensibilidad, una situación clínica común entre pacientes con LES que podría tener mecanismos comunes con la radiosensibilidad.

La fotosensibilidad se ha relacionado con la presencia de autoanticuerpos, especialmente la forma cutánea aguda con la presencia de AAN y anti-ADNn, y la forma subaguda con títulos elevados de AAN y la presencia de anti-Ro, especialmente en el subgrupo anular. El autoanticuerpo que parece jugar un papel más destacado en los mecanismos de fotosensibilidad es el anti-Ro o SSA, y en menor medida anti-La o SSB; sin embargo, algunos estudios no han encontrado dicha relación (335,336).

Así, en un estudio de Chien et al (358) sobre 80 pacientes pediátricos con LES, comprobaron una relación significativa entre los pacientes que presentaban anti-Ro positivo o anti-ADNn con fotosensibilidad, sin encontrar ninguna relación con anti-La. De la misma manera, Mond et al (359) describieron una relación estadísticamente significativa entre la presencia de anti-Ro y la fotosensibilidad en 131 pacientes con LES. Hoffman et al (360), sobre 289 pacientes con LES, de los que el 96,2% tenían AAN positivo,

correlacionaron los autoanticuerpos con los hallazgos clínicos, describiendo una asociación inversa entre fotosensibilidad y anti-ADNn.

En ensayos sobre modelos murinos MRL/lpr se ha comprobado como la traslocación del anticuerpo anti-Ro (SSA) en cultivos de queratinocitos irradiados con UVB es cuantitativamente diferente para inducir fototoxicidad, siendo los niveles significativamente mayores en LES y LCSA que en el lupus discoide y controles normales (336). Aunque determinadas formas de LE cutáneo parecen tener una estrecha relación con los anticuerpos anti-Ro y anti-La, y es probable que bajo determinadas condiciones puedan ser responsables de la lesión tisular, sin embargo, la mera presencia de estos anticuerpos no conduce al desarrollo de la enfermedad. Para la inducción de la enfermedad activa se precisa la posibilidad de que estos anticuerpos se unan con las estructuras antigénicas tisulares correspondientes y desencadenen el mecanismo inmunológico efector. El antígeno Ro presente en el núcleo y el citoplasma sería traslocado a la superficie celular de los queratinocitos cuando son estimulados por la UVB, de esta forma los anti-Ro presentes en el suero pueden inducir las lesiones cutáneas fotosensibles (361).

Investigaciones de Furukawa et al (334) demostraron sobre cultivos de queratinocitos cómo la radiación UVB inducía la unión de anticuerpos anti-Ro, anti-La y anti-RNP sobre los queratinocitos de forma dosis-dependiente, no sucediendo lo mismo con los anti-Sm, ni al someterlos a radiación UVA.

En nuestro trabajo no se relaciona la presencia de anti-Ro con mayor número de rdc de ADN, pero sí la presencia de anti-La y anti-RNP con una teórica mayor radiosensibilidad. Este hallazgo podría estar en relación a mecanismos moleculares efectivos de antigenicidad similares. De esta forma

habría que valorar en trabajos más amplios, si la presencia de estos autoanticuerpos, especialmente en las formas asociadas a LCSA, podrían relacionarse con una mayor radiosensibilidad clínica.

7. ÍNDICES DE ACTIVIDAD.

Una de las principales características del LES, es su evolución en brotes con periodos de actividad y otros de inactividad. Se entiende por brote o exarcebación del LES como la presencia de manifestaciones clínicas o biológicas que indiquen la afección por esta enfermedad de un órgano o aparato previamente sano, ó bien el empeoramiento de una sintomatología ya presente con anterioridad, y pueden cuantificarse mediante la utilización de índices de actividad, como el SLEDAI (67).

En nuestros pacientes, al analizar criterios de actividad, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre presencia de brote clínico y número de rdc de ADN, ni correlación del SLEDAI con rdc de ADN.

Algunos autores (193) se han planteado si es posible que pacientes con LES activo podrían ser más sensibles a los efectos secundarios de la RT, mientras aquéllos con enfermedad quiescente o controlada no lo sean. Hasta la fecha no se ha documentado ninguna evaluación de la actividad medida con criterios internacionales de enfermos con respecto a su posible radiosensibilidad.

Desde un punto de vista clínico, y en un intento de acercamiento a este problema, se ha tomado como marcador de actividad el diagnóstico previo de LES, u otras enfermedades del tejido conectivo, respecto al momento de la RT, sugiriendo que el diagnóstico previo se relacionaría con una mayor

radiotoxicidad. Esta circunstancia ha sido descrita por algunos autores (195,190,196,189). Sin embargo, Ross et al (188) no apoyaron esta idea; sobre diferentes enfermedades del tejido conectivo, describieron como sus enfermos con diagnóstico previo a la RT desarrollaron menos complicaciones que cuando la EAS se diagnosticó tras la RT. Otros autores han encontrado resultados similares. (188,198). Pero es más, se han descrito pacientes que desarrollan LES entre dos cursos de RT, tolerando bien todas las tandas (188). Morris et al (208) no encontraron relación con ciertos parámetros inmunológicos (no descritos), VSG, o tiempo de inicio de la enfermedad del tejido conectivo (incluido el LES).

En el único trabajo realizado in vitro que estudia la posible influencia de la actividad del LES sobre la radiosensibilidad, Cossu et al (304) describieron cómo, sobre 8 pacientes con LES en fase activa y posterior remisión tras tratamiento con ciclosporina y fluocortisona, y cinco controles, los pacientes en fase activa mostraron un aumento de sensibilidad significativa de los linfocitos totales así como de varias subpoblaciones frente a fase inactiva y a controles. Sin embargo no especificaron cómo se midió la actividad, y esta descripción se basa en un estudio longitudinal sobre los mismos pacientes en diferentes estadios de su enfermedad, con un tamaño muestral pequeño y dividido en varios subgrupos, frente al nuestro que es transversal.

En una aproximación diferente al intento de buscar la influencia de la actividad del LES sobre la radiotoxicidad, Pinn et al (393) analizan el número de criterios de la ARA para el diagnóstico de LES, sin encontrar relación significativa entre el número de criterios y la toxicidad aguda o tardía. Sin embargo, y aunque sin significación estadística, encuentran relación entre

presentar más de 5 criterios de la ARA y la radiotoxicidad tardía en cualquier grado ($p < 0,053$). Nosotros también hemos analizado este aspecto y no hemos encontrado ninguna correlación entre radiosensibilidad in vitro y número de criterios de la ACR.

La posible influencia de la actividad inflamatoria, a través de fenómenos apoptóticos, de liberación de interleucinas u otros factores humorales o celulares inflamatorios, sobre los mecanismos de daño inicial y reparación de ADN aún están por definir en su totalidad. Quizá ampliando el tamaño muestral se compruebe cómo la actividad clínica o los parámetros de laboratorio relacionados con ella alcancen significación. Esta circunstancia daría mayor coherencia a los resultados de este trabajo, permitiendo relacionar la mayor radiosensibilidad de los pacientes con anemia, con una mayor actividad de la enfermedad.

8. ÍNDICES DE CRONICIDAD.

Cuando los diferentes periodos de exacerbación condicionan un daño orgánico irreversible, por pasar de un fenómeno inflamatorio a un fenómeno esclerótico, hablamos de daño lúpico crónico, para el que también se han establecido escalas de medida como el SLICC (71,72).

Al analizar criterios de cronicidad, no se encontraron diferencias estadísticas entre años de evolución, número de órganos afectados y puntuación en el SLICC, respecto al número de rdc de ADN. Ningún trabajo previo ha valorado esta relación, ni a nivel clínico ni a nivel in vitro, por lo que la discusión no puede realizarse adecuadamente. Quizá el hecho de que con la

evolución la enfermedad tiende a ser menos activa, podría explicar la ausencia de mayor radiosensibilidad.

Una circunstancia a tener en cuenta al analizar la posible influencia de la cronicidad de la enfermedad sobre el daño radioinducido tardío, es que ambas pueden causar lesiones sobre las mismas estructuras, como los fibroblastos y los vasos sanguíneos, sumándose ambos mecanismos en las manifestaciones clínicas o simulando uno el efecto del otro.

9. TRATAMIENTO.

Al considerar el tratamiento que recibían los enfermos en el momento del test predictivo de radiosensibilidad, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas.

Al analizar estos mismos datos por tratamiento acumulado (es decir, que en algún momento de la evolución de su enfermedad hubieran recibido determinado fármaco, independiente de cuanto tiempo hiciera) tampoco se encontró ninguna diferencia estadísticamente significativa. Al analizar las dosis acumuladas ninguna correlación resultó significativa.

Al analizar el tratamiento actual con cualquier fármaco no inmunosupresor en ningún caso se establecieron diferencias estadísticamente significativas.

La correlación entre el tratamiento inmunosupresor y la radiosensibilidad sí ha sido investigada en pacientes con LES, tanto en trabajos in vivo como in vitro.

En publicaciones de casos aislados se han descrito efectos severos tras RT asociada a quimioterapia en pacientes con lupus discoide de tipo agudo y

tardío (196) o esclerosis sistémica en forma de fibrosis pulmonar limitada (198). En la revisión de Morris et al (189) no encontraron asociación entre la quimioterapia y los efectos tardíos; sin embargo, el uso de AINE, corticoides, cloroquina, oro o metotrexate se relacionó con una menor incidencia de reacciones tardías severas, pero de forma no significativa, sin modificación de las reacciones agudas severas.

McCurdy et al (305) estudiaron la respuesta de linfocitos a la radiación ionizante en 24 LES, todos ellos con enfermedad bajo control, 23 con dosis bajas de esteroides y 10 con pulsos mensuales de ciclofosfamida por nefritis lúpica, sin encontrar influencia de estos tratamientos en el test predictivo de radiosensibilidad.

Arsuto et al (363) observaron la inducción de roturas simples de cadena de ADN con benoxaprofen, naproxen, ketoprofen y diflunisal, pero no con sulindac o indometacina.

Los inhibidores de la COX-1 y la COX-2 se han sugerido en algunos estudios como preventivos del cáncer, mostrando algunos estudios experimentales su actividad antitumoral. Así, se ha demostrado cómo la indometacina incrementa la eficacia antitumoral de la radiación ionizante (364), como también se ha descrito con el ibuprofeno (365).

Los inhibidores específicos de la COX-2 son unos AINEs con conocido efecto incrementador de la respuesta a la radiación en humanos y en modelos murinos, tanto in vitro como in vivo, sobre células cancerosas. El efecto radiosensibilizante de los inhibidores de la COX-2 no es eliminado al añadir PGE, demostrándose que incrementan el porcentaje de células en fase G2-M (366). Crockat et al (367) describieron que el incremento de radiosensibilidad

determinado por cuatro AINE (diclofenaco, indometacina, piroxicam y NS-398) puede explicarse a través del incremento de la oxigenación tumoral, siendo fundamentalmente mediado a nivel mitocondrial, al inhibir su respiración. Los AINES inhiben la activación de NF-kappaB radioinducida, que protege contra la citotoxicidad que genera la radiación ionizante (368,369).

Es conocido el mecanismo de acción de muchos fármacos antirreumáticos a través del ADN. De esta forma se ha descrito, por ejemplo, como las sales de oro pueden formar complejos con el ADN y provocar roturas simples de cadena de ADN (370). Reitz et al (371) investigaron en 28 pacientes reumáticos, tras tratamiento prolongado con AINES, D-penicilamina, auranofin y cloroquina, la proporción de roturas simples de cadena (rsc) de ADN en linfocitos de sangre periférica, tras dosis de radiación de hasta 5 Gy. Fueron comparados con 21 controles sanos sin medicación. La indometacina, diclofenaco, D-penicilamina, auranofin y cloroquina desarrollaron la formación de rsc de ADN. El mayor rango de rsc fue visto tras tratamiento con los AINES indometacina y diclofenaco, así como con la asociación de AINES con auranofin. En la asociación de AINES con D-penicilamina el rango de rsc fue menor que con otras formas de tratamiento.

Se sabe que los **antipalúdicos** depositados en la piel, bien en forma tópica o tras administración oral, poseen la capacidad de absorber la luz ultravioleta, mostrando un significativo efecto fotoprotector. Sin embargo, Zhao et al (372) han descrito la cloroquina como un posible agente sensibilizador a la radiación ionizante, sugiriendo la idea de que el mecanismo de acción sería a través de una apoptosis radiomediada junto a necrosis mediada por la cloroquina. Ya hace tres décadas se describió por Utley et al (373) una

radiosensibilidad incrementada por cloroquina, siendo las reacciones agudas severas mayores en ratas a las que se administró cloroquina que sin ella. Así mismo, Michael et al (374) describieron cómo la cloroquina inhibía en células de mamíferos la reparación del ADN.

Los **corticoides**, en relación con modelos neoplásicos, también han sido descritos como inductores de fragmentación del ADN (375,376). La dexametasona es el más estudiado de estos fármacos, sugiriendo recientemente Nam et al (377) que el daño celular estaría mediado por la supresión de la actividad NF-kappaB, una molécula radioinducida que genera protección celular. Sin embargo, la dexametasona también ha sido descrita como inductor de radioresistencia en algunas líneas celulares de carcinomas (378).

El **metotrexato** también ha sido relacionado con la inducción de roturas simples y dobles (379) de cadena de ADN, sobre células procedentes de cáncer, así como con defectos en su reparación (380).

La **ciclofosfamida** es capaz de inducir roturas simples de cadena de ADN in vitro en humanos (381) y en animales (382), sobre células cancerosas. Vaghef et al describieron lesiones significativas en el ADN de linfocitos, medidas mediante el comet alcalino en base a roturas simples de ADN, tanto en humanos (383), junto a otros antineoplásicos, como en ratones (384), al igual que han descrito otros autores (385,386).

Otros fármacos que han demostrado aumentar el número de fracturas de cadena simple han sido el Isoflorano (387), la D-penicilamina o la bucilamina (388), o el metronidazol (325).

Pese a que en la mayoría de las descripciones clínicas de pacientes con LES sometidos a RT no parece que los fármacos que utilizan estos pacientes influyan en una mayor incidencia de efectos indeseables radioinducidos, como demuestran Hölscher et al (392) o Pinn et al (393) entre otros muchos, los datos procedentes de ensayos in vitro orientan hacia una mayor lesión sobre el ADN, en general medido como rsc de ADN. Los fármacos que se han relacionado con fracturas de ADN han sido algunos AINEs, algunos corticoides, la cloroquina, el metotrexato y la ciclofosfamida.

En nuestros resultados, al analizar cada fármaco de forma independiente, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, aunque siempre con una tendencia hacia el mayor número de rdc de ADN cuando el paciente se trataba con estos fármacos. Estos datos quedan limitados por partir de un tamaño muestral bajo para cada uno de estos fármacos. Valorar la influencia de estos fármacos en la radiosensibilidad es complejo, ya que se suelen administrar en combinación con otros fármacos, se suelen dar en situaciones clínicas de mayor actividad, con parámetros clínico y biológicos diferentes.

Los radiooncólogos necesitan conocer qué factores genéticos y epigenéticos pueden influir en la radiotolerancia de los tejidos sanos, y estas circunstancias aún no están totalmente aclaradas. Así, en un cuestionario publicado en 1998 sobre la opinión de los radiooncólogos acerca de la influencia de determinados factores en la respuesta de los tejidos normales a la radiación, se consideraba a las enfermedades con micro o macroangiopatía y a las enfermedades del colágeno y autoinmunes como los factores endógenos más influyentes, y en general cualquier proceso inflamatorio, tanto a nivel de reacciones agudas como tardías (389). En una publicación en la que se entrevistaban a radiooncólogos australianos se constataba una importante variabilidad en la percepción de qué factores influyen en la radiotolerancia de los tejidos sanos (390). Sobre 3489 pacientes con cáncer de vejiga sometidos a RT, se estudiaron qué factores ambientales influían en una mayor radiosensibilidad y toxicidad sobre los tejidos sanos, así encontraron que un tabaquismo importante, la raza y el sexo femenino (en diferentes grados para cada complicación) son los factores que mayores complicaciones sobre los tejidos sanos determinaban (391).

En resumen, en nuestro trabajo, el más amplio por tamaño muestral y exhaustivo por la amplia variedad de datos clínicos y biológicos recogidos realizado hasta la fecha en pacientes con LES, no encontramos diferencias estadísticamente significativas de radiosensibilidad en pacientes con LES frente a LC y frente a controles. Los datos sugieren que los pacientes con actividad clínica serían los más radiosensibles, aunque la valoración del SLEDAI o “brote clínico” no presentan resultados estadísticamente

significativos, el hecho de que los pacientes con anemia y VSG mayor de 30 sí presenten más rdc de ADN de forma significativa, apoyan esta hipótesis. Además, el hecho de que los pacientes más radiosensibles sean aquellos con anticuerpos anti-RNP y anti-La, podría implicar una hipótesis etiopatogénica basada en una mayor citotoxicidad a la radiación ionizante mediada por interacción con estos autoanticuerpos, como ocurre en los fenómenos de fotosensibilidad.

Nuestros resultados, obtenidos a partir de un ensayo predictivo de radiosensibilidad, y aunque sólo suponen una aproximación parcial a un problema complejo, sugieren que tratar a los enfermos con LES en su conjunto mediante RT no puede ser considerado como una contraindicación relativa ni absoluta. Esto permitiría un tratamiento más óptimo y menos radical, como por ejemplo sucede en las pacientes con cáncer de mama que en ocasiones se han sometido a tratamiento radical quirúrgico sin ofrecer la oportunidad de beneficiarse de un tratamiento conservador (208). Esta conclusión debe ser tomada con precaución, ya que los mecanismos moleculares que subyacen de la radiosensibilidad aún están por definir con precisión, pero con las técnicas disponibles en la actualidad, debe ser puesto en cuestión la idea de que el LES sea una contraindicación relativa para la administración de RT.

En cualquier caso, debe seguir siendo investigada esta cuestión, y el desarrollo de nuevos trabajos con tamaños muestrales más amplios probablemente aclaren las incógnitas aquí surgidas. No sólo se trataría de aclarar si los pacientes con LES en su conjunto son más radiosensibles, sino

también qué parámetros clínicos de estos enfermos pueden influir en una peor radiotolerancia.

CAPÍTULO X

CONCLUSIONES

1. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a radiosensibilidad molecular, entre los pacientes con lupus eritematoso sistémico y el grupo control sano, determinado mediante el número inicial de rupturas dobles de cadena de ADN por Gy de dosis y por unidad de ADN, utilizando la técnica de electroforesis de campo pulsado.
2. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a radiosensibilidad molecular, entre los pacientes con lupus eritematoso sistémico y lupus cutáneo.
3. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto a radiosensibilidad molecular, con el grado de actividad, medido como SLEDAI, ni con el grado de daño acumulado, medido como SLICC.
4. En los pacientes con lupus eritematoso sistémico, al valorar los diferentes parámetros clínicos y biológicos, se encontró una mayor radiosensibilidad molecular, estadísticamente significativa, determinada por un mayor número de rupturas dobles de cadena de ADN por Gy de dosis y por unidad de ADN en las siguientes situaciones:
 - La presencia de anemia y bajo nivel de hemoglobina.

- VSG elevada > 30.
- Presencia de anticuerpos anti-RNP y anti-La a títulos elevados.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 001.- Reveille JD, Moulds JM, Ahn C, et al. Systemic lupus erythematosus in three ethnic groups: I. The effects of HLA class II, C4, and CR1 alleles, socioeconomic factors, and ethnicity at disease onset. *Arthritis Rheum.* 1998; 41:1161-1172.
- 002.- D'Cruz DP, Khamashta MA, Hughes GR. Systemic lupus erythematosus. *Lancet.* 2007;369:587-596.
- 003.- Jiménez-Alonso J, López de la Osa, Sabio M, et al. "Grupo Lupus Virgen de las Nieves". *Lupus Eritematoso Sistémico: Avances recientes. An Med Intern.* 1999; 16: 25-28.
- 004.- 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.
- 005.- Hocherg MC. Updaying the American College of Rheumtology revised criteria for the classications of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997;40:1725.
- 006.- Mills JA. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 1994;330: 1871-1879.

- 007.- Klipel JH. Systemic lupus erythematosus. Demographics, prognosis and outcome. *J Rheumatol.* 1997; 24 (suppl 48): 67-71.
- 008.- McCarty DS, Manzi S, Medsger TA et al. Incidence of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1995; 38: 1260-1270.
- 009.- Font J, Cervera R. 1982 revised criteria for classification of systemic lupus erythematosus – Ten year later. *Lupus.* 1993;2:339-341.
- 010.- Mok CC, Lau CS. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J Clin Pathol.* 2003;56:481-490.
- 011.- Block,SR, Winfield JB, Lockshin MD, et al. Twin studies in systemic lupus erythematosus. A review of the literature and presentation of 12 additional sets. *Am J Med.* 1975; 59:533.
- 012.- Deapen D, Escalante A, Weinrib L, et al. A revised estimate of twin concordance in SLE: A survey of 138 pairs. *Arthritis Rheum.* 1992; 35:311.
- 013.- Murashima A, Fukazawa T, Hirashima M, et al. Long term prognosis of children born to lupus patients. *Ann Rheum Dis.* 2004; 63:50.
- 014.- Nath SK, Kilpatrick J, Harley JB. Genetics of human systemic lupus erythematosus: the emerging picture. *Curr Opin Immunol.*2004;16:794-800.
- 015.- Tsao BP. Update on human systemic lupus erythematosus genetics. *Curr Opin Rheumatol.* 2004; 16:513.
- 016.- Morel J, Simoes Cda S, Avinens O, et al. Polymorphism of HLA-DMA and DMB alleles in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2003;30:1485-1490.
- 017.- Fraser PA, Ding WZ, Mohseni M, et al. Glutathione S-transferase M null homozygosity and risk of systemic lupus erythematosus associated with

sun exposure: a possible gene-environment interaction for autoimmunity. *J Rheumatol.* 2003; 30:276.

018.- Kyogoku C, Tsuchiya N, Wu H, et al. Association of Fcγ receptor IIA, but not IIB and IIIA, polymorphisms with systemic lupus erythematosus: a family-based association study in Caucasians. *Arthritis Rheum.* 2004; 50:671.

019.- Illei GG, Tackey E, Lapteva L, et al. Biomarkers in systemic lupus erythematosus. I. General overview of biomarkers and their applicability. *Arthritis Rheum.* 2004; 50:1709.

020.- Velthuis PJ, Van Weeden H, Van Wichen D, et al. Immunohistopathology of light-induced skin lesions in lupus erythematosus. *Acta Derm Venereol.* 1990;70:93-98.

021.- Norris DA. Pathomechanisms of photosensitive lupus erythematosus. *J Invest Dermatol.* 1993;100:58S-68S.

022.- Golan TD, Elkon KG, Gharavi AE, et al. Enhanced membrane binding of autoantibodies to culture keratinocytes of systemic lupus erythematosus patients after ultraviolet B / ultraviolet A irradiation. *J Clin Invest.* 1992;90:1067-1076.

023.- Foltyn VN, Golan TD. In vitro ultraviolet irradiation induces pro-inflammatory responses in cells from pre-morbid SLE mice. *Lupus.* 2001;10:272-283.

024.- Lee LA, Farris AD. Photosensitivity diseases: cutaneous lupus erythematosus. *J Investig Dermatol Symp Proc.* 1999;473-478.

025.- Furukawa F. Antinuclear antibody-keratinocyte interactions in photosensitive cutaneous lupus erythematosus. *Histol Histopathol.* 1999;14:627-633.

026.- Cooper GS, Dooley MA, Treadwell EL, et al. Hormonal, environmental, and infectious risk factors for developing systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1998;41:1714-1724.

027.- Moon UY, Park SJ et al. Patients with systemic lupus erythematosus have abnormally elevated Epstein-Barr virus load in blood. *Arthritis Res Ther.* 2004; 6:R295.

028.- Naito T, Ogasawara H, Kaneko H, et al. Immune abnormalities induced by human endogenous retroviral peptides: with reference to the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J Clin Immunol.* 2003;23:371-376.

029.- Costenbader KH, Kim DJ, Peerzada J, et al. Cigarette smoking and the risk of systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Arthritis Rheum.* 2004; 50:849.

030.- Jiménez-Alonso J, Sabio JM, Pérez-Alvarez F, et al. Hair dye treatment use and clinical course in patients with systemic lupus erythematosus and cutaneous lupus. *Lupus.* 2002;11:430-434.

031.- Jimenez-Alonso J, Jimenez-Jaimez J, Almazan MV. Pollen allergies in patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2004;31:1873.

032.- Szyper-Kravitz M, Zandman-Goddard G, Lahita RG, et al. The neuroendocrine-immune interactions in systemic lupus erythematosus: a basis for understanding disease pathogenesis and complexity. *Rheum Dis Clin North Am.* 2005;31:161-175.

- 033.- Seawell AH, Danoff-Burg S. Psychosocial research on systemic lupus erythematosus: a literature review. *Lupus*. 2004;13:891-899.
- 034.- Peralta I, Morente G, López de la Osa A, et al. Correlation between daily stress and clinical symptoms informed by the patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Lupus*. 2001;10(Suppl 1):S106.
- 035.- Peralta-Ramirez MI, Jimenez-Alonso J, Godoy-Garcia JF, et al. The effects of daily stress and stressful life events on the clinical symptomatology of patients with lupus erythematosus. *Psychosom Med*. 2004;66:788-794.
- 036.- McMurray RW, May W. Sex hormones and systemic lupus erythematosus: review and meta-analysis. *Arthritis Rheum*. 2003;48:2100-2110.
- 037.- Cooper GS, Mooley MA, Treadwell AL, et al. Hormonal and reproductive risk for development of systemic lupus erythematosus: results of a population-base, case-control study. *Arthritis Rheum*. 2002;46:1830-1839.
- 038.- Jacobi AM, Rohde W, Volk HD, et al. Prolactin enhances the in vitro production of IgG in peripheral blood mononuclear cells from patients with systemic lupus erythematosus but not from healthy controls. *Ann Rheum Dis*. 2001;60:242-247.
- 039.- Peeva E, Michael D, Cleary J, et al. Prolactin modulates the naive B cell repertoire. *J Clin Invest*. 2003;111:275-283.
- 040.- Jacobi AM, Rohde W, Ventz M, et al. Enhanced serum prolactin (PRL) in patients with systemic lupus erythematosus: PRL levels are related to the disease activity. *Lupus*. 2001;10:554-561.

- 041.- Vera-Lastra O, Mendez C, Jara LJ, et al. Correlation of prolactin serum concentrations with clinical activity and remission in patients with systemic lupus erythematosus. Effect of conventional treatment. *J Rheumatol.* 2003;30:2140-2146.
- 042.- Rampone A, Rampone B, Tirabasso S, et al. Contraception with the latest estroprogestagens in women suffering from systemic lupus erythematosus. *Minerva Ginecol.* 2001;53(Suppl 1):75-77.
- 043.- Mok CC, Lau CS, Wong RW. Use of exogenous estrogens in systemic lupus erythematosus. *Semin Arthritis Rheum.* 2001;30:426-435.
- 044.- Askanase AD. Estrogen therapy in systemic lupus erythematosus. *Treat Endocrinol.* 2004;3:19-26.
- 045.- Looney RJ, Anolik J, Sanz I. B lymphocytes in systemic lupus erythematosus: lessons from therapy targeting B cells. *Lupus.* 2004;13:381-390.
- 046.- Kaplan MJ. Apoptosis in systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol.* 2004;112:210-218.
- 047.- Mageed RA, Prud'homme GJ. Immunopathology and the gene therapy of lupus. *Gene Ther.* 2003;10:861-874.
- 048.- Lauwerys BR, Houssiau FA.. Cytokines: clues to the pathogenesis of SLE. *Lupus.* 1998;7:211-213.
- 049.- Walport MJ. Complement. First of two parts. *N Engl J Med.* 2001;344:1058-1066.
- 050.- Walport MJ. Complement. Second of two parts. *N Engl J Med.* 2001;344:1140-1144.

- 051.- Molina H. Update on complement in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol*. 2002 Sep;14:492-497.
- 052.- Cervera R, Khamashta M, Font J et al. Systemic lupus erithematosus: clinical and inmunologic patterns of disease expression in a cohort of 1000 patients. *Medicine (Baltimore)*. 1993;72:113-129.
- 053.- Font J, Cervera R, Ramos-Casals M, et al. Clusters of clinical and immunologic features in systemic lupus erythematosus: analysis of 600 patients from a single center. *Semin Arthritis Rheum*. 2004;33:217-230.
- 054.- Frances C. Dermatologic manifestations of lupus. *Rev Prat*. 1998; 48: 615-619.
- 055.- Cervera R, Khamashta MA, Font J, et al. European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus. Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period: a comparison of early and late manifestations in a cohort of 1,000 patients. *Medicine (Baltimore)*. 2003;82:299-308.
- 056.- Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15:241-250.
- 057.- Brey RL, Holliday SL, Saklad AR, et al. Neuropsychiatric syndromes in lupus: prevalence using standardized definitions. *Neurology*. 2002;58:1214-1220.
- 058.- Moder KG, Miller TD, Tazelaar HD. Cardiac involvement in systemic lupus erythematosus. *Mayo Clin Proc*. 1999;74:275-284.
- 059.- Amigo MC, Khamashta MA, Hughes GR. Antiphospholipid syndrome in SLE. *Baillieres Clin Rheumatol*. 1998; 12: 477-493.

- 060.- Murin S, Wiedemann HP, Matthay RA. Pulmonary manifestations of systemic lupus erythematosus. *Clin Chest Med.* 1998;19:641-665.
- 061.- Bailey M, Chapin W, Licht H, et al. The effects of vasculitis on the gastrointestinal tract and liver. *Gastroenterol Clin North Am.* 1998;27:747-782.
- 062.- Evans J. Antinuclear antibody testing in systemic autoimmune disease. *Clin Chest Med.* 1998;19:613-625.
- 064.- Blatt NB; Glick GB. Anti-DNA autoantibodies and systemic lupus erythematosus. *Pharmacol Ther.* 1999;83:125-139.
- 065.- Cervera R, Viñas O, Ramos-casals M, et al. Anti-chromatin antibodies in systemic lupus erythematosus: a useful marker for lupus nephropathy. *Ann Rheum Dis.* 2003;62:431-434.
- 066.- Mirzayan MJ, Schmidt RE, Witte T. Prognostic parameters for flare in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology.* 2000;39:1316-1319.
- 067.- Bombardier C, Glandman DD, Urowitz MB, et al. The Committee on Prognosis Studies in SLE. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. *Arthritis Rheum.* 1992;35:630-640.
- 068.- Vitali C, Bencivelli W, Isenberg DA, et al. Disease in systemic lupus erythematosus: report of the consensus study group of the European workshop on the rheumatology research. II. Identification of the variables indicative of disease activity and their use in the development of an activity score. The European Consensus Group for Disease Activity Criteria in Systemic Lupus Erythematosus. *Clin Exp Rheumatol.* 1992;10:541-547.
- 069.- Bencivelli W, Vitali C, Isenberg DA, et al. European Consensus Study Group for Disease Activity in SLE. Disease in systemic lupus

erythematosus: report of the consensus study group of the european workshop on the rheumatology research. III. Development of a computerised clinical chart and its application to the comparison of different indices of disease activity. Q J Med. 1993;86:447-458.

070.- Liang MH, Socher SA, Larson MG, et al. Reliability and validity of six system for the clinical assessment of disease activity in systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. 1989;32:1107-1118.

071.- Gladman DD, Ginzler E, Goldsmith C, et al. The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index for systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum. 1996;39:363-369.

072.- Gladman DD, Urowitz MB. The SLICC/ACR damage index: progress report and experience in the field. Lupus. 1999;8:632-639.

073.- Jiménez-Alonso J. Actualidad de los marcadores de actividad biológica en lupus eritematoso sistémico. La actualidad en Medicina Interna. Arán ediciones. Madrid. 2002; pag 59-60.

074.- Asherson RA, Cervera R, Lahita RG. Latent, incomplete or lupus all?. J Rheumatol. 1991;18:1783-1786.

075.- Jiménez-Alonso J. Tratamiento del lupus eritematosos sitémico. Lupus España. 1997; 195: 367-372.

076.- Tench CM, McCarthy J, McCurdie I, et al. Fatigue in systemic lupus erythematosus: a randomized controlled trial of exercise. Rheumatology (Oxford). 2003; 42:1050.

077.- Ghaussy NO, Sibbitt W Jr, Bankhurst AD, et al. Cigarette smoking and disease activity in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2003; 30:1215.

078.- Benedek T. Treatment of systemic lupus erythematosus: From cold-liver oil to cyclosporin. *Lancet.* 1998; 352: 901-902..

079.- Jiménez-Alonso J, Sabio JM et Medialdea S. Antipalúdicos en el tratamiento del lupus eritematoso. En *Lupus Eritematoso Sistémico.* Editado por J. Font, M Khamashta y M Vilardell. Mra ediciones Barcelona, 2002, pag 629-642.

080.- Canadian hydroxychloroquine study group. A long term study of hydroxychloroquine withdrawal on exacerbations in systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 1998; 7: 80-85.

081.- Jiménez-Alonso J, Tercedor J, Jáimez L, et al. Antimalarial drug-induced aquagenic-type pruritus in patients with lupus. *Arthritis & Rheum.* 1998; 41: 744-745.

082.- Jiménez-Alonso J, Reche I, Tercedor J. Antimalarial drugs and pruritus in patients with lupus erythematosus . *Acta Derm Venereol.* 2000;80:458 .

083.- Jimenez-Alonso J, Sabio JM, Carrillo-Alascio PL, et al. Intolerance to hydroxychloroquine marketed in Spain (Dolquine) in patients with autoimmune conditions. *Rev Clin Esp.* 2004;204:588-591.

084.- Gansauge S, Breitbart A, Rinaldi N, et al. Methotrexate in patients with moderate systemic lupus erythematosus (exclusion of renal and central nervous system disease). *Ann Rheum Dis.* 1997; 56: 382-385.

- 085.- Schanabel A, Reuter M, Gross WL. Intravenous pulse cyclophosphamide in the treatment of interstitial lung disease due to collagen vascular diseases. *Arthritis Rheum.* 1999;41:1215-1220.
- 086.- Houssiau FA, Vasconcelos C, D'Cruz D, et al. Immunosuppressive therapy in lupus nephritis: the Euro-Lupus Nephritis Trial, a randomized trial of low-dose versus high-dose intravenous cyclophosphamide. *Arthritis Rheum.* 2002;46:2121-2131.
- 087.- Houssiau FA. Management of lupus nephritis: an update. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:2694-2674.
- 088.- Chan TM. Preventing renal failure in patients with severe lupus nephritis. *Kidney Int Suppl.* 2005;94:S116-119.
- 089.- Abu-Shakra M, Shoenfeld Y. Azathioprine therapy for patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2001;10:152-153.
- 090.- Dostál C, Tesar V, Rychlik I, et al. Effect of 1 year cyclosporine A treatment on the activity and renal involvement of systemic lupus erythematosus: A pilot study. *Lupus.* 1998;7:29-36.
- 091.- Bijl M, Horst G, Bootsma H, et al. Mycophenolate mofetil prevents a clinical relapse in patients with systemic lupus erythematosus at risk. *Ann Rheum Dis.* 2003;62:534-539.
- 092.- Contreras G, Pardo V, Leclercq B, et al. Sequential therapies for proliferative lupus nephritis. *N Eng J Med.* 2004;350:971-980.
- 093.- Rauova I, Lukac J, Levy Y, et al. High-dose intravenous immunoglobulins for lupus nephritis: a salvage immunomodulation. *Lupus.* 2001;10:209-213.

- 094.- Goldblatt F, Isenberg DA. New therapies for systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol.* 2005;140:205-212.
- 095.- Ouarzane M, Zouali M. Novel opportunities for therapeutic targeting in systemic autoimmune diseases. *Methods Mol Biol.* 2007;361:285-297.
- 096.- Looney RJ, Anolik J, Sanz I. New therapies for systemic lupus erythematosus: cellular targets. *Rheum Dis Clin North Am.* 2006;32:201-215.
- 097.- Dooley MA, Ginzler EM. Newer therapeutic approaches for systemic lupus erythematosus: immunosuppressive agents. *Rheum Dis Clin North Am.* 2006;32:91-102.
- 098.- Wallace DJ, Tumlin JA. LJP 394 (abetimus sodium, Riquent) in the management of systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2004;13:323.
- 099.- Llorente L, Richaud-Patin Y, Garcia-Padilla C, et al. Clinical and biologic effects of anti-interleukin-10 monoclonal antibody administration in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2000; 43:1790-1800.
- 100.- Looney RJ, Anolik JH, Campbell D, et al. B cell depletion as a novel treatment for systemic lupus erythematosus: a phase I/II dose-escalation trial of rituximab. *Arthritis Rheum.* 2004; 50:2580.
- 101.- Looney RJ, Anolik J, Sanz I. Treatment of SLE with anti-CD20 monoclonal antibody. *Curr Dir Autoimmun.* 2005;8:193-205.
- 102.- Petri M, Lahita RG, van Vollenhoven RF, et al. Effects of prasterone on corticosteroid requirements of women with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2002;46:1820-1829.
- 103.- Remer CF, Weisman MH, Wallace DJ. Benefits of leflunomide in systemic lupus erythematosus: a pilot observational study. *Lupus.* 2001;10: 480-483.

- 104.- Petri MA, Mease PJ, Merrill JT, et al. Effects of prasterone on disease activity and symptoms in women with active systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2004; 50:2858.
- 105.- Schroeder JO, Zeuner RA, Euler HH, et al. High dose intravenous immunoglobulins in SLE: Clinical and serologic results of a pilot study. *J Rheumatol.* 1996;23:71.
- 106.- McMurray RW. Bromocriptine in rheumatic and autoimmune diseases. *Semin Arthritis Rheum.* 2001;31:21-32.
- 107.- Kelsoe G. Therapeutic CD154 antibody for lupus: promise for the future? *J Clin Invest.* 2003;112:1480-1482.
- 108.- Lachmann PJ. Lupus and desoxyribonuclease. *Lupus.* 2003;12:202-206.
- 109.- Van Laar JM, Tyndall A. Intense immunosuppression and stem-cell transplantation for patients with severe rheumatic autoimmune disease: a review. *Cancer Control.* 2003;10:57-65.
- 110.- Jayne, D, Tyndall, A. Autologous stem cell transplantation for systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2004; 13:359.
- 111.- De Ramón E, Campos MT, Calvo de Mora A, et al. Curso clínico del lupus eritematoso sistémico. Modelos evolutivos de actividad de la enfermedad. *An Med Intern.* 1998;15 (supl.): 76.
- 112.- Krane NK, Burjak K, Archie M, et al. Persistent lupus activity in end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis.* 1999;33:872-879.
- 113.- Bernastsky S, Boivin JF, Joseph L, et al. Mortality in Sustemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2006;54:2550-2557.

- 114.- Camarata RJ, Rodnan GP, Jensen WN. Systemic rheumatic diseases and malignant lymphoma. *Arch Intern Med.* 1963;111:330-337.
- 115.- Lewis RB, Castor CW, Knisley RE, et al. Frequency of neoplasms in SLE and RA.. *Arthritis Rheum.* 1976;19:1256-1260.
- 116.- Georgescu L, Quinn GC, Schwartzman S, et al. Lymphoma in patients with rheumatoid arthritis: association with the disease state or methotrexate treatment. *Semin Arthritis Rheum.* 1997;26:794–804.
- 117.- Roumm AD, Medsger TA Jr. Cancer and systemic sclerosis, an epidemiologic study. *Arthritis Rheum.* 1985; 28: 1336-1340.
- 118.- Voulgarelis M, Dafni VG, Isenberg DA, et al. Malignant lymphoma in primary Sjögren's syndrome. A multicentre, retrospective, clinical study by the European Concerted Action on Sjögren's syndrome. *Arthritis Rheum.*1999;42:1765–1772.
- 119.- Hill CL, Zhang Y, Sigurgeirsson B et al. Frequency of specific cancer types in dermatomyositis and polymyositis: a population-based study. *Lancet.* 2001; 357: 96-100.
- 120.- Okayasu I, Mizutani H, Kurihara H, et al. Cancer in collagen disease *Cancer.* 1984; 54:1841-1844.
- 121.- Villa AR, Kraus A, Jimenez-Corona A, et al. Malignant neoplasms in autoimmune rheumatic diseases: examination of the risk of developing a malignancy among five different rheumatic diseases in one institution. *J Clin Rheumatol.* 2000; 6:176-183.
- 122.- Abu-Shakra M, Urowitz MB, Gladman DD, et al. Mortality studies in systemic lupus erythematosus. Results from a single centre. I. Causes of death. *J Rheumatol.*1995;22:1259-1264.

- 123.- Cervera R, Khamashta MA, Font J, et al. The European Working Party on Systemic Lupus Erythematosus. Morbidity and Mortality in Systemic Lupus erythematosus during a 10-year period. *Medicine (Baltimore)*.2003;82:299-308.
- 124.- Mellekjær L, Andersen V, Linet MS, et al. Non-Hodgkin's lymphoma and other cancers among a cohort of patients with SLE. *Arthritis Rheum*.1997;40:761-768.
- 125.- Abu-Shakra M, Gladman DD, Urowitz MB. Malignancy in SLE. *Arthritis Rheum*. 1996;39:1050-1054.
- 126.- Nashi E, Clarke A, Joseph L, et al. The incidence of cancer in patients with SLE. *Arthritis Rheum*. 2000; 43: S165 (abstract).
- 127.- Black KA, Zilko PJ, Dawkins RL, et al. Cancer in connective tissue disease. *Arthritis Rheum* .1982;25:1130-1133.
- 128.- Pettersson T, Pukkala E, Teppo L, et al. Increased risk of cancer in patients with SLE. *Ann Rheum Dis*.1992;51:437-439.
- 129.- Sweeney DM, Manzi S, Janosky J, et al. Risk of malignancy in women with SLE. *J Rheumatol*. 1995; 22:1478-1482.
- 130.- Ransley-Goldman R, Mattai SA, Schilling E, et al. Increased risk of malignancy in patients with SLE. *J Invest Med*. 1998;46:217-222.
- 131.- Sultan SM, Ioannou Y, Isenberg DA. Is there an association of malignancy with SLE? An analysis of 276 patients under long-term review. *Rheumatology*. 2000; 39:1147-1152.
- 132.- Cibere J, Sibley J, Haga M. SLE and the risk of malignancy. *Lupus*. 2001;10:394-400.

- 133.- Nived O, Bengtsson A, Jonsen A, et al. Malignancies during follow-up in epidemiologically defined SLE inception cohort in southern Sweden. *Lupus*.2001;10:500-504.
- 134.- Ragnarsson O, Grondal G, Steinsson K. Risk of malignancy in an unselected cohort of Icelandic patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2003;12:687-691.
- 135.- Bernatsky S, Boivin JF, Joseph L, et al. An international cohort study of cancer in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2005;52:1481-1490.
- 136.- Bernatsky S, Clarke A, Ramsey-Goldman R, et al. Breast cancer stage at time of detection in women with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2004;13:469-472.
- 137.- Mellors RC. Autoimmune and immunoproliferative diseases of NZW / B mice and hybrids. *Int Rev Exp Pathol*. 1966;5:217-219.
- 138.- Green JA, Dawson AA, Walker W. SLE and lymphoma. *Lancet*.1978; 7: 753-756.
- 139.- Bhalla R, Ajmani HS, Kim WW, et al. SLE and Hodgkin's lymphoma. *J Rheumatol*.1993;20:1316- 1320.
- 140.- Posner MA, Gloster ES, Bonagura VR, et al. Burkitt's lymphoma in a patient with SLE. *J Rheumatol*.1990;17:380-382.
- 141.- Castanet J, Taillan B, Lacour JP, et al. Subacute cutaneous lupus erythematosus associated with Hodgkin's disease. *Clin Rheumatol*. 1995; 14: 692-694.

- 142.- Houssiau FA, Kirkove C, Asherson RA, et al. Malignant lymphoma in systemic rheumatic diseases. A report of five cases. *Clin Exp Rheumtol.* 1991;9:515-518.
- 143.- Pisoni CN, Grinberg AR, Plana JL, et al. Primary central nervous system lymphoma in a patient with systemic lupus Erythematosus. *Medicina (B Aires).* 2003;63:221-223.
- 144.- Papadaki HA, Xylouri I, Katrinakis G, et al. Non-Hodgkin's lymphoma in patients with systemic lupus erythematosus. *Leuk Lymphoma.* 2003;44:275-279.
- 145.- Rarnsey-Goldman R, Clarke AE. Double trouble: are lupus and malignancy associated? *Lupus.* 2001;10:388-391.
- 146.- Leandro MJ, Isenberg DA. Rheumatic diseases and malignancy-is there an association? *Scand J Rheumatol* 2001;30:185-188.
- 147.- Lopez Dupla M, Khamashta M, Pintado GV, et al. Malignancy in systemic lupus erythematosus: a report of 5 cases in a series of 96 patients. *Lupus.* 1993;2:377-380.
- 148.- Ines L, Carson K, Petri M. Risk of malignancy in systemic lupus erythematosus: a case-control study of 294 patients. *Lupus.* 2001; 10(Suppl1): S54.
- 149.- Zoma A, Stockton D. Malignancy and systemic lupus erythematosus in Scotland: a population-based study 1981-1997. *Arthritis Rheum.* 2001; 44(Suppl1): S265.
- 150.- Bernatsky S, Boivin J-F, Clarke A, et al. Cancer risk in systemic lupus erythematosus: a meta analysis. *Arthritis Rheum.* 2001; 44(Suppl): S244.

- 151.- Bernatsky S, Ramsey-Goldman R, Isenberg D, et al. Hodgkin's lymphoma in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)*. 2007;46:830-832.
- 152.- Xu Y, Wiemik PR. Systemic lupus erythematosus and B-cell hematologic neoplasm. *Lupus* 2001;10:841-850.
- 153.- Zhang Y, Holford TR, Leaderer B, et al. Prior medical conditions and medication use and risk of non-Hodgkin lymphoma in Connecticut United States women. *Cancer Causes Control*. 2004;15:419-428.
- 154.- Vaiopoulos G, Konstantopoulos K, Mantzourani M, et al. Multiple myeloma associated with systemic lupus erythematosus. *Leuk Lymphoma*. 2003;44:373-374.
- 155.- Urbanska-Rys H, Robak E, Kordek R, et al. Multiple myeloma in a patient with systemic lupus erythematosus, myasthenia gravis and non-familial diffuse palmoplantar keratoderma. *Leuk Lymphoma*. 2004;45:1913-1918.
- 156.- Ali YM, Urowitz MB, Ibanez D, et al. Monoclonal gammopathy in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2007;16:426-429.
- 157.- Gibbons RB, Westerman E. Acute nonlymphocytic leukemia following short-term, intermittent, intravenous cyclophosphamide treatment of lupus nephritis. *Arthritis Rheum*. 1988; 31:1552-1554.
- 158.- Vasquez S, Kavanaugh AF, Schneider NR, et al. Acute nonlymphocytic leukemia after treatment of SLE with immunosuppressive agents. *J Rheumatol*. 1992;19:1625-1627.

- 159.- Rosenthal NS, Farhi DC. Myelodysplastic syndromes and acute myeloid leukemia in connective tissue disease after single agent chemotherapy. *Am J Clin Pathol.* 1996;106:676-679.
- 160.- Lishner M, Hawker G, Amato D. Chronic lymphocytic leukemia in a patient with SLE. *Acta Haematol.* 1990;84:38-39.
- 161.- Colovic M, Jankovic G, Lazarevic V, et al. Acute megacaryocytic leukemia in a patient with SLE. *Med Oncol.* 1997;14:31-34.
- 162.- Papadimitraki E, de Bree E, Tzardi M, et al. Gastric carcinoid in a young woman with systemic lupus erythematosus and atrophic autoimmune gastritis. *Scand J Gastroenterol.* 2003;38:477-481.
- 163.- El Euch D, Zakraoui H, Ben Jannet S, et al. Squamous cell carcinoma and discoid lupus erythematosus. About two cases. *Tunis Med.* 2004;82:980-983.
- 164.- Tsunemi Y, Tada Y, Saeki H, et al. Multiple dermatofibromas in a patient with systemic lupus erythematosus and Sjogren's syndrome. *Clin Exp Dermatol.* 2004 ;29:483-485.
- 165.- Bateman H, Yazici Y, Peterson M, et al. Increased cervical dysplasia in intravenous cyclophosphamide-treated patients with SLE: a preliminary study. *Lupus.* 2000; 9: 542-544.
- 166.- Dawn G, Wainwright NJ. Association between subacute cutaneous lupus erythematosus and epidermoid carcinoma of the lung: a paraneoplastic phenomenon?. *Clin Exp Dermatol.* 2002;27:717-718.
- 167.- Loche F, Schwarze HP, Durieu C, et al. A case of systemic lupus erythematosus associated with cancer of the lung: a paraneoplastic association?. *Br J Dermatol.* 2000; 143: 210-211.

- 168.- Chow SK, Looi LM, Loh CS, et al. Cyclophosphamide-induced transitional cell carcinoma of bladder in lupus nephritis. *Intern Med J.* 2002;32:114-116.
- 169.- Rossi G, Lucioni M, Sammarchi L, et al. Uncommon syndromes and treatment manifestations of malignancy: Case 1. Unusual association of lupus and sarcoma. *J Clin Oncol.* 2003;21:166-167.
- 170.- Ho C, Shumack SP, Morris D. Subacute cutaneous lupus erythematosus associated with hepatocellular carcinoma. *Australas J Dermatol.* 2001;42:110-113.
- 171.- Reuman PD. First reported pediatric case of systemic lupus erythematosus associated with prolactinoma. *Arthritis Rheum.* 2004;50:3616-3618.
- 172.- Khoo VS, Saunders MP, Gowda R, et al. Anal canal cancer and chemoradiation treatment in two patients with systemic lupus erythematosus treated by chronic therapeutic immunosuppression. *Clin Oncol (R Coll Radiol).* 2004;16:1-5.
- 173.- Menon S, Snaith ML, Isenberg D. The association of malignancy with SLE: an analysis of 150 patients under long term review. *Lupus.* 1993;2:177-181.
- 174.- Canoso JJ, Cohen AS. Malignancy in a series of 70 patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1974; 17: 383-390.
- 175.- Bin J, Bernatsky S, Gordon C, et al. Lung cancer in systemic lupus erythematosus. *Lung Cancer.* 2007;56:303-306.

- 176.- Tam LS, Chan AY, Chan PK, et al. Increased prevalence of squamous intraepithelial lesions in systemic lupus erythematosus: association with human papillomavirus infection. *Arthritis Rheum.* 2004;50:3619-3625.
- 177.- Ognenovski VM, Marder W, Somers EC, et al. Increased incidence of cervical intraepithelial neoplasia in women with systemic lupus erythematosus treated with intravenous cyclophosphamide. *J Rheumatol.* 2004;31:1763-1767.
- 178.- Ortiz A, Gonzalez E, Alvarez G, et al. Bladder cancer after cyclophosphamide therapy for lupus nephritis. *Nephron.* 1992; 60: 378-379.
- 179.- Moroni G, Banfi G, Ponticelli C. Clinical status of patients after 10 years of lupus nephritis. *Q J Med.* 1992; 84: 681-689.
- 180.- Valeri R, Radhakrishnan J, Estes D, et al. Intravenous pulse cyclophosphamide treatment of severe lupus nephritis: a prospective five-year study. *Clin Nephrol.* 1994;42:71-78.
- 181.- Abu-Shakra M, Buskila D, Shoenfeld Y. SLE and Cancer. In: Shoenfeld Y, Gershwin ME (eds). *Cancer and Autoimmunity.* Elsevier Science: Amsterdam, 2000, pp 31-40.
- 182.- Ehrenfeld M, Abu-Shakra M, Buskila D, et al. The dual association between lymphoma and autoimmunity. *Blood Cells Mol Dis.*2001;27:750-756.
- 183.- Elliott RW, Essenhigh DM, Morley AR. Cyclophosphamide treatment of systemic lupus erythematosus: risk of bladder cancer exceeds benefits. *Br Med J.*1982;284:1160-1161.

- 184.- Vasquez S, Kavanaugh AF, Schneider NR, et al. Acute nonlymphocytic leukemia after treatment of systemic lupus erythematosus with immunosuppressive agents. *J Rheumatol.*1992;19:1625-1627.
- 185.- Bernatsky S, Joseph L, Boivin JF, et al. The relationship between cancer and medication exposures in systemic lupus erythematosus: a case-cohort study. *Ann Rheum Dis.* 2008;67:74-79.
- 186.- Ruiz-Irastorza G, Ugarte A, Egurbide MV, et al. Antimalarials may influence the risk of malignancy in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2007;66:815-817.
- 187.- Bernatsky S, Clarke A, Ramsey-Goldman R, et al. Hormonal exposures and breast cancer in a sample of women with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford).* 2004;43:1178-1181.
- 188.- Ross JG, Hussey DH, Mayr NA, et al. Acute and late reactions to radiation therapy in patients with collagen vascular diseases. *Cancer.*1993; 71: 3744-3752.
- 189.- Morris MM, Powell SN. Irradiation in the setting of collagen vascular disease: Acute and late complications. *J Clin Oncol.*1997;15:2728-2735.
- 190.- Robertson JM, Clarke DH, Pevzner MM, et al. Breast conservation therapy: severe breast fibrosis after radiation therapy in patients with collagen vascular disease. *Cancer.*1991;68:502-508.
- 191.- Chen AM, Obedian E, Haffy BG. Breast-conserving therapy in the setting of collagen vascular disease. *Cancer J.* 2001;7:480-491.
- 192.- Phan C, Mindrum M, Silverman C, et al. Matched-control retrospective study of the acute and late complications in patients with collagen vascular diseases treated with radiation therapy. *Cancer J.* 2003;9:461-466.

- 193.- Rakfal SM, Deutsch M. Radiotherapy for malignancies associated with lupus: case reports of acute and late reactions. *Am J Clin Oncol.*1998; 21: 54-57.
- 194.- Rathmell AJ, Taylor RE. Enhanced normal tissue response to radiation in a patient with discoid lupus erythematosus *Clin Oncol.* 1992; 4:331-332.
- 195.- Fleck R, McNeese MD, Ellerbroek NA, et al. Consequences of breast irradiation in patients with preexisting collagen vascular diseases. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1989; 17: 829-833.
- 196.- De Naeyer B, De Meerleer G, Braems S, et al. Collagen Vascular diseases and adiation therapy: a critical review. *Int J Radiation Oncology Biol Phys.* 1999; 44: 975-980.
- 197.- Matthews RH. Collagen vascular disease and irradiation. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*1989;17:1123-1124.
- 198.- Varga J, Haustein UF, Creech RH, et al. Exaggerated radiation-induced fibrosis in patients with systemic sclerosis. *JAMA.*1991;265: 3292-3295.
- 199.- Teo P, Tai TH, Choy D. Nasopharyngeal carcinoma with dermatomyositis. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*1989;16:471-474.
- 200.- Delanian S; Maulard-Durdux C; Lefaix JL; et al. Mayor interactions between radiation therapy and systemic sclerosis: Is there an optimal treatment?. *Eur. J. Cancer.* 1996;32A: 738-739.
- 201.- Mayr NA, Rigss ChE Jr., Saag KG, et al. Mixed connective tissue disease and radiation toxicity. *Cancer.* 1997;79:612-618.

- 202.- Aref I; Cross P; Nair B. Case report: Severe fibrosis in a patient with scleroderma and previous radiotherapy- a case report and literature review. Br. J. Radiol. 1996, 69:10556.
- 203.- Cooper SG; Denham JW. Progressive systemic sclerosis (diffuse scleroderma) and radiotherapy. Br. J. Radiol. 1990; 63:804-805.
- 204.- Cox JD, Stetz J, Pajak TH. Toxicity criteria of the Radiation Therapy Oncology Group (ROTG) and the European Organization for Research and Treatment of Cancer (EOETG). Int J Radiation Oncolgy Biol Phys. 1995; 31:1341-1346.
- 205.- McCormick B. Selection criteria for breast conservation (The impact of young and old age and collagen vascular disease). Cancer.1994;74:430-435.
- 206.- Olivotto IA, Fairey RN, Gillies JH, et al. Fatal outcome of pelvic radiotherapy for carcinoma of the cervix in a patient with systemic lupus erythematosus, Clin Radiol. 1989; 40: 83-84.
- 207.- Strober S, Field E, Hoppe RT, et al. Treatment of intractable lupus nephritis with total lymphoid irradiation. Ann Intern Med. 1985; 102: 450-458.
- 208.- Benk V, Al-Herz A, Gladman D, et al. Role of radiation in patients with a diagnosis of both Systemic Lupus Erythematosus and cancer. Arthritis Rheum. 2005;53:67-72.
- 209.- Chon BH, Loeffler JS. The effect of nonmalignant systemic disease on tolerance to radiation therapy. Oncologist. 2002;7:136-143.
- 210.- Balabanova MB, Botev IN, Michailova JI. Subacute cutaneous lupus erythematosus induced by radiation therapy. Br J Dermatol.1997;137:648-649.

- 211.- Urtasun Rc. A complication of the use of radiation for malignant neoplasia in chronic discoid lupus erythematosus. J can Assoc Radiol. 1971;22:168-169.
- 212.- Tubiana M. The role of local treatment in the cure of cancer. Eur J Cancer. 1992; 28: 2061-2069.
- 213.- Bentzen SM. Potential clinical impact of normal-tissue intrinsic radiosensitivity testing. Radiother Oncol. 1997; 43:121-131.
- 214.- Bentzen SM, Overgaard J. Patient to patient variability in the expression of radiation induced normal tissue injury. Sem Radiat Oncol.1994; 4:68-80.
- 215.- Bentzen SM, Overgaard M. Relationship between early and late normal-tissue injury after post-mastectomy radiotherapy. Radiother Oncol.1991; 20:159-165.
- 216.- Turesson I. Characteristics of dose-response relationships for late radiation effects: an analysis of skin telangiectasia and of head neck morbidity. Radiother Oncol.1991;20:149-158.
- 217.- López E, Guerrero R, Núñez MI, del Moral R, et al. Early and late skin reactions to radiotherapy for breast cancer and their correlation with radiation-induced DNA damage in lymphocytes. Breast Cancer Research. 2005, 7:R690-R698
- 218.- McMillan TJ, Cassoni AM, Edwards S, et al. The relationship of DNA double strands breaks induction to radiosensitivity in human tumour cell lines. Int J Radiat Biol.1990; 58: 427-438.

- 219.- Ruiz de Almodovar JM, Nuñez MI, McMillan TJ, et al. Initial radiation-induced DNA damage in human tumour cell lines: a correlation with intrinsic cellular radiosensitivity. *Br J Cancer*. 1994; 69:457-462.
- 220.- Whitaker SJ, Ung Y, McMillan TJ. DNA double-strand break induction and rejoining as determinants of human tumor radiosensitivity. A pulsed-field gel electrophoresis study. *Int J Radiat Biol*. 1995; 67: 7-18.
- 221.- Peacock J, Ashton A, Bliss J, et al. Cellular radiosensitivity and complications risk after curative radiotherapy. *Radiother Oncol*. 2000;55:173-178.
- 222.- Turesson I, Nyman J, Holmberg E, et al. Prognosis factors for acute and late skin reactions in radiotherapy patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*. 1996;36:1065-1075.
- 223.- Brock WA, Tucker SI. In vitro radiosensitivity and normal tissue damage. *Radiother Oncol*. 2000;55:93-94.
- 224.- Burnet NG, Johansen J, Turesson I, et al. Describing patients' normal tissue reactions: Concerning the possibility of individualising radiotherapy dose prescriptions based on potential predictive assays of normal tissue radiosensitivity. *Int J Cancer* .1998;79:606-711.
- 225.- Barber JBP, Burrill W, Spreadbrough AR, et al. Relationship between in vitro chromosomal radiosensitivity of peripheral blood lymphocytes and the expression of normal tissue damage following radiotherapy for breast cancer. *Radiother Oncol*. 2000;55:179-186.
- 226.- López E, Núñez MI, Guerrero MR, et al. Breast cancer acute morbidity evaluated by different scoring systems. *Breast Cancer Res Treat*.2002; 73:127-134.

- 227.- Ruiz de Almodovar JM, Guirado D, Isabel Nunez M, et al. Individualization of radiotherapy in breast cancer patients: possible usefulness of a DNA damage assay to measure normal cell Radiosensitivity. *Radiother Oncol.* 2002;62:327-333.
- 228.- Carlomagno F, Burnet NG, Turesson I, et al. Comparison of DNA repair protein expression and activities between human fibroblast cell lines with different radiosensitivities. *Int J Cancer.* 2000 ; 85:845-849.
- 229.- Krause M, Hessel F, Szips D, et al. Adjuvant inhibition of the epidermal growth factor receptor after fractionated irradiation of FaDu human squamous cell carcinoma. *Radiother Oncol.*2004; 72:95-101.
- 230.- Gatti RA. The inherited basis of human radiosensitivity. *Acta Oncologica.* 2001;40:702-711.
- 231.- Nuñez MI, Guerrero MR, Lopez E, et al. DNA damage and prediction of radiation response in lymphocytes and epidermal skin human cells. *Int J Cancer.* 1998; 76: 354-361.
- 232.- Gotoff SP, Amirmokri E, Liebner EJ. Ataxia telangiectasia. Neoplasia, untoward response to x-irradiation, and tuberous sclerosis. *Am J Dis Child.* 1967;114:617-625.
- 233.- Kitahara O, Katagiri T, Tsunoda T, et al. Classification of sensitivity or resistance of cervical cancers to ionizing radiation according to expression profiles of 62 genes selected by cDNA microarray analysis. *Neoplasia.* 2002;4:295-303.
- 234.- Deschavanne PJ, Fertil B. A review of human cell radiosensitivity in vitro. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1996;34:251-266.

- 235.- Vidakovic M, Poznanovic G, Bode J. DNA break repair: refined rules of an already complicated game. *Biochem Cell Biol.* 2005;83:365-373.
- 236.- Lees-Miller SP, Meek K. Repair of DNA double strand breaks by non-homologous end joining. *Biochimie.* 2003;85:1161-1173.
- 237.- Rothkamm K, Kroger I, Thompson LH, et al. Pathways of DNA Double-Strand Break Repair during the Mammalian Cell Cycle. *Mol Cell Biol.* 2003; 23: 5706–5715
- 238.- Ljungman M, Nyberg S, Nygern J, et al. DNA-bound proteins contribute much more than soluble intracellular compounds to the intrinsic protection against radiation-induced DNA strands breaks in human cells. *Radiat Res.* 1991;127:171-176.
- 239.- Waters RL, Lyons BW. Relation of ionizing radiation-induced DNA double-strand breaks by filter elution is effected by nuclear chromatin structure. *Radiat Res.*1990;124:309-326.
- 240.- Kelland LR, Edwards SM, Steel GG. Induction and rejoining of DSB double-strand breaks n human cervix carcinoma cell lines of differinf radiosensitivity. *Radiat Res.* 1988;116:526-538.
- 241.- Dote. Enhancement of in vitro and in vivo tumor cell radiosensitivity by the DNA methylation inhibitor zebularine. *Clin Cancer Res.* 2005;11:4571-4579
- 242.- Kent CRH, Eady JJ, Ross GM, et al. The comet moment as a measure of DNA damage in the comet assay. *Int J Radiat Biol.* 1995; 67: 655-660.
- 243.- Ward JF. The yield of DNA double-strand breaks produced intracellularly by ionising radiation; a review. *Int J Radiat Biol.*1990;57:1141-1150.

- 244.- McMillan TJ, Peacock JH. Molecular determinants of radiosensitivity in mammalian cells. *Int J Radiat Biol.* 1994; 65: 49-55.
- 245.- Johansen J, Bentzen SM, Overgaard M. Relationship between the in vitro radiosensitivity of skin fibroblasts and the expression of subcutaneous fibrosis, telangiectasia and skin erythema after radiotherapy. *Radiother Oncol.* 1996;40:101-109.
- 246.- West CML. Invited review: Intrinsic radiosensitivity as a predictor of patients response to radiotherapy. *Br J Radiol.* 1995;68:827-837.
- 247.- Scott D. Chromosomal radiosensitivity, cancer predisposition and response to radiotherapy. *Strahlenther Onkol* 2000;176:229-234.
- 248.- Kiltie AE, Ryan AJ, Swindell R, et al. A correlation between residual radiation-induced DNA double-strand breaks in cultured fibroblast and late radiotherapy reactions in breast cancer patients. *Radiother Oncol.* 1999;51:55-65.
- 249.- Dikomey E, Brammer I, Johansen J, et al. Relationship between DNA double-strand breaks, cell killing, and fibrosis studied in confluent skin fibroblasts derived from breast cancer patients. *Int J Radiat Oncol Biol.* 2000;46:481-490.
- 250.- Müller WU, Bauch T, Stüben G, et al. Radiation sensitivity of lymphocytes from healthy individuals and cancer patients as measured by the comet assays. *Radiat Environ Biophys.* 2001;40:83-89.
- 251.- Alsbeih G, Malone S, Lochrin C, et al. Correlation between normal tissue complications and in vitro radiosensitivity of skin fibroblasts derived from radiotherapy patients treated for variety of tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000;46:143-152.

- 252.- Begg AC, Russel NS, Knaken H, et al. Lack of correlation of human fibroblast radiosensitivity in vitro with early reactions in patients undergoing radiotherapy. *Int J Radiat Biol.* 1993; 64: 393-405.
- 253.- Brock WA, Tucker SL, Geara FB, et al. Fibroblast radiosensitivity versus acute and late normal skin responses in patients treated for breast cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 1995;32:1371-1379.
- 254.- Alsbeih G, El-Sebaie M, El-Rajhi N, et al. Relationship between radiosensitivity and Normal Tissue Complications in Saudi Cancer Patients Treated with Radiotherapy. *J Egypt Natl Canc Inst.*2004;16:216-223.
- 255.- Joubert A, Foray N. Intrinsic radiosensitivity and DNA double-strand breaks in human cells. *Cancer Radiother.*2007;11:129-142.
- 256.- Ruiz de Almodovar JM, Bush C, Peacock JH, et al. Dose-rate effect for DNA damage induced by ionising radiation in human tumor cells. *Radiat Res.* 1994;138:S93-S96.
- 257.- Nuñez MI, Villalobos M, Olea N, et al. Radiation-induced DNA double-strand break rejoining in human tumour cells. *Br J Cancer.*1995;71:311-316.
- 258.- Wurn R, Burnet NG, Duggal N, et al. Cellular radiosensitivity and DNA damage in primary human fibroblast. *Int J Radiat Biol Phys.*1994;30:625-633.
- 259.- Nuñez MI, McMillan TJ, Valenzuela MT, et al. Relationship between DNA damage, rejoining and cell killing by radiation in mammalian cells. *Radiother Oncol.*1996; 39:155-165.
- 260.- Sy D, Savoye C, Begusova M, et al. Sequence-dependent variations of DNA structure modulate radiation-induced strand breakage. *Int J Radiat Biol.*1997; 72:147-155.

- 261.- Streffer C, Müller WU, Kryscio A, et al. Micronuclei-biological indicator for retrospective dosimetry after exposure to ionizing radiation. *Mutat Res.* 1998;404:101-105.
- 262.- Kiltie AE, Barber JB, Swindell R, et al. Lack of correlation between residual radiation-induced DNA damage, in keratinocytes assayed directly from skin, and late radiotherapy reactions in breast cancer patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*1999;43:481-487.
- 263.- Ozsahin M, Ozsahin H, Shi Y, et al. Rapid assay of intrinsic radiosensitivity based on apoptosis in human CD4 and CD8 T-lymphocytes. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*1997;38:429-440.
- 264.- Pawlik TM, Keyomarsi K. Role of cell cycle in mediating sensitivity to radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*2004;59:928-942.
- 265.- Widlak P, Pietrowska M, Lanuszewska J. The role of chromatin proteins in DNA damage recognition and repair Mini-review. *Histochem Cell Biol.*2005;15:1-8.
- 266.- Reeves R, Adair JE. Role of high mobility group (HMG) chromatin proteins in DNA repair. *DNA Repair (Amst).*2005;4:926-938.
- 267.- Prise KM, Davies S, Straford MSL, et al. The role of non-protein sulphhydryls in determining the chemical repair rates of free radical precursors of DNA damage and cell killing in Chinese hamster V79 cells. *Int J Radiat Biol.*1992; 62: 297-306.
- 268.- Lobric M, Rydberg B, Cooper PK. Repair of x-ray-induced DNA double strand break in specific Not I restriction fragments in human fibroblasts: Joining of correct and incorrect ends. *Proc Natl Acad Sci USA.*1995;92: 12050-12054.

269.- Burnet NG, Wurn R, Peacock JH. Low dose-rate fibroblast radiosensitivity and the prediction of patient response to radiotherapy. *Int J Radiat Biol.*1996;70:289-300.

270.- West CML, Davidson SE, Elyan AG, et al. The intrinsic radiosensitivity of normal and tumor cells. *Int J Radiat Biol.*1998;73:409-413.

270.- Burnet NG, Nyman J, Turesson I, et al. The relationship between cellular radiation sensitivity and tissue response may provide the basis for individualizing radiotherapy schedules. *Radioter Oncol.*1994,33:228-238.

271.- Alsbeih G, Malone S, Lochrin C, et al. Correlation between normal tissue complications and in vitro radiosensitivity of skin fibroblasts derived from radiotherapy patients treated for variety of tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*2000;46:143-152.

272.- Rudant V, Dietz A, Conradt C, et al. In vitro radiosensitivity of primary human fibroblasts: Lack of correlation with acute radiation toxicity in patients with head and neck cancer. *Radiother Oncol.*1997;43:181-188.

273.- Bentzen SM, Hendry JH. Variability in the radiosensitivity of normal cells and tissues. Reports from a workshop organized by the European Society for Therapeutic Radiology and Oncology in Edinburgh, UK, 19 September 1998. *Int J Radiat Biol.*1999;75:513-517.

274.- Russell NS, Grummels A, Hart AAM, et al. Low predictive value of intrinsic fibroblast radiosensitivity for fibrosis development following radiotherapy for breast cancer. *Int J Radiat Biol.*1998;73:661-670.

275.- Russell NS, Lara RPC, Grummels AR, et al. In vitro differentiation characteristics of human skin fibroblasts: Correlation with radiotherapy-induced breast fibrosis in patients. *Int J Radiat Biol.* 2000;76:231-140.

- 276.- Thierens H, Vral A, Van Eijkeren M, et al. Micronucleus induction in peripheral blood lymphocytes of patients under radiotherapy treatment for cervical cancer or Hodgkin's disease. *Int J Radiat Biol.*1995;65:529-539.
- 277.- Geara FB, Peters LJ, Ang KK, et al. Intrinsic radiosensitivity of normal human fibroblasts and lymphocytes after high and low dose rate irradiation. *Cancer Res.*1992;52:6348-6352.
- 278.- Ozsahin M, Ozsahin H, Shy Y, et al. Rapid assay of intrinsic radiosensitivity based on apoptosis in human CD4 and CD8 lymphocytes. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*1997;38:429-440.
- 279.- Catena C, Conti D, Parasacchi P, et al. Micronuclei in cytokinesis-blocked lymphocytes may predict patient response to radiotherapy. *Int J Radiat Biol.*1996;70:301-308.
- 280.- West CML, Davidson SE, Elyan SAG, et al. Lymphocyte radiosensitivity is a significant prognostic factor for morbidity in carcinoma of the cervix. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*2001;51:10-15.
- 281.- Alapetite C, Thirion P, Rochefordiere A, et al. Analysis by alkaline comet assay of cancer patients with severe reactions to radiotherapy: Defective rejoining of radio induced DNA strand breaks in lymphocytes of breast cancer patients. *Int J Cancer.*1999;83:83-90.
- 282.- Peacock J, Ashton A, Bliss J, et al. Cellular radiosensitivity and complication risk after curative radiotherapy. *Radiother Oncol.*2000;55:173-178.
- 283.- Boyle JM, Spreadborough AR, Greaves MJ, et al. Delayed chromosome changes in gamma-irradiated normal and Li.Fraumeni fibroblasts. *Radiat Res.*2002;157:158-165.

- 284.- Rosen EM, Fan S, Rockwell S, et al. The molecular and cellular basis of radiosensitivity: Implications for understanding how normal tissues and tumors respond to therapeutic radiation. *Cancer Invest.*1999;17:56-72.
- 285.- McMillan TJ, Tobi S, Mateos S, et al. The use of DNA double-strand break quantification in radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*2001; 49:373-377.
- 286.- Azzan EI, Little JB. The radiation-induced bystander effects: evidence and significance. *Hum Exp Toxicol.* 2004; 23:61-65.
- 287.- Azzan EI, de Toledo SM, Little JB. Oxidative metabolism, gap-junctions and the ionizing radiation-induced bystander effect. *Oncogene.* 2003, 22:7050-7057.
- 288.- Lorimore SA, Coates PJ, Scobie GE, et al. Inflammatory-type responses after exposure to ionizing radiation in vivo: A mechanism for radiation-induced bystander effects? *Oncogene.*2001;20:7085-7095.
- 289.- Dickson J, Magee B, Stewart A, et al. Relationship between residual radiation-induced DNA double strand breaks in cultured fibroblasts and late radiation reactions: a comparison of training and validation cohorts of breast cancer patients. *Radiother Oncol.*2002, 62:321-326.
- 290.- Herskind C, Johansen J, Bentzen SM, et al. Fibroblast differentiation in subcutaneous fibrosis after postmastectomy radiotherapy. *Acta Oncol* 2000, 39:383-388.
- 291.- Hoeijmakers J H J. Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature.* 2001;411:366–374.

- 292.- Van Gent D C, Hoeijmakers J H J, Kanaar. Chromosomal stability and the DNA double-stranded break connection. *R. Nat Rev Genet.*2001;2:196–206.
- 293.- Peters LJ. Radiation therapy tolerance limits. For one or for all?. *Cancer.*1997;77:2379-2385.
- 294.- Barber JBP, West CML, Kiltie AE, et al. Detection of individual differences in radiation-induced apoptosis of peripheral blood lymphocytes in normal individuals, ataxia telangiectasia homozygotes and heterozygotes, and breast cancer patients after radiotherapy. *Radiat Res.*2000;153:570-578.
- 295.- Guirado D, Ruiz de Almodovar JM. Prediction of normal tissue response and individualization of doses in radiotherapy. *Phys Med Biol.* 2003;48:3213-23.
- 296.- Alsbeih G, Story MD, Maor MH, et al. Chromosomal fragility syndrome and family history of radiosensitivity as indicators for radiotherapy dose modification. *Radiother Oncol.* 2003;66:341-344.
- 297.- Golan TD, Foltyn V, Roueff A. Increased susceptibility to in vitro ultraviolet B radiation in fibroblast and lymphocytes cultured from systemic lupus erythematosus patients. *Clin Immunol Immunopathol.*1991;58:289-304.
- 298.- Compton LJ, Steinberg AD, Sano H. Nuclear DNA degradation in lymphocytes of patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol.* 1984;133: 213-216.

- 299.- Rosenstein BS, Rosenstein RB, Zamansky GB. Repair of DNA damage induced in systemic lupus erythematosus skin fibroblasts by simulated sunlight. *J Invest Dermatol.*1992; 98: 469-474.
- 300.- Bashir S, Harris G, Denman AM, et al. Oxidative DNA damage and cellular sensitivity to oxidative stress in human autoimmune diseases. *Ann Rheum Dis.*1993; 52: 659-666.
- 301.- Vasil'eva IM, Lisitsina TA, Durnev AD, et al. Comparative study of DNA-repair ability of lymphocytes from systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis patients. *Genetika.*1997, 33:1719-1721.
- 302.- Caporossi D, Sebastiani G, Masala C, et al. Cytogenetic effects of near ultraviolet radiation in normal and systemic lupus erythematosus lymphocytes. *Mutation Research.*1990,229:43-47.
- 303.- Harris G, Cramp WA, Edwards JC et al. Radiosensitivity of peripheral blood lymphocytes in autoimmune disease. *Int J Radiat Biol.*1985;47:689-699.
- 304.- Cossu F, Rombi G, Aresu G, et al. Radiosensitivity of lymphocyte subpopulations in subjects with systemic lupus erythematosus. A in vitro preliminary study. *Minerva Med.*1991;82:239-249.
- 305.- McCurdy D, Tai LQ, Frias S, et al. Delayed repair of DNA damage by ionizing radiation in cells from patients with Juvenile Systemic Lupus Erythematosus and Rheumatoid Arthritis. *Radiat Res.* 1997;147:48-54.
- 306.- Ruiz de Almodovar JM, Steel GG, Whitaker SJ, et al. A comparison of methods for calculating DNA double-strand break induction frequency in mammalian cells by pulsed-field gel electrophoresis. *Int J Radiat Biol.*1994; 65:641-649.

307.- Frankish H. 15 million new cancer cases per year by 2020, says WHO. Lancet.2003;361:1278.

308.- Mackillop WJ, Fu H, Quirt CF, et al. Waiting for radiotherapy in Ontario. Int J Radiat Oncol Biol Phys.1994;30:221-228.

309.- Winchester DP, Cox JD. American College of Radiology, American College of Surgeons, College of American Pathologists, Society of Surgical Oncology. Standards for diagnosis and management of invasive breast carcinoma. CA Cancer J Clin.1998;48:83-107.

310.- The Steering Committee on Clinical Practice Guidelines for the Care and Treatment of Breast Cancer. Canadian Association of Radiation Oncologist. Mastectomy or lumpectomy?. The choice of operation for clinical stages I and II breast cancer. CMAJ.1998;158:S15-21.

311.- The Steering Committee on Clinical Practice Guidelines for the Care and Treatment of Breast Cancer. Canadian Association of Radiation Oncologist. Breast radiotherapy after breast-conserving surgery. CMAJ. 1998;158:S35-42.

312.- Bentzen SM, Overgaard M, Thames HD. Fractionation sensitivity of a functional endpoint: Impaired shoulder movement after postmastectomy radiotherapy. Int J radiat Oncol Biol Phys.1989;17:531-537.

313.- Koga K, Kusumoto S, Watanabe K et al. Age factor relevant to the development of radiation pneumonitis in radiotherapy of lung cancer. Int J Radiat Oncol Biol Phys.1988;14:367-371.

314.- Jensen BV, Carlsen NL, Nissen NI. Influence of age and duration of follow-up on lung function after combined chemotherapy for Hodgkin's disease. Eur Respir J.1993;3:1140-1145.

- 315.- Joksic G, Petrovic S, Ilic Z. Age-related changes in radiation-induced micronuclei among healthy adults. *Braz J Med Biol Res.*2004;37:1111-1117.
- 316.- Hoeller U, Borgmann K, Bonacker M, et al. Individual radiosensitivity measured with lymphocytes may predict the risk of fibrosis after radiotherapy for breast cancer. *Radiother Oncol.*2003, 69:137-144.
- 317.- Mateos S, Peacock JH, Steel GG, et al. Study of DNA double-strand break induction in different chromatin substrates of radioresistant and radiosensitive human tumour cell lines. *Biomedical Letters.*1998;58: 7-18.
- 318.- Mateos S, Steel GG, McMillan TJ. Differences between a human bladder carcinoma cellline and its radiosensitive clone in the formation of radiation-induced DNA double-strand breaks in different chromatin substrates. *Mutat Res.*1998; 409:73-80.
- 319.- Moody AM, Mayles WPM, Bliss JM, et al. The influence of breast size on late radiation effects and association with radiotherapy dose inhomogeneity. *Radiother Oncol.*1994, 333:106-112.
- 320.- Liu M, Pickles T, Agranovich, et al. Impact of neoadjuvant androgen ablation and other factors on late toxicity after external beam prostate radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2004;58:59-67.
- 321.- Chon BH, Loeffler JS. The effect of nonmalignant systemic disease on tolerance to radiation therapy. *The Oncologist.*2002;7:136-143.
- 322.- Herold DM, Hanlon AL, Hanks GE. Diabetes mellitus:a predictor for late radiation morbidity. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*1999;43:475-479.
- 323.- Willett CG, Ooi CJ, Zietman AL et al. Acute and late toxicity of patients with inflammatory bowel disease undergoing irradiation for abdominal and pelvic neoplasms. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*2000;46:995-998.

- 324.- Wang LE, Bondy ML, de Andrade M, et al. Gender difference in smoking effect on chromosome sensitivity to gamma radiation in a healthy population. *Radiat Res.* 2000;154:20-27.
- 325.- Rodriguez Ferreiro G, Cancino Badias L, Lopez-Nigro M, et al. DNA single strand breaks in peripheral blood lymphocytes induced by three nitroimidazole derivatives. *Toxicol Lett.*2002;132:109-115.
- 327.- Bernatsky S, Boivin JF, Joseph L, et al. Race/ethnicity and cancer occurrence in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*2005;53:781-784.
- 328.- Ramal LM, de Pablo R, Guadix MJ, et al. HLA class II allele distribution in the Gypsy community of Andalusia, southern Spain. *Tissue Antigens.* 2001;57:138-143.
- 329.- Ramal LM, Lopez-Nevot MA, Sabio JM, et al. Systemic lupus erythematosus in southern Spain: a comparative clinical and genetic study between Caucasian and Gypsy patients. *Lupus.*2004;13:934-940.
- 330.- Mayer PJ, Lange CS, Bradley MO, et al. Gender differences in age-related decline in DNA double-strand break damage and repair in lymphocytes. *Ann Hum Biol.*1991;18:405-415.
- 331.- Gorbunova V, Seluanov A. Making ends meet in old age: DSB repair and aging. *Mech Ageing Dev.*2005;126:621-628.
- 332.- Mayer PJ, Lange CS, Bradley MO, et al. Age-dependent decline in rejoining of X-ray-induced DNA double-strand breaks in normal human lymphocytes. *Mutat Res.*1989;219:95-100.

- 333.- Geinitz H, Zimmermann FB, Molls M. Radiotherapy of the elderly patient. Radiotherapy tolerance and results in older patients. *Strahlenther Onkol.*1999;175:119-127.
- 334.- Furukawa F, Kashihara-Sawami M, Lyons MB, et al. Binding of antibodies to the extractable nuclear antigens SS-A/Ro and SS-B/La is induced on the surface of human keratinocytes by ultraviolet light (UVL): implications for the pathogenesis of photosensitive cutaneous lupus. *J Invest Dermatol.*1990;94:77-85.
- 335.- Scheinfeld N, Deleo VA. Photosensitivity in lupus erythematosus. *Photodermatol Photoimmunol Photomed.*2004;20:272-279.
- 336.- Furukawa F. Photosensitivity in cutaneous lupus erythematosus: lessons from mice and men. *J Dermatol Sci.*2003;33:81-89.
- 337.- Golan TD, Foltyn V, Roueff A. Increased susceptibility to in vitro ultraviolet B radiation in fibroblasts and lymphocytes cultured from systemic lupus erythematosus patients. *Clin Immunol Immunopathol.*1991;58:289-304.
- 338.- Rosenstein BS, Rosenstein RB, Zamansky GB. Repair of DNA damage induced in systemic lupus erythematosus skin fibroblasts by simulated sunlight. *J Invest Dermatol.*1992;98:469-474.
- 339.- Cella D. Factors influencing quality of life in cancer patients: Anemia and fatigue. *Semin Oncol.*1998;25:43-46.
- 340.- Varlotto J, Stevenson MA. Anemia, tumor hypoxemia, and the cancer patient. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*2005;63:25-36.

- 341.- Harrison L, Blackwell K. Hypoxia and anemia: factors in decreased sensitivity to radiation therapy and chemotherapy? *Oncologist*. 2004;9 Suppl 5:31-40.
- 342.- Vaupel P, Mayer A. Hypoxia and anemia: effects on tumor biology and treatment resistance. *5: Transfus Clin Biol*.2005;12:5-10.
- 343.- Hall EJ. *Radiobiology for the Radiologist*. 5th edition, J.B. Lippincott Company, Philadelphia, 2000.
- 344.- Ozsahin M, Azria D, Beer K, et al. External radiotherapy and anaemia treatment: State of the art. *SWISS MED WKLY* 2005;135:4–10.
- 345.- Vaupel P, Mayer A, Höckel M. Tumor hypoxia and malignant progression. *Methods Enzymol*.2004;381:335 –54.
- 346.- Reichel O, Panzer M, Wimmer C, et al. Prognostic implications of hemoglobin levels before and after surgery as well as before and after radiochemotherapy for head and neck tumors. *Eur Arch Otorhinolaryngol*. 2003;260:248-253.
- 347.- Girinski T, Pejovic-Lenfant MH, Bourhis J, et al. Prognostic value of hemoglobin concentrations and blood transfusions in advanced carcinoma of the cervix treated by radiation therapy: Results of a retrospective study of 386 patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*.1989;16:37-42.
- 348.- Tarnawski R, Skladowski K, Majiejewski B. Prognostic value of hemoglobin concentration in radiotherapy for cancer of supraglottic larynx. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*.1997;38:1007 –1011.
- 349.- Dubray B, Mosseri V, Brunin F, et al. Anemia is associated with lower local-regional control and survival after radiation therapy for head and neck cancer: A prospective study. *Radiology*.1996;201:553 –558.

- 350.- Dische S, Warburton MF, Saunders MI. Radiation myelitis and survival in the radiotherapy of lung cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*1988;15:75-81.
- 351.- Henke M, Bechtold C, Momm F, et al. Blood hemoglobin level may affect radiosensitivity-preliminary results on acutely reacting normal tissues. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*2000;48:339-345.
- 352.- Esco Baron R, Valencia Julve J, Polo Jaime S, et al. Hemoglobin levels and acute radiotherapy-induced toxicity. *Tumori.*2005;91:40-45.
- 353.- Daly T, Poulsen MG, Denham JW, et al. The effect of anaemia on efficacy and normal tissue toxicity following radiotherapy for locally advanced squamous cell carcinoma of the head and neck. *Radiother Oncol.* 2003;68:113-122.
- 354.- Casado JA, Nuñez MI, Segovia JC, et al. Non-homologous end-joining defect in fanconi anemia hematopoietic cells exposed to ionizing radiation. *Radiat Res.*2005;164:635-641.
- 355.- Cengiz M, Akbulut S, Atahan IL, et al. Acute phase response during radiotherapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.*2001;49:1093-1096.
- 356.- Koc M, Taysi S, Sezen O, et al. Levels of some Acute-Phase Proteins in the Serum of Patients with Cancer during Radiotherapy. *Biol. Pharm. Bull.* 2003;26:1494-1497.
- 357.- Hildebrandt G, Jahns J, Hindemith M, et al. Effects of low dose radiation therapy on adjuvant induced arthritis in rats. 1: *Int J Radiat Biol.* 2000;76:1143-1153.

- 358.- Chien JW, Lin CY, Yang LY. Correlation between anti-Ro/La titers and clinical findings of patients with systemic lupus erythematosus. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi (Taipei)*.2001;64:283-291.
- 359.- Mond CB, Peterson MG, Rothfield NF. Correlation of anti-Ro antibody with photosensitivity rash in systemic lupus erythematosus patients. *Arthritis Rheum*.1989;32:202-204.
- 360.- Hoffman IEA, Peene I, Meheus L, et al. Specific antinuclear antibodies are associated with clinical features in systemic lupus erythematosus. *Ann. Rheum. Dis*. 2004;63;1155-1158
- 361.- Furukawa F. Antinuclear antibody-keratinocyte interactions in photosensitive cutaneous lupus erythematosus. *Histol Histopathol*. 1999;14:627-633.
- 362.- Lankerani L, Baron ED. Photosensitivity to exogenous agents. *J Cutan Med Surg*.2004;8:424-431.
- 363.- Artuso T, Bernadou J, Meunier B, et al. DNA strand breaks photosensitized by benoxaprofen and other non steroidal antiinflammatory agents. *Biochem Pharmacol*.1990;39:407-413.
- 364.- Bradbury CM, Markovina S,Wei SJ, et al. Indomethacin-induced Radiosensitization and Inhibition of Ionizing Radiation-induced NF- κ B Activation in HeLa Cells Occur via a Mechanism Involving p38 MAP Kinase 1. *Cancer Research*.2001;61:7689–7696.
- 365.- Palayoor ST, Burgos MA, Shoaibi A, et al. Effect of radiation and ibuprofen on normoxic renal carcinoma cells overexpressing hypoxia-inducible factors by loss of von Hippel-Lindau tumor suppressor gene function. *Clin Cancer Res*.2004;10:4158-4164.

366.- Shin YK, Park JS, Kim HS, et al. Radiosensitivity enhancement by celecoxib, a cyclooxygenase (COX)-2 selective inhibitor, via COX-2-dependent cell cycle regulation on human cancer cells expressing differential COX-2 levels. *Cancer Res.*2005;65:9501-9509.

367.- Crockart N, Radermacher K, Jordan BF, et al. Tumor radiosensitization by antiinflammatory drugs: evidence for a new mechanism involving the oxygen effect. *Cancer Res.*2005;65:7911-7916.

368.- Raju U, Ariga H, Dittmann K, et al. Inhibition of DNA repair as a mechanism of enhanced radioresponse of head and neck carcinoma cells by a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, celecoxib. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2005;63:520-528.

369.- Locke JE, Bradbury CM, Wei SJ, et al. Indomethacin lowers the threshold thermal exposure for hyperthermic radiosensitization and heat-shock inhibition of ionizing radiation-induced activation of NF-kappaB. *Int J Radiat Biol.*2002;78:493-502.

370.- Mirabelli CK, Sung CM, Zimmermann JP, et al. Interactions of gold coordination complexes with DNA. *Biochem Pharmacol* 1986;35:1427-1433.

371.- Reitz M, Lorei W, Lettko M. DNA single strand-breaks in human lymphocytes after therapy with antirheumatic drugs. *Arzneimittelforschung.* 1991; 41:1141-1144.

372.- Zhao H, Cai Y, Santi S, et al. Chloroquine-mediated radiosensitization is due to the destabilization of the lysosomal membrane and subsequent induction of cell death by necrosis. *Radiat Res.*2005;164:250-257.

373.- Utley JF, Sachatello CR, Maruyama Y, et al. Radiosensitization of normal tissue by chloroquine. *Radiology.*1977;124:255-257.

- 374.- Michael RO, Williams GM. Chloroquine inhibition of repair of DNA damage induced in mammalian cells by methyl methanesulfonate. *Mutat Res.*1974;25:391-396
- 375.- Distelhorst CW. Glucocorticosteroids induce DNA fragmentation in human lymphoid leukemia cells. *Blood.*1988;72:1305-1309.
- 376.- Berger NA, Berger SJ, Sudar DC, et al. Role of nicotinamide adenine dinucleotide and adenosine triphosphate in glucocorticoid-induced cytotoxicity in susceptible lymphoid cells. *J Clin Invest.*1987;79:1558.
- 377.- Nam SY, Chung HY. The suppression of radiation-induced NF-kappaB activity by dexamethasone correlates with increased cell death in vivo. *Biochem Biophys Res Commun.* 2005;336:603-608.
- 378.- Mariotta M, Perewusnyk G, Koechli OR, et al. Dexamethasone-induced enhancement of resistance to ionizing radiation and chemotherapeutic agents in human tumor cells. *Strahlenther Onkol.* 1999;175:392-396.
- 379.- Lorico A, Toffoli G, Boiocchi M, et al. Accumulation of DNA strand breaks in cells exposed to Methotrexate or N10-propargyl-5,8-dideazafolic acid. *Cancer Res.*1988;48:2036-2041.
- 380.- Borchers AH, Kennedy DA, Straw JA. Inhibition of DNA excision repair by methotrexate in Chinese ovary cells following exposure to ultraviolet irradiation or ethylmethane sulfonate. *Cancer Res.*1990;50:1786-1789.
- 381.- Crook TR, Souhami RL, McLean AE. Cytotoxicity, DNA cross-linking, and single strands breaks induced by activated cyclophosphamide and acrolein in human leukemia cells. *Cancer Res.*1986;46:5029-5034.

382.- Pillans PI, Ponzi SF, Parker MI. Cyclophosphamide induced DNA strand breaks in mouse embryo cephalic tissue in vivo. *Carcinogenesis (Lond)*.1989;10:83-85.

383.- Vaghef H, Nygren P, Edling Ch, et al. Alkaline single-cell gel electrophoresis and human biomonitoring for genotoxicity: a pilot study on breast cancer patients undergoing chemotherapy including cyclophosphamide. *Mutation Res*.1997;395:127-138.

384.- Vaghef H, Wisen AC, Hellamn B. Demonstration of benzo(a)pyrene-induced DNA damage in mice by alkaline single-cell gel electrophoresis: Evidence for strand breaks in liver but not in lymphocytes and bone marrow. *Pharmacol Toxicol*.1996;78:37-43.

385.- Tice RR, Strauss GHS, Peters WP. High dose combination alkylating agents with autologous bone-marrow support in patients with breast cancer: preliminary assessment of DNA damage in individual peripheral blood lymphocytes using the single-cell electrophoresis assay. *Mutation Res*. 1992;271:101-113.

386.- Hartmann A, Herkommer K, Gluck M, et al. DNA-damaging effect of cyclophosphamide on human blood cells in vivo and in vitro studied with the single-cell gel test (comet assay). *Environ Mol Mutagen*.1995;25:180-187.

387.- Reitz M, Antonini-Rumpf E, Lanz E. DNA single strand breaks in peripheral human lymphocytes after anesthesia with isoflurane-nitrous oxide-oxygen. *Arzneimittelforschung*.1993;43:1258-1261.

388.- Yamanaka H, Hakoda M, Kamatani N, et al. Formation of DNA strand breaks by D-penicillamine and bucillamine in human lymphocytes. *Immunopharmacology*.1993;26:113-118.

- 389.- Zimmermann JS, Kumpf L, Kimmig B. Variability of individual normal tissue radiation sensitivity. An international empirical evaluation of endogenous and exogenous response modifiers. *Strahlenther Onkol.* 1998;174:16-19.
- 390.- Shakespeare TP, Dwyer M, Mukherjee R, et al. Estimating risks of radiotherapy complications as part of informed consent: the high degree of variability between radiation oncologists may be related to experience. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2002;54:647-653.
- 391.- Eifel PJ, Jhingran A, Bodurka DC, et al. Correlation of smoking history and other patient characteristics with major complications of pelvic radiation therapy for cervical cancer. *J Clin Oncol.* 2002;20:3651-3657.
- 392.- Hölscher T, Bentzen SM, Baumann M. Influence of connective tissue diseases on the expression of radiation side effects: A systematic review. *Radiother Oncol.* 2006;78:123-130.
- 393.- Pinn ME, Gold DG, Petersen IA, et al. Systemic lupus erythematosus, radiotherapy, and the risk of acute and chronic toxicity: The mayo clinic experience. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* (2007), doi:10.1016/j.ijrobp.2007.10.104 (article in press).
- 394.- Fu KK, Pajac TF, Trotti A, et al. A Radiation Therapy Oncology Group (RTOG) phase III randomized study to compare hyperfractionation and two variants of accelerated fractionation to standard fractionation radiotherapy for head and neck squamous cell carcinomas: First report of RTOG 9003. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2000;48:7-16.
- 395.- Pinar B, Lara PC, Lloret M, et al. Radiation-induced ADN damage as a predictor of long-term toxicity in locally advanced breast cancer patients

treated with high-dose hyperfractionated radical radiotherapy. *Radiat Res.* 2007;168:415-422.

INDICE DE ANEXOS

ANEXO 1: CRITERIOS DEL ACR DE 1982 REVISADOS EN 1997 PARA LA CLASIFICACIÓN DE LES.	209
ANEXO 2: DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.	210
ANEXO 3: FORMULARIO “PROTOCOLO ENFERMEDADES AUTOINMUNES SISTÉMICAS Y RADIOSENSIBILIDAD IN VITRO DE LINFOCITOS”.	211
ANEXO 4: SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS DISEASE ACTIVITY INDEX (SLEDAI).	221
ANEXO 5: SYSTEMIC LUPUS INTERNATIONAL COLLABORATING CLINICS (SLICC).	222

ANEXO 1.**CRITERIOS DEL ACR DE 1982 REVISADOS EN 1997 PARA LA CLASIFICACIÓN DE LES.**

1. Eritema malar	Eritema fijo, plano ó elevado sobre los pómulos
2. Eritema discoide	Placas elevadas de eritema con descamación queratósica adherente y taponamiento folicular, a veces, se observan cicatrices atróficas.
3. Fotosensibilidad	
4. Úlceras orales	Deben ser observadas por el médico.
5. Artritis	No erosiva, con afectación de 2 ó mas articulaciones periféricas
6. Serositis.	Pleuritis ó pericarditis confirmada con ECG, roce ó signos de derrame pleural ó pericárdico
7. Enfermedad renal	Proteinuria mayor de 0,5 gr./día ó 3+ ó cilindros celulares.
8. Enfermedad neurológica	Convulsiones ó psicosis sin ninguna otra causa que las justifiquen.
9. Enfermedad hematológica	Anemia hemolítica ó (leucopenia < 4000 en dos ó más ocasiones) (linfopenia < de 1500 en dos ó más ocasiones) ó (trombopenia < 100.000) después de descartar daño yatrógeno por medicamentos.
10. Trastornos inmunitarios	Presencia de anti-DNAs, anti-Sm, serologia VDRL falsamente positiva ó anticuerpos antifosfolípidos (AL y aCL) positivos.
11. Anticuerpos antinucleares positivos.	

Si se observan 4 de estos criterios, en cualquier momento de la enfermedad, el diagnóstico de lupus eritematoso sistémico se puede establecer con una especificidad de un 98% y una sensibilidad del 97%.

ANEXO 2.

DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

¿En que consiste el estudio?:

Como ya usted sabrá, la causa de su enfermedad no está totalmente bien aclarada. Se ha visto en algunos experimentos que los linfocitos, unas células de la sangre, son más sensibles a las radiaciones. Esto podría explicar en parte el porqué de su enfermedad.

Nuestro objetivo es conocer si sus linfocitos son más sensibles a la radiación.

Los resultados que se desprendan de nuestro estudio podrían beneficiar a las personas afectadas por su enfermedad, en especial a aquellas que necesitarán radioterapia por procesos independientes al que presentan en la actualidad.

Por supuesto su colaboración en dicho estudio es voluntaria. Si usted decide participar tendrá que contestar a una serie de preguntas y someterse a una simple extracción de sangre. Así mismo, queda garantizado que sus datos y resultados no serán públicos por ninguna circunstancia.

Consentimiento:

Para poder realizar este estudio necesitamos de su consentimiento, esto significa:

- Que le han sido respondidas satisfactoriamente todas las preguntas que Vd. ha planteado.
- Que ha sido informado y ha comprendido las ventajas e inconvenientes de este estudio.
- Que después de recapacitar todo lo anterior, ACEPTA participar en este estudio.

Por todo ello, firmo el presente documento:

Fdo. Paciente

Fdo. Testigo

En a de de 200...

ANEXO 3:**FORMULARIO “PROTOCOLO ENFERMEDADES AUTOINMUNES SISTÉMICAS Y RADIOSENSIBILIDAD IN VITRO DE LINFOCITOS”****FECHA:****MUESTRA:**.....**DATOS DE FILIACIÓN**

NOMBRE:

NHC:

NSS:

SEXO: Masculino FemeninoRAZA: Blanco Negro Gitano

EDAD:

DIRECCIÓN:

TELEFONO:

ANTECEDENTES FAMILIARES

ENFERMEDADES AUTOINMUNES SISTÉMICAS:

-EAS:

-PARENTESCO:

ENFERMEDADES NEOPLÁSICAS:

-NEOPLASIA:

-PARENTESCO:

-TRATAMIENTO:

 Quimioterapia Efectos secundarios (precisar): Radioterapia: Efectos secundarios (precisar):

ANTECEDENTES PERSONALES

- HIPERTENSIÓN ARTERIAL
- ATEROSCLEROSIS
- ENFERMEDAD NEOPLÁSICA:
NEOPLASIA:

AÑOS DEL DIAGNÓSTICO:
TRATAMIENTO:
 - QUIMIOTERAPIA
 - Efectos secundarios

 - RADIOTERAPIA
 - Efectos secundarios
- ENFERMEDADES GENÉTICAS:
 - ATAXIA-TELANGIECTASIA
 - ANEMIA DE FANCONI.
 - OTRAS (Especificar):
- OTRAS (Especificar):
- DIABETES MELLITUS
- HIPERLIPIDEMIAS

LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO

CRITERIOS DIAGNÓSTICOS. (Criterios ARA 1997, 4 o más):

- () Eritema facial malar.**
(Eritema fijo, plano o elevado sobre los pómulos).
- () Eritema discoide.**
(Placas elevadas de eritema con descamación queratósica adherente y taponamiento folicular, a veces cicatrices atrófica).
- () Fotosensibilidad.**
- () Úlceras orales.**
(Úlceras bucales y nasofaríngeas observadas por el médico).
- () Artritis no erosiva.**
(Artritis no erosiva con afectación de dos o más articulaciones periféricas, con dolor, tumefacción o derrame).
- () Serositis.**
(Pleuritis o pericarditis confirmadas mediante ECG, roce o signos de derrame pericárdico).
- () Enf renal:**
 - () Proteinuria >0.5 g/día o de 3+.
 - () Cilindros celulares o hemáticos en sedimento.
- () Enf neurológica:**
 - () Convulsiones sin ninguna otra causa.
 - () Psicosis sin ninguna otra causa conocida.
- () Enf hematológica (tras descartar iatrogenia medicamentosa):**
 - () Anemia hemolítica.
 - () Leucopenia (menos de $4000/\mu\text{L}$ en 2 ó más ocasiones).
 - () Linfopenia (menos de $1500/\mu\text{L}$ en 2 ó más ocasiones).
 - () Trombocitopenia (menos de $100.000/\mu\text{L}$ en 2 ó más ocasiones).
- () Alteraciones inmunitarios:**
 - () Presencia de anticoagulante lúpico.
 - () Anticuerpos anti-ADNs a título elevado.
 - () Anticuerpos anti-Sm.
 - () Pruebas serológicas falsamente + (VDRL), anticuerpos anticardiolipina positivos.
- () Anticuerpos antinucleares.**
(Título anormal de ANA mediante inmunofluorescencia o una técnica equivalente en cualquier momento, después de descartar daño por medicamentos que inducen ANA).

INDICE DE ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD (SLEDAI)

(Se determina en el momento del estudio, con referencia a los 2 meses anteriores a este. La puntuación máxima posible con esta escala corresponde a 105 puntos que se obtienen sumando los índices de cada descriptor, siempre que esté presente en el momento de la visita o en los 2 meses previos a la misma. La actividad es proporcional a la puntuación de menor a mayor).

- 1.-Ataque:** Reciente comienzo excluidas causas metabólicas, infecciosas o farmacológicas.....(8).
- 2.-Psicosis:** Habilidad funcional alterada en la normal actividad, debida a disturbios severos en la percepción de la realidad; incluidas alucinaciones, incoherencia, disminución de la asociación de ideas, contenido de pensamiento inapropiado, pensamiento ilógico, conducta bizarra, desorganizada o catatónica. Excluida la presencia de uremia o psicosis secundaria a drogas.....(8).
- 3.-Síndrome cerebral orgánico:** Función mental alterada con desorientación, trastornos de la memoria u otras funciones intelectuales; con un comienzo reciente y fluctuación de las características clínicas: También se incluyen unas capacidades cognitivas disminuidas con una reducción de la capacidad de concentración de por lo menos 2 de los siguientes: disturbio en la percepción, discurso incoherente, insomnio con somnolencia diurna, aumento o disminución de la actividad psicomotriz. Se excluirán causas metabólicas, infecciosas o medicamentosas
- 4.-Alteraciones visuales:** Alteraciones retinianas de LES: cuerpos cistoides, hemorragias retinianas, exudados serosos, hemorragias coroideas o neuritis óptica (excluidas debidas a HTA, infecciones o drogas).....(8).
- 5.-Pares craneales:** Debut de una neuropatía motora o sensorial implicándose un nervio craneal.....(8).
- 6.-Cefalea lúpica:** Cefalea severa y persistente; puede ser migrañosa y no responde a narcóticos.....(8).
- 7.-Accidente cerebrovascular:** Reciente, excluida la aterosclerosis.....(8).
- 8.-Vasculitis:** Ulceración, gangrena, nódulos en los pulpejos; infarto periungueales, hemorragias en astilla. Vasculitis confirmada por biopsia o angiografía.....(8).
- 9.-Artritis:** Más de dos articulaciones con dolor y signos de inflamación tales como hinchazón, derrame, calor.....(4).
- 10.-Cilindros:** hemáticos o granulosos.....(4).
- 11.-Miositis:** Debilidad o dolor de la musculatura proximal asociada con niveles de CPK/aldolasa elevados, cambios electromiográficos o miositis mediante biopsia.....(4).
- 12.-Hematuria:** Más de 5 hematíes por campo. Excluida otras causas (litiasis, infección).....(4).
- 13.-Proteinuria:** Más de 0,5 gr. en orina de 24 horas. Nuevo comienzo o incremento de más de 0,5 gr. en orina de 24 horas.....(4).
- 14.-Piuria:** Más de 5 leucocitos por campo. Excluida infección.....(4).
- 15.-Nuevo rash malar:** Comienzo o recurrencia de un rash de tipo inflamatorio.....(4).
- 16.-Alopecia:** Nueva o recurrente. Caída del cabello parcheada o difusa.....(2).
- 17.-Úlceras mucosas:** Comienzo o recurrencia de úlceras orales o nasales.....(2).
- 18.-Pleuritis:** Dolor torácico de características pleuríticas con presencia de roce, derrame o engrosamiento pleural.....(2).
- 19.-Pericarditis:** Dolor pericárdico con por lo menos uno de los siguientes: roce, derrame, hallazgos compatibles en el ECG o ecocardiografía.....(2).
- 20.-Hipocomplementenemia:** Una disminución de CH50, C3 o C4 (por debajo del límite inferior del rango normal del laboratorio; por ejemplo del 25%).....(2).
- 21.-Aumento del DNA "nativo":** Más del 25% por encima del rango normal de detección del laboratorio.....(2).
- 22.-Fiebre:** Más de 38°C después de excluir infección.....(1).
- 23.-Trombocitopenia:** Menos de 100.000 plaquetas (excluidas otras causas como los fármacos).....(1).
- 24.-Leucopenia:** Menos de 3.000 leucocitos/ml (excluidas otras causas como los fármacos).....(1).

TOTAL / (105)

ÍNDICE DE DAÑO CORPORAL (SLICC).

(El daño corporal se define como aquel cambio no reversible, relacionado con inflamación mediante valoración clínica y presente durante al menos seis meses. Deben transcurrir al menos seis meses para que episodios puedan puntuar dos veces. Así mismo la lesión no puede puntuar en dos veces. El SLICC está compuesto por 12 ítems representando cada uno la afectación de cada órgano. A su vez esto se subdivide cada uno en varios apartados que se puntúan dependiendo de la gravedad de cada uno)

1.-Ocular: -Catarata (primaria o secundaria a esteroides).....	(1).
-Cambio en retina o atrofia óptica (oftalmoscopio).....	(1).
2.-Neuropsiquiátrico: -Deterioro cognitivo (P.ej. déficit de memoria, dificultad para el cálculo, la concentración o para el lenguaje hablado o escrito) o psicosis Mayor.....	(1).
-Convulsiones que requieran tratamiento durante 6 meses.....	(1).
-ACV alguna vez (se puntúan 2 si ha ocurrido más de 1 vez).....	(1 ó 2).
-Neuropatía craneal o periférica (excluyendo la óptica).....	(1).
-Mielitis transversa	(1).
3.-Renal: -Filtrado glomerular estimado o medido < 50%.....	(1).
-Proteinuria > ó =3,5gr/24h.....	(1).
-Enfermedad renal en estadio final (diálisis o trasplante).....	(3).
4.-Pulmonar: -Hipertensión pulmonar (ventrículo derecho prominente o P2 fuerte).....	(1).
-Fibrosis pulmonar (clínica y radiográfica).....	(1).
-Pulmón encogido (Rx).....	(1).
-Fibrosis pleural (Rx).....	(1).
-Infarto pulmonar (Rx).....	(1).
5.-Cardiovascular: -Angina o by-pass coronario	(1).
-IAM alguna vez (puntuar 2 si más de 1 ocasión).....	(1 ó 2).
-Miocardiopatía (disfunción ventricular documentada clínicamente).....	(1).
-Valvulopatía (soplos sistólico >3/6).....	(1).
-Pericarditis durante 6 meses o pericardiectomía.....	(1).
6.-Vascular periférico: -Claudicación durante 6 meses.....	(1).
-Pérdida tisular pequeña (pulpejos).....	(1).
-Pérdida tisular significativa alguna vez (p.ej. pérdida de un dedo, del brazo (puntuar 2 si más de 1 sitio).....	(1 ó 2).
-Trombosis venosa con edema, estasis venoso o ulceración.....	(1).
7.-Gastrointestinal: -Infarto o resección de: intestino por debajo del duodeno, bazo, hígado o vesícula, por cualquier causa (puntuar 2 si más de un sitio).....	(1 ó 2).
-Insuficiencia mesentérica clínica.....	(1).
-Peritonitis crónica.....	(1).
-Estenosis o cirugía del tracto gastrointestinal superior.....	(1).
8.-Musculoesquelético: -Debilidad o atrofia muscular (en la exploración clínica).....	(1).
-Artritis deformante o erosiva (incluyendo deformidades reductibles, excluyendo necrosis avascular).....	(1).
-Osteoporosis con fractura o colapso vertebral (Rx) (excluyendo necrosis avascular).....	(1).
-Necrosis avascular (por imagen) (puntuar 2 si más de una).....	(1 ó 2).
-Osteomielitis (clínica más cultivos).....	(1).
9.-Piel: -Alopecia crónica cicatricial.....	(1).
-Cicatrices extensas fuera del cuello cabelludo y pulpejos.....	(1).
-Úlcera cutánea (excluyendo trombosis) > de 6 meses.....	(1).
10.-Insuficiencia gonadal prematura. Amenorrea secundaria, antes de los 40 años.....	(1).
11.-Diabetes: -Que precise tratamiento.....	(1).
12.-Cancer: -Puntuar 2 si más de un sitio (excluida la displasia).....	(1 ó 2).

TOTAL / 47.

ANAMNESIS / EXPLORACIÓN BÁSICA

Años de evolución de la enfermedad:

Número de órganos afectados:

- Cutáneo. Articular. Hematológico Renal.
- Neuropsiquiátrico. Pleuropulmonar Antifosfolípido.
- General Cardiovascular. Musculoesquelético.
- Gastrointestinal Analítico Vascular periférico

Trasplante renal:

Manifestaciones cutáneas:

- Eritema malar: eritema facial difuso, de periferia mal definida y a veces edematosos, que respeta pliegue nasolabial.
- Elementos discoides crónicas: placas eritematosas con escamas adherentes y tapones foliculares, que pueden llegar a producir cicatrices atróficas en elementos antiguos (característicamente los tres elementos juntos de forma centrípeta), localizados en cara, dorso de las manos, pies, codos y rodillas.
- Psoriasiforme subaguda: pequeñas pápulas eritematoescamosas que surgen aisladas y acaban agrupándose.
- Anular-policíclica subaguda: elementos que se expanden periféricamente produciendo lesiones anulares tendentes a coalescer y constituir elementos policíclicos o figurados con hipopigmentación grisácea en el centro.
- Eritema con telangiectasias en pulpejo de dedos y palmas.
- Hemorragias puntiformes o necrosis periungueales.
- Dilataciones vasculares en repliegue supraungueal por capilaroscopia
- Alopecia difusa transitoria durante los brotes (pelo “desgreñado” en región frontal).
- Placas poiquilodérmicas en tronco y miembros.
- Púrpura en forma de petequias centradas por punto acrómico en dedos.
- Fotosensibilidad: Elementos eritematosos en cara, manos y escote, en relación con la luz solar.
- Telangiectasias males.

Fotoprotección.

ANALÍTICA BÁSICA

Hemoglobina:
Plaquetas:
Leucocitos:
PMN / Linfocitos:
VSG:
Creatinina:
Urea:
GOT / GPT:
CPK:
LDH:
PCR:
Orina: Proteinuria:
 Hematuria:
 Leucocitos:
 Sedimento:

AUTOINMUNIDAD

() ANA Título.....: Patrón.....
() Anti DNA nativo.....:
() Anti SM:
() Anti RNP:
() Anti Ro (SSA):
() Anti LA (SSB):
() Anti Scl-70:

FACTOR REUMATOIDE:

COMPLEMENTO:

C3:

C4:

TRATAMIENTO.

Observaciones	Dosis actual	Dosis acumulada
<input type="checkbox"/> Prednisona (Dacortín):		
<input type="checkbox"/> Cloroquina (Rechosin):		
<input type="checkbox"/> Hidroxicloroquina (Plaquenil):		
<input type="checkbox"/> AINES:		
<input type="checkbox"/> Ciclofosfamida:		
<input type="checkbox"/> Colchicina:		
<input type="checkbox"/> Azatioprina (Imurel):		
<input type="checkbox"/> Metotrexate:		
<input type="checkbox"/> Danazol:		
<input type="checkbox"/> Ciclosporina (Sandimum):		
<input type="checkbox"/> Sales de oro:		
<input type="checkbox"/> Clorambucil:		
<input type="checkbox"/> D-Penicilamina:		
<input type="checkbox"/> Inmunoglobulinas:		
<input type="checkbox"/> Mycophenolate-mofetil (Cellcept):		
<input type="checkbox"/> Sulfonas:		
<input type="checkbox"/> OTROS ACTUALES:		
AAS	AINE	Anticoagulante oral(ACO)
IBP	Benzodiacepinas	Levotiroxina Estatina
Calcio	Bifosfonato	Betabloqueante Antagonista del calcio
Diurético	IECA	ARA-2
Otros:		

PROCESOS INTERCURRENTES EN LA ACTUALIDAD:
(Tipo, tº de evolución, tratamiento)

--

OBSERVACIONES.

--

HOJA DE RECOGIDA DE DATOS DE LA HISTORIA ANTIGUA

	<u>SÍNTOMAS / ANALÍTICA</u>	<u>AÑO</u>	<u>TRATAMIENTO</u>
INICIO			
SEGUIMIENTO			
ÚLTIMA REVISIÓN ANTES DE EXTRACCIÓN			
ÚLTIMA REVISIÓN TRAS EXTRACCIÓN			

ANEXO 4.**SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS DISEASE ACTIVITY INDEX****(SLEDAI):**

- 1- ATAQUE: Reciente comienzo excluidas causas metabólicas, infecciosas o farmacológicas. (8).
- 2- PSICOSIS: Habilidad funcional alterada en la norma actividad, debida a disturbios severos en la percepción de la realidad; incluidas alucinaciones, incoherencia, disminución de la asociación de ideas, contenido de pensamiento inapropiado, pensamiento ilógico, conducta bizarra, desorganizada o catatónica. Excluida la presencia de uremia o psicosis secundaria a drogas. (8).
- 3- SÍNDROME CEREBRAL ORGÁNICO: Función mental alterada con desorientación, trastornos de memoria u otras funciones intelectuales; con un comienzo reciente y fluctuación de las características clínicas. También se incluyen unas capacidades cognitivas disminuidas con una reducción de la capacidad de concentración y por lo menos 2 de los siguientes: disturbio en la percepción, discurso incoherente, insomnio con somnolencia diurna, aumento ó disminución de la actividad psicomotriz. Se excluirán causas metabólicas, infecciosas o medicamentosas. (8).
- 4- ALTERACIONES VISUALES: Alteraciones retinianas de LES: cuerpos citoides, hemorragias retinianas, exudados serosos, hemorragias coroideas o neuritis óptica (excluidas las debidas a HTA, infecciones ó drogas). (8).
- 5- PARES CRANEALES: Debut de una neuropatía motora o sensorial implicándose un nervio craneal. (8).
- 6- CEFALEA LÚPICA: Cefalea severa y persistente; puede ser migrañosa y no responde a analgésicos narcóticos. (8).
- 7- ACCIDENTE CEREBROVASCULAR: Reciente, excluida la arteriosclerosis. (8).
- 8- VASCULITIS: Ulceración, gangrena, nódulos en los pulpejos; infarto periungueales, hemorragias en astilla. Vasculitis confirmada por biopsia o angiografía. (8).
- 9- ARTRITIS: Mas de dos articulaciones con dolor y signos de inflamación tales como hinchazón, derrame, calor. (4).
- 10- CILINDROS: hemáticos ó granulosos. (4).
- 11- MIOSITIS: Debilidad o dolor de la musculatura proximal asociada con niveles de CPK/aldolasa elevados, cambios electromiográficos ó miositis mediante biopsia. (4).
- 12- HEMATURIA: Más de 5 hematies por campo. Excluida otras causas (litiasis, infección). (4).
- 13- PROTEINURIA: Más de 0,5 gr. en orina de 24 horas. Nuevo comienzo o incremento de más de 0,5 gr. en orina de 24 horas. (4).
- 14- PIURIA: Más de 5 leucocitos por campo. Excluida infección. (4).
- 15- NUEVO RASH MALAR: Comienzo o recurrencia de un rash de tipo inflamatorio. (2).
- 16- ALOPECIA: Nueva ó recurrente. Caída del cabello parcheada ó difusa. (2).
- 17- ULCERAS MUCOSAS: Comienzo ó recurrencia de úlceras orales ó nasales. (2).
- 18- PLEURITIS: Dolor torácico de características pleuríticas con presencia de roce, derrame ó engrosamiento pleural. (2).
- 19- PERICARDITIS: Dolor pericárdico con por lo menos uno de las siguientes: roce, derrame, hallazgos compatibles en el ECG ó Ecocardiografía. (2).
- 20- HIPOCOMPLEMENTEMIA: Una disminución de CH50, C3 ó C4 (por debajo del límite inferior del rango normal del laboratorio; por ejemplo del 25%). (2).
- 21- AUMENTO DEL DNA "NATIVO": Más del 25% por encima del rango normal de detección del laboratorio. (2).
- 22- FIEBRE: Más de 38°C después de excluir infección. (1).
- 23- TROMBOCITOPENIA: Menos de 100.000 plaquetas (excluidas otras causas como los fármacos). (1).
- 24- LEUCOPENIA: Menos de 3000 leucocitos /ml (excluidas otras causas como los fármacos.) (1).

(Se determina en el momento del estudio, con referencia a los 2 meses anteriores a este. La puntuación máxima posible con esta escala corresponde a 105 puntos que se obtienen sumando los índices de cada descriptor, siempre que esté presente en el momento de la visita o en los 2 meses previos a la misma. La actividad es proporcional a la puntuación de menor a mayor).

ANEXO 5.

SYSTEMIC LUPUS INTERNATIONAL COLLABORATING CLINICS (SLICC).

- 1) OCULAR:
 - Catarata (primaria ó secundaria a esteroides) (1)
 - Cambio en la retina ó atrofia óptica (oftalmoscopio) (1)
- 2) NEUROPSIQUIÁTRICO:
 - Deterioro cognitivo (por ej. déficit de memoria, dificultad para el cálculo, la concentración ó para el lenguaje hablado ó escrito) ó psicosis mayor (1)
 - Convulsiones que requieran tratamiento durante 6 meses (1)
 - ACV alguna vez (se puntúan 2 si ha ocurrido más de 1 vez) (1 ó 2)
 - Neuropatía craneal ó periférica (excluyendo la óptica) (1)
 - Mielitis transversa (1)
- 3) RENAL:
 - Filtrado glomerular estimado ó medido < 50% (1)
 - Proteinuria > ó = 3,5 gr /24 h (1)
 - Enfermedad renal en estadio final (diálisis ó transplante) (3)
- 4) PULMONAR:
 - Hipertensión pulmonar (ventrículo derecho prominente ó P2 fuerte) (1)
 - Fibrosis pulmonar (clínica y radiográfica) (1)
 - Pulmón encogido (Rx) (1)
 - Fibrosis pleural (Rx) (1)
 - Infarto pulmonar (Rx) (1)
- 5) CARDIOVASCULAR:
 - Angina ó by-pass coronario (1)
 - IAM alguna vez (puntuar 2 si más de 1 ocasión) (1 ó 2)
 - Miocardiopatía (disfunción ventricular documentada clínicamente) (1)
 - Valvulopatía (soplos sistólico ó diastólico > 3/6) (1)
 - Pericarditis durante 6 meses ó pericardiectomía (1)
- 6) VASCULAR PERIFÉRICO:
 - Claudicación durante 6 meses (1)
 - Pérdida tisular pequeña (pulpejos) (1)
 - Pérdida tisular significativa alguna vez (por ejemplo: pérdida de un dedo, del brazo) (puntuar 2 si más de un sitio) (1 ó 2)
 - Trombosis venosa con edema, ulceración, ó estasis venoso (1)
- 7) GASTROINTESTINAL:
 - Infarto ó resección de: intestino por debajo del duodeno, bazo, hígado ó vesícula, por cualquier causa (puntuar 2 si más de uno) (1 ó 2)
 - Insuficiencia mesentérica clínica (1)
 - Peritonitis crónica (1)
 - Estenosis o cirugía del tracto gastrointestinal superior (1)
- 8) MUSCULOESQUELÉTICO:
 - Debilidad o atrofia muscular (en la exploración clínica) (1)
 - Artritis deformante o erosiva (incluyendo deformidades reductibles, excluyendo necrosis avascular) (1)
 - Osteoporosis con fractura o colapso vertebral (Rx), (excluyendo necrosis avascular) (1)
 - Necrosis avascular (por imagen) (puntuar 2 si más de una) (1 ó 2)
 - Osteomielitis (clínica más cultivos) (1)
- 9) PIEL:
 - Alopecia crónica cicatricial (1)
 - Cicatrices extensas fuera del cuero cabelludo y pulpejos (1)
 - Ulcera cutánea (excluyendo trombosis) > de 6 meses (1)
- 10) INSUFICIENCIA GONADAL PREMATURA (Amenorrea secundaria, antes de los 40 años) (1)
- 11) DIABETES (que precise tratamiento) (1)
- 12) CANCER (excluida la displasia) (puntuar 2 si más de un sitio) (1 ó 2)

(El daño corporal se define como aquel cambio no reversible, relacionado con inflamación mediante valoración clínica y presente durante al menos seis meses. Deben transcurrir al menos seis meses para que episodios puedan puntuar dos veces. Así mismo la lesión no puede puntuar en dos veces. El SLICC está compuesto por 12 items representando cada uno la afectación de cada órgano. A su vez esto se subdivide cada uno en varios apartados que se puntúan dependiendo de la gravedad de cada uno).

