

UCUENCA

Universidad de Cuenca

Facultad de Ciencias Médicas

Carrera de Laboratorio Clínico

**FRECUENCIA DE PATRONES DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES ANA
MEDIANTE INMUNOFLOURESCENCIA INDIRECTA Y SU RELACIÓN CON EL
DESARROLLO DE ENFERMEDADES AUTOINMUNES EN PACIENTES
ATENDIDOS EN EL HOSPITAL VICENTE CORRAL MOSCOSO. ENERO 2019 -
DICIEMBRE 2020.**

Trabajo de titulación previo a la
obtención del título de Licenciado
en Laboratorio Clínico.

Modalidad: Proyecto de
investigación.

Autores:

Joselyne Dayan Tenesaca Gamboa

Marco Sebastián Pasato Álvarez

Director:

Juan Carlos Patiño Mogrovejo

ORCID: 0000-0002-0398-0943

Cuenca, Ecuador

2023-03-02

Resumen

Antecedentes: las enfermedades autoinmunes afectan a un 3-5% de la población general, la escasa información regional y diagnóstica ha generado un índice epidemiológico bajo. Los anticuerpos antinucleares ANA tienen una alta frecuencia en las enfermedades autoinmunes, su identificación mediante inmunofluorescencia indirecta automatizada proporciona información útil en el diagnóstico y seguimiento del paciente.

Objetivo: determinar la frecuencia de patrones de anticuerpos antinucleares ANA mediante inmunofluorescencia indirecta y su relación con el desarrollo de enfermedades autoinmunes en pacientes atendidos en el Hospital Vicente Corral Moscoso. Enero 2019 - diciembre 2020.

Metodología: se realizó un estudio de tipo descriptivo retrospectivo, el universo estuvo conformado por los pacientes con diagnóstico de enfermedades autoinmunes atendidos en el Hospital Vicente Corral Moscoso. La información fue interpretada a través de tablas y gráficos estadísticos utilizando los programas Excel, IBM SPSS para el análisis y tabulación de datos.

Resultados: la frecuencia de anticuerpos antinucleares ANA fue del 19,83%; se observó un predominio del sexo femenino (89,72%) al igual que el grupo de edad entre 27 a 64 años (66,18%). En la población de estudio el patrón con mayor frecuencia fue el nuclear granular fino AC-4 (26,57%) y la enfermedad autoinmune más frecuente fue lupus eritematoso sistémico (45,41%).

Conclusión: en la población de estudio se observó que la mayor frecuencia de anticuerpos antinucleares ANA positivo fue en el sexo femenino, en la edad adulta, el patrón más común fue el nuclear granular fino AC-4 que se relacionó a lupus eritematoso sistémico.

Palabras clave: autoinmunidad, anticuerpos antinucleares, inmunofluorescencia, enfermedades autoinmunes, células HEp-2

Abstract

Background: autoimmune diseases affect 3-5% of the general population, the scarce regional and diagnostic information has generated a low epidemiological index. Antinuclear antibodies ANA have a high frequency in autoimmune diseases, their identification by automated indirect immunofluorescence provides useful information in the diagnosis and follow-up of the patient.

Objective: to determine the frequency of antinuclear antibody ANA patterns by indirect immunofluorescence and its relationship with the development of autoimmune diseases in patients treated at the Vicente Corral Moscoso Hospital. January 2019 - december 2020.

Methodology: a retrospective descriptive study was carried out; the universe was made up of patients diagnosed with autoimmune diseases treated at the Vicente Corral Moscoso Hospital. The information was interpreted through tables and statistical graphs using Excel, IBM SPSS programs for data analysis and tabulation.

Results: the frequency of antinuclear antibodies ANA was 19,83%; a predominance of the female sex (89,72%) was observed, as well as the age group between 27 to 64 years (66,18%). In the study population, the most frequent pattern was nuclear fine speckled AC-4 (26,57%) and the most frequent autoimmune disease was systemic lupus erythematosus (45,41%).

Conclusion: in the study population, it was observed that the highest frequency of positive antinuclear antibodies ANA was in females, in adulthood, the most common pattern was nuclear fine speckled AC-4, which was related to systemic lupus erythematosus.

Keywords: autoimmunity, antinuclear antibodies, immunofluorescence, autoimmune diseases, HEp-2 cells

Índice de contenidos

Resumen	2
Abstract	3
Agradecimiento	8
Dedicatoria	9
Capítulo I	12
1.1. Introducción	12
1.2. Planteamiento del problema.....	13
1.3. Justificación	15
Capítulo II	16
2.1. Fundamento teórico.....	16
2.1.1. Sistema inmunológico.....	16
2.1.2. Tolerancia inmunológica.....	16
2.1.3. Autoinmunidad	18
2.1.4. Factores que promueven el desarrollo de enfermedades autoinmunes.	19
2.1.5. Características generales.....	19
2.1.6. Clasificación de las enfermedades autoinmunes.....	20
2.1.7. Anticuerpos antinucleares (ANA)	20
2.1.8. Patrones de inmunofluorescencia en los anticuerpos antinucleares	20
2.1.9. Inmunofluorescencia indirecta (IFI)	26
2.1.10. Inmunofluorescencia indirecta automatizada.....	27
2.1.11. AESKUBLOTS ANA-17 Pro	28
Capítulo III	30
3. Objetivos.....	30
3.1. Objetivo general.....	30
3.2. Objetivos específicos.....	30
Capítulo IV	31
4. Diseño metodológico	31

4.1. Tipo de estudio	31
4.2. Área de estudio.....	31
4.3. Universo y muestra.....	31
4.4. Criterios de inclusión y exclusión	31
4.5. Variables.....	31
4.6. Operacionalización de variables	32
4.7. Métodos, técnicas e instrumentos.....	32
4.8. Procedimientos.....	32
Capítulo V.....	35
5.1. Análisis e interpretación de los resultados	35
Capítulo VI.....	46
6.1. Discusión	46
Capítulo VII.....	49
7.1. Conclusiones	49
7.2. Recomendaciones.....	49
Referencias bibliográficas	50
Anexos	54
Anexo A. Clasificación de las enfermedades autoinmunitarias	54
Anexo B. Especificidad antigénica en enfermedades autoinmunes.....	55
Anexo C. Nomenclatura y árbol de clasificación de patrones ANA en células HEp-2 por ICAP, 2021.....	57
Anexo D Patrones nucleares (AC-1 a AC-14, AC-29)	58
Anexo E Patrones citoplasmáticos (AC-15 a AC-23).....	59
Anexo F. Patrones mitóticos (AC-24 a AC-24)	60
Anexo G. Matriz de operacionalización de variables.	61
Anexo H. Formulario de recolección de datos.	63
Anexo I. Oficio de autorización gerencia.....	64
Anexo J. Oficio Unidad de Docencia e investigación HVCM.....	65

Índice de figuras

Figura 1. Frecuencia de expresividad de patrones ANA por IFI.	39
Figura 2. Frecuencia de subtipos de antígenos asociados a anticuerpos antinucleares ANA.	42

Índice de tablas

Tabla 1. Frecuencia de anticuerpos antinucleares ANA mediante IFI en el Hospital Vicente Corral Moscoso enero 2019-diciembre 2020.	35
Tabla 2. Características sociodemográficas de los pacientes con diagnóstico positivo de anticuerpos antinucleares ANA en el Hospital Vicente Corral Moscoso.	36
Tabla 3. Frecuencia de enfermedades autoinmunes en el Hospital Vicente Corral Moscoso, período 2019-2020.....	37
Tabla 4. Frecuencia de expresividad de patrones ANA por IFI.	38
Tabla 5. Títulos de anticuerpos antinucleares ANA.	40
Tabla 6. Frecuencia de subtipos de antígenos asociados a anticuerpos antinucleares ANA.	41
Tabla 7. Patrones antinucleares ANA y su expresión de subtipos en el Hospital Vicente Corral Moscoso período 2019-2020.	43
Tabla 8. Enfermedades autoinmunes y su relación con la expresión del patrón de fluorescencia de anticuerpos antinucleares ANA en el Hospital Vicente Corral Moscoso período 2019-2020.....	45

Agradecimiento

Primeramente, doy gracias a Dios por haberme permitido llegar a este momento y por haberme brindado fortaleza para seguir adelante en cada etapa de mi vida.

Gracias a mis padres por todo lo que han hecho por mí, por ser mi fuerza y mi lugar seguro cuando me enfrento ante cualquier adversidad.

Gracias a la Dra. Sandra Sempertegui (+) y al Lcdo. Daniel Idrovo por el apoyo, los consejos y la ayuda brindada en la realización de este proyecto.

Al Lcdo. Juan Patiño, tutor de tesis por haber confiado en nuestro proyecto y habernos guiado, apoyado y alentado a concluirlo de la mejor manera.

A mi compañero de tesis Marco por la buena predisposición y por haber hecho de mi estadía en la Universidad mucho más llevadera, gracias por la amistad brindada.

Finalmente, agradezco a todos los docentes de la carrera de laboratorio clínico por los conocimientos brindados durante mi formación profesional.

Joselyne Dayan Tenesaca Gamboa

Dedicatoria

Este trabajo de titulación se la dedico con todo mi amor y cariño a:

Mis padres Segundo y Norma quienes con su amor, esfuerzo y apoyo incondicional han sabido guiarme y sacarme adelante a pesar de cualquier dificultad que se ha presentado en el camino.

Mis hermanos Christian, Aton y Zoe por las palabras de aliento y las demostraciones de cariño que sirvieron de motivación para la culminación de mi carrera universitaria.

Mis abuelitos Ángel y Mariana que con sus oraciones y consejos me han acompañado y ayudado a cumplir muchos sueños y metas.

Mi esposo Daniel por alentarme y acompañarme siempre en los momentos difíciles y por celebrar conmigo cada triunfo; eres el mejor compañero de vida porque a pesar de que has tenido que poner en pausa muchos sueños y metas personales, me has motivado y ayudado de diferentes maneras a cumplir los míos.

Mi hijo Dereck por ser el motor de mi vida, mi mayor motivación e inspiración para nunca rendirme y sacar lo mejor de mí. Te amo mi pequeño.

Joselyne Dayan Tenesaca Gamboa

Agradecimiento

El presente trabajo de tesis primeramente doy gracias a Dios quien con su bendición ha permitido que cumpla los sueños y metas de mi vida.

Gracias a mis padres que siempre con su apoyo incondicional y cariño me han motivado a perseguir mis metas. Fueron sus esfuerzos que me permitieron seguir mis estudios y formar en mí la persona que soy hoy.

Al Lcdo. Juan Patiño, tutor de tesis por su dirección, tiempo, paciencia y sugerencias brindadas a este trabajo. Gracias por su apoyo profesional invaluable y conocimientos que nos permitieron concluir de la mejor manera esta investigación.

Gracias al Lcdo. Fernando Pasato por su apoyo, orientación y participación en el desarrollo de esta tesis. A la Dra. Sandra Sempertegui (+) y al Lcdo. Daniel Idrovo por la ayuda brindada en la realización de este proyecto.

Asimismo, mi sincero agradecimiento a mi compañera de tesis Joselyne por su apoyo moral y humano, con quien he compartido proyectos e ilusiones durante estos años de mi estadía en la universidad, gracias por su amistad.

Finalmente, agradezco a todos los docentes de la Carrera de Laboratorio Clínico quienes con la enseñanza de sus valiosos conocimientos hicieron que pueda crecer día a día como profesional.

Marco Sebastián Pasato Álvarez

Dedicatoria

Esta tesis está dedicada a:

A mis padres Julio y Rosario quienes con su paciencia, esfuerzo y apoyo me han permitido cumplir un sueño más de mi vida, gracias por inculcar en mí su ejemplo de esfuerzo y dedicación.

A mis hermanos(a) y sobrinos(a) por su cariño y apoyo incondicional, por estar conmigo en todo momento, por sus consejos y palabras de aliento que hicieron de mí una mejor persona, siempre me han acompañado en todos mis sueños y metas.

Marco Sebastián Pasato Álvarez

Capítulo I

1.1. Introducción

El sistema inmune cumple un mecanismo muy amplio al proteger al organismo de agentes extraños, actuando como una línea de defensa y así evitando el desarrollo de una patología o enfermedad. La tolerancia inmunológica es otro mecanismo fundamental que permite discriminar lo propio de lo extraño, garantizando una homeostasis inmunológica; la pérdida de este último mecanismo desencadena el desarrollo de la autoinmunidad y como resultado la aparición de trastornos autoinmunes. Las enfermedades autoinmunes son un grupo de enfermedades crónicas caracterizadas por la pérdida de la tolerancia y la alta expresión de autoanticuerpos que en ocasiones es letal (1).

Los anticuerpos antinucleares (ANA) son autoanticuerpos característicos de una enfermedad autoinmune que atacan autoproteínas situadas en el núcleo celular; esto es de gran interés en el diagnóstico temprano, pronóstico y el desarrollo a la respuesta del tratamiento. Un resultado positivo es indicativo de una enfermedad autoinmune, entre las más comunes podemos destacar: lupus eritematoso sistémico, artritis reumatoide, síndrome de Sjögren, esclerosis sistémica progresiva y polimiositis. La inmunofluorescencia indirecta es el método gold standard para la identificación de anticuerpos ANA en muestras de sangre gracias a su alta especificidad y sensibilidad, ya que permite visualizar patrones de fluorescencia que se correlacionan con subtipos de ANA, el patrón y el título a identificar; conduciendo al diagnóstico de una determinada enfermedad autoinmune (2).

1.2. Planteamiento del problema

El estudio de los anticuerpos antinucleares ANA en la actualidad es una técnica de diagnóstico muy útil en los pacientes que presentan una enfermedad de origen autoinmune, sin embargo, existe un bajo número de estudios epidemiológicos en nuestro país que proporcionen información con referencia a la expresividad de anticuerpos antinucleares ANA. Un estudio realizado en Cuenca en el año 2018 con la participación de 860 pacientes con diagnóstico de enfermedades autoinmunes, demostró el uso de anticuerpos antinucleares ANA en el diagnóstico, en donde de la población estudiada el 76.51 % presentó un diagnóstico de artritis reumatoide, donde la frecuencia de los anticuerpos antinucleares ANA fue del 9.88%; el 13,14% fue diagnosticado con lupus eritematosos sistémico, con una frecuencia de anticuerpos antinucleares ANA del 75,22 %; el 7,33% fue diagnosticado con síndrome de Sjögren, con una frecuencia de anticuerpos antinucleares ANA del 30,19 % y un 3,02% de la población estudiada fue diagnosticada con esclerosis sistémica con una frecuencia de anticuerpos antinucleares ANA del 73,08%. Un 81,6% de la población estudiada corresponde al género femenino (3).

La investigación realizada en Quito en el año 2018 a pacientes con sospecha clínica de enfermedades autoinmunes estuvo conformada por 540 muestras sanguíneas para determinación de anticuerpos antinucleares ANA mediante inmunofluorescencia indirecta usando la plataforma HELIOS, donde se obtuvo una prevalencia de 27,9%; la población más afectada fue el género femenino, el patrón granular fino (AC-4) fue el más frecuente con un 35,7%. A lo que podemos comparar con otro estudio realizado en EE.UU en el año 2020 con la participación de 14.211 pacientes con una sospecha clínica de enfermedad autoinmune, donde existió una prevalencia de anticuerpos antinucleares ANA del 15,9 %, al igual que en el estudio anterior la población femenina fue la más afectada con una prevalencia del 67,10%, en los dos estudios el método de preferencia para la investigación de anticuerpos antinucleares ANA fue mediante ensayos de inmunofluorescencia indirecta estándar en células HEp-2. Los diversos estudios han demostrado una frecuencia variable de anticuerpos ANA en la población general, estos datos son validados con referencias obtenidas de otra población no ecuatoriana debido a los pocos estudios en el país que no permiten obtener datos referente a la expresividad de anticuerpos antinucleares ANA con las características étnicas de nuestro entorno; razón por la cual la presente busca establecer la prevalencia de expresividad de los anticuerpos antinucleares ANA en la población afectada por trastornos autoinmunes (4,5).

Los anticuerpos antinucleares ANA son una herramienta clave para la detección y diagnóstico de enfermedades autoinmunes debido a que son capaces de reconocer múltiples antígenos

intracelulares y especificidades nucleares como el ácido desoxirribonucleico o ribonucleoproteínas. Las enfermedades autoinmunes afectan entre el 3 al 5% de la población mundial, con una incidencia de 90 por cada 100000 habitantes y una frecuencia de 3225 por cada 100000 habitantes, con mayor preferencia en mujeres en edad reproductiva. Los anticuerpos antinucleares ANA se asocian con frecuencia con las siguientes enfermedades autoinmunes: lupus eritematoso sistémico (LES), artritis reumatoide (AR), síndrome de Sjögren (SS), esclerosis sistémica (ES), miopatía inflamatoria (MI), enfermedades mixtas del tejido conjuntivo (EMTC), polimiositis (PM)/ dermatomiositis (DM) y hepatitis autoinmune (HAI). LES es una de las enfermedades autoinmunes con mayores casos a nivel mundial donde los títulos positivos de ANA presentan una sensibilidad del 98% y una especificidad del 60%. Pueden existir títulos positivos de ANA en enfermedades oncológicas, infecciosas e incluso en individuos sanos; la interpretación toma varios aspectos tales como la clínica del paciente, su sintomatología, edad, sexo, títulos y patrón específico (6-8).

El método de elección para la detección de anticuerpos antinucleares ANA en enfermedades autoinmunes es la inmunofluorescencia indirecta; este método utiliza células epiteliales humanas tipo 2 (HEp-2) para la identificación de anticuerpos antinucleares ANA presentes en el suero del paciente, este complejo es teñido con antiinmunoglobulina marcadas con fluoresceína. El resultado de esta técnica es visualizado con un microscopio de fluorescencia. Este método proporciona información del patrón morfológico (nucleares, citoplasmáticos y mitóticos) y la cantidad de anticuerpos (titulación); ciertos patrones se asocian con una determinada enfermedad autoinmune siendo útil para el diagnóstico en el paciente (9).

Razón por la cual consideramos importante responder a la interrogante ¿Cuál es la frecuencia de patrones de anticuerpos antinucleares ANA mediante inmunofluorescencia indirecta y su relación con el desarrollo de enfermedades autoinmunes en pacientes atendidos en el Hospital Vicente Corral Moscoso, enero 2019 - diciembre 2020?

1.3. Justificación

Las enfermedades autoinmunes afectan entre un 3 al 5% de la población en general con mayor frecuencia en el sexo femenino en un 80% especialmente en edad reproductiva, tiene una incidencia del 90 por cada 100.000 pacientes y una prevalencia de 3.225 por cada 100.000 habitantes. Estas enfermedades crónicas tienen un alto efecto en la sociedad disminuyendo la calidad de vida. Una de las enfermedades más comunes en los hispanoamericanos es el lupus eritematoso sistémico, que se puede presentar a inicios de la juventud hasta los 40 años con una prevalencia de 40 a 200 casos por cada 100.000 habitantes; por lo que un diagnóstico y tratamiento oportuno disminuye su morbilidad. Afecta de forma significativa el sistema de salud y la sociedad (10,11).

El diagnóstico de enfermedades autoinmunes ha presentado un reto para el personal médico; la identificación de anticuerpos ANA ha ido evolucionando a lo largo de estos últimos años mejorando sus alcances al establecer anticuerpos propios de cada enfermedad autoinmune. La prueba gold standard para el cribado de enfermedades autoinmunes es la detección de anticuerpos antinucleares ANA; la inmunofluorescencia indirecta (IFI) en células HEp-2 es la técnica más utilizada para la detección de ANA debido a su fácil accesibilidad y reproducción; siendo de gran ayuda en el diagnóstico, predicción, seguimiento y guía en el pronóstico de las diferentes enfermedades autoinmunes (12,13).

En nuestra región son bajos los estudios que valoren la utilidad de los anticuerpos antinucleares ANA, a pesar de que la prueba aporta información clínica muy importante en el cribado y diagnóstico de pacientes con enfermedades autoinmunes. El presente estudio aportará información local actualizada en cuanto a frecuencia de patrones de anticuerpos antinucleares ANA en pacientes con enfermedades autoinmunes, siendo de gran aporte en el diagnóstico oportuno por parte del personal médico y en el área de laboratorio de inmunología que son los responsables del procedimiento e interpretación de los resultados de la prueba de anticuerpos antinucleares ANA. Este estudio proporcionará material base para el desarrollo de nuevos estudios que puedan contribuir con la temática en la población local. Además, el tema de investigación planteado se enmarca en las líneas de investigación de la Facultad de Ciencias Médicas 2020-2025 apartado 5 de enfermedades crónicas no transmisibles.

Capítulo II

2.1. Fundamento teórico

2.1.1. Sistema inmunológico

La inmunidad hace referencia al latín *inmunitas* que según los romanos era la protección frente a procesos legales; en la actualidad este término se refiere a la protección frente a enfermedades infecciosas. Esta característica tan notable de defender al organismo lo efectúa gracias a células y moléculas especializadas a lo que se le denomina sistema inmunológico; que al coordinar e iniciar una respuesta ante el agente extraño como proteínas, polisacáridos o agentes químicos que independientemente de cada reacción, se genera una respuesta inmunitaria. Sin embargo, moléculas propias del organismo pueden generar una respuesta inmune denominada respuesta autoinmunitaria (14).

El sistema inmune constituye un sistema de defensa, neutralización y eliminación de agentes extraños mediante dos tipos de respuestas inmunes; la respuesta inmune innata es la primera barrera de defensa que está conformada por la barrera epitelial y células efectoras como los granulocitos, mastocitos, macrófagos, células dendríticas, células NK, células NKT, las mismas proporcionan una defensa temprana contra la infección y a su vez pueden potenciar a la segunda respuesta inmune denominada adaptativa la cual es más específica al estar compuesta por células T CD4+, T CD8+ y linfocitos B; que le confieren memoria al sistema inmune ante un mismo patógeno gracias a la síntesis de antígenos, siendo más especializadas para la eliminación del patógeno extraño (15).

El sistema inmune cumple un papel de defensa frente a agentes extraños tales como microorganismos, alérgenos y agentes infecciosos que pueden producir enfermedades. Otra función muy importante es el reconocer células propias de lo extraño a lo que se lo define como tolerancia inmunológica, dado que si falla este mecanismo puede iniciarse un proceso inflamatorio que se conoce como proceso autoinmune (15).

2.1.2. Tolerancia inmunológica

La tolerancia inmunológica es la capacidad que cumple el sistema inmune en reconocer lo propio de lo extraño mediante el mecanismo de autotolerancia; la alteración de este mecanismo genera eventos adversos, es decir, la falla del sistema inmune para discriminar lo propio de lo extraño perdiendo la tolerancia y a su vez puede conducir a un desarrollo de enfermedad autoinmune. En esta manifestación es muy característico la producción de autoanticuerpos y la hiperactivación de los linfocitos T autorreactivos que causan daño tisular (16).

Las enfermedades autoinmunes se desarrollan por una respuesta anormal de los linfocitos T y B, al generar autoanticuerpos nucleares que son acompañados por linfocitos T anormalmente activados y linfocitos B hiperactivos que conducen a la inflamación tisular por la formación de complejos inmunitarios, este mecanismo se centraliza en una tolerancia central y periférica (16).

Tolerancia central: ocurre en el timo durante el desarrollo de linfocitos T que adquieren receptores de antígenos y a su vez pueden generarse linfocitos T autorreactivos que deben ser eliminados. El principal mecanismo de eliminación sobre linfocitos autorreactivos es la apoptosis gracias a un proceso de selección que se basa en la capacidad de reconocer auto-péptidos asociados con el complejo de histocompatibilidad (MHC) (17).

- Selección positiva: los linfocitos T interactúan con moléculas del MHC de clase I y II presentes en la corteza tímica, el objetivo es seleccionar linfocitos T que identifican al MHC como propio junto a una avidéz de interacción intermedia del receptor de linfocito T (TcR) a la molécula del MHC, esto garantiza la eficacia del linfocito T y no será eliminado (17).
- Selección negativa: es el proceso de eliminación de linfocitos autorreactivos, los linfocitos son presentados a antígenos propios en el contexto de las moléculas del MHC clase I y II característicos de varios tejidos; si el linfocito presenta una alta interacción de avidéz del TcR al autoantígeno es un linfocito autorreactivo y es eliminado por un proceso apoptótico (apoptosis al ser linfocitos autorreactivos), este mecanismo se cumple en linfocitos T y B autorreactivos evitando su salida a circulación periférica (17).

Tolerancia periférica: los linfocitos autorreactivos pueden evadir la tolerancia central mediada por la selección negativa y llegar a circulación periférica donde son capaces de generar actividad autoinmune que causa autoinmunidad. El organismo ha generado varios mecanismos periféricos con el fin de evitar la activación de estos linfocitos y a su vez mantiene una tolerancia periférica; estos mecanismos se describen a continuación (18):

- Anergia: es la inactivación funcional del linfocito autorreactivo frente al antígeno por medio de la molécula coestimuladora (CD28) para la activación de linfocitos T, que, al no proporcionar esta señal de activación, el linfocito autorreactivo entra en anergia evitando que generen daño (18).
- Supresión por linfocitos T reguladores: este mecanismo evita reacciones inmunes contra autoantígenos, mediante la activación de reguladores. La supresión de los linfocitos autorreactivos es el resultado de los linfocitos T reg CD4 + y CD 25+ que

producen IL-4, IL-10 y TGF-B, inactivadores de respuesta y función en los linfocitos T (18).

2.1.3. Autoinmunidad

La autoinmunidad es el resultado de la falla o pérdida de la tolerancia contra antígenos propios; este fenómeno involucra la producción de autoanticuerpos que en consecuencia generan una respuesta contra el propio organismo y desencadena en un proceso inflamatorio definido como enfermedad autoinmune, la cual tiene una prevalencia del 7-9% de la población general causando una morbilidad y mortalidad significativa. La causa del fallo inmunológico no está muy bien definida pero un ejemplo claro de autoinmunidad es la inadecuada eliminación central de linfocitos T y B autorreactivos que conllevan a una respuesta inmunitaria excesiva contra moléculas propias, lo que conduce a una autoinmunidad. Además, varios genes en el sistema de histocompatibilidad se asocian a las enfermedades autoinmunes donde estos genes influyen en la selección de los linfocitos autorreactivos y la tolerancia. Las infecciones por microorganismos pueden llegar a producir una reacción cruzada entre sus antígenos y autoantígenos frente a anticuerpos y convertirlos en autoanticuerpos (19,20).

Las enfermedades autoinmunes son más frecuentes en mujeres que en hombres, ya sea debido a mecanismos sexuales como las hormonas o procesos fisiológicos como el embarazo, menopausia y envejecimiento. Los estrógenos y la progesterona modulan respuestas inmunitarias en la vía clásica del complemento, además de la activación de diferentes poblaciones celulares de linfocitos B autorreactivos. Los esteroides aumentan la producción de autoanticuerpos. Los estrógenos cumplen un papel importante en la homeostasis inmune al activar linfocitos y regular la producción de quimiocinas y citocinas proinflamatorias, de igual manera actúan en la diferenciación de linfocitos B y la producción de anticuerpos en la vía apoptótica seguida de una regulación de la acción de linfocitos B; un desbalance de estos mecanismos contribuye al incremento de enfermedades autoinmunes en el sexo femenino (21).

En el embarazo la tolerancia es un papel central que permite un balance entre el feto y la madre garantizando una implantación y desarrollo fetal exitoso, en este proceso fisiológico enfermedades como lupus eritematoso sistémico puede empeorar generando complicaciones en el embarazo, no obstante, en otras enfermedades como artritis reumatoide se ha observado un mejor pronóstico durante el proceso de gestación. Las mujeres de edad avanzada tienden a una mayor frecuencia de padecer enfermedades autoinmunes debido a una inmunosenescencia que va junto a alteración de marcadores celulares, predominio de

linfocitos T de memoria, mecanismos que llevan a desencadenar una inflamación de bajo grado y enfermedades autoinmunes (21).

2.1.4. Factores que promueven el desarrollo de enfermedades autoinmunes.

Un fallo en la tolerancia desencadena el desarrollo de una enfermedad autoinmune, este fallo es multifactorial siendo el más notable el factor genético debido a que ciertos genes puede predisponer la enfermedad; además diversos factores ambientales generados por infecciones que se asocian al desarrollo de una enfermedad autoinmune (22).

Factores genéticos: el factor genético es muy importante en la mayoría de las enfermedades autoinmunes por la combinación de los rasgos poligénicos complejos, los sujetos heredan múltiples polimorfismos genéticos que favorecen al desarrollo de la enfermedad. Puede existir defectos en genes individuales encargados de la tolerancia; una alteración en el cromosoma 21 específicamente en el gen AIRE, encargado del mantenimiento de la tolerancia central pierde esta facultad y genera una selección negativa defectuosa de linfocitos T autorreactivos. Determinados genes son susceptibles a la autoinmunidad, se ha observado una relación entre el genotipo del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) y las enfermedades autoinmunes, con una gran variación alélica del MHC para presentar los péptidos autoantigénicos (22).

Factores ambientales: las infecciones tanto virales y bacterianas pueden desencadenar una autoinmunidad, este proceso se ve directamente relacionado con la respuesta autoinmune que se genera por el microorganismo causante, una inadecuada regulación de esta respuesta conduce a una reactividad cruzada entre proteínas propias y del microorganismo produciendo una expansión de los linfocitos T quienes presentan estos péptidos a moléculas de MHC tipo II generando el mimetismo molecular, donde el patógeno imita moléculas del huésped para beneficiarse de la tolerancia y evadir la respuesta inmune; de esta forma el sistema inmune debe responder de manera definitiva contra el patógeno con la posibilidad de generar una enfermedad autoinmune (22).

2.1.5. Características generales

Las enfermedades autoinmunes poseen varias características generales que se detallarán a continuación (23):

- Pueden ser sistémicas o específicas de algún órgano.
- Existen varios mecanismos efectores responsables de la lesión tisular.
- Suelen ser crónicas, progresivas y continuas.
- Suelen ser más comunes en mujeres y afectan en la edad media de vida.

- Afectan a uno o más órganos.
- Suele haber la presencia de autoinmunidad familiar (23).

2.1.6. Clasificación de las enfermedades autoinmunes

Se pueden clasificar dependiendo del órgano comprometido en (23):

- ❖ Enfermedades órgano específicas: la respuesta inmune está dirigida al antígeno ubicado en un órgano que a su vez es dañado por mecanismos celulares o tumorales; los órganos más frecuentes que sufren esta alteración son: la tiroides, glándulas adrenales, estómago y páncreas (ver anexo A) (23).
- ❖ Enfermedades no órgano específicas o sistémicas: los anticuerpos están dirigidos a varios antígenos no específicos en más de un órgano; son síndromes sistémicos que se relacionan entre sí, con varias manifestaciones clínicas y anticuerpos que afectan a varios sistemas complejos; las enfermedades más comunes son: lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide (ver anexo A) (23).

2.1.7. Anticuerpos antinucleares (ANA)

Los anticuerpos antinucleares fueron mencionados por primera vez en el año 1948 por los científicos Hargraves, Richmon y Morton; luego de haber encontrado en muestras de médula ósea de pacientes con LES células LE (células de lupus eritematoso), lo cual sirvió de referente para la investigación y diagnóstico de autoanticuerpos dirigidos contra antígenos nucleares y citoplasmáticos encontrados en diversas enfermedades autoinmunes y en algunos casos en personas sanas; además ha sido de gran ayuda en los estudios del metabolismo intracelular (24).

La determinación de ANA ha tenido una gran relevancia en la patogenia de varias enfermedades autoinmunes debido a sus efectos tóxicos u otros efectos proinflamatorios. Hasta la actualidad se han identificado más de cincuenta tipos de ANA, sin embargo, en algunos grupos de enfermedades autoinmunes es más significativa su aparición por su implicancia clínica y por su mayor frecuencia; en estas patologías los anticuerpos van dirigidos contra algunos componentes como DNA nativo o bicatenario, DNA monocatenario, histonas, ribonucleoproteínas, proteínas de centrómero y enzimas (ver anexo B) (24).

2.1.8. Patrones de inmunofluorescencia en los anticuerpos antinucleares

En el 12° Taller Internacional de Autoanticuerpos y Autoinmunidad en el año 2014 en Sao Paulo, Brasil, miembros del comité de estandarización de autoanticuerpos y un subcomité de la unión internacional de sociedades de inmunología lograron evidenciar la necesidad de estandarizar la nomenclatura de patrones morfológicos de anticuerpos antinucleares

observados mediante inmunofluorescencia indirecta en células Hep-2. Gracias a esto se formó el consenso internacional sobre patrones de anticuerpos antinucleares (ICAP) y se han desarrollado periódicamente en distintos países varios talleres de consenso y actualización; así tenemos que en el año 2021 en el 6th ICAP Workshop en Dresden, Alemania se presentó la última actualización de la clasificación de los patrones de IFI más relevantes (ver anexo C) (25).

2.1.8.1. Patrones nucleares (AC-1 a AC-14, AC-29)

Nuclear homogéneo (AC-1). - la fluorescencia del nucleoplasma es homogénea y regular, los nucléolos pueden o no poseer fluorescencia y las células en mitosis poseen la cromatina fluorescente de forma homogénea (ver anexo D) (25).

- Antígenos asociados: dsADN, nucleosomas, histonas.
- Patologías asociadas: LES, hepatitis autoinmune crónica o artritis idiopática juvenil (25).

Nuclear granular fino denso (AC-2). – se localiza por todo el núcleo de las células en interfase diferentes en tamaño, brillo y distribución de los gránulos con algunas zonas más densas y débiles. La placa metafásica presenta manchas gruesas características (ver anexo D) (25).

- Antígenos asociados: DFS70/LEDGF.
- Patologías asociadas: se pueden encontrar títulos altos en pacientes aparentemente saludables o en pacientes que no tienen enfermedad reumática autoinmune sistémica (25).

Centrómero (AC-3). - las células en interfase presentan gránulos gruesos discretos dispersos en los núcleos y las células mitóticas presentan gránulos alineados en la masa de la cromatina (ver anexo D) (25).

- Antígenos asociados: CENP-A/B (C).
- Patologías asociadas: esclerosis sistémica cutánea limitada y en algunos pacientes con síndrome de Sjögren o LES (25).

Nuclear granular fino (AC-4). – nucleoplasma con gránulos pequeños finos, el nucléolo puede estar teñido o no y las células en mitosis presentan la cromatina sin tinción (ver anexo D) (25).

- Antígenos asociados: SS-A/Ro, SS-B/La, Mi-2, TIF1 ν , TIF1 β , Ku.
- Patologías asociadas: síndrome de Sjögren, LES, LES subcutáneo, LES neonatal, bloqueo cardíaco congénito, dermatomiositis, esclerosis sistémica y síndrome de superposición ES-MIA (25).

Nuclear granular grueso (AC-5). - nucleoplasma con gránulos gruesos, el nucléolo puede estar teñido o no y las células en mitosis presentan la cromatina sin tinción (ver anexo D) (25).

- Antígenos asociados: hnRNP, U1RNP, Sm, ARN polimerasa III.
- Patologías asociadas: LES, esclerosis sistémica, enfermedad mixta del tejido conectivo, síndrome de superposición ES-MIA (25).

Granulados nucleares múltiples (AC-6). – presenta de 6 a 20 gránulos nucleares discretos; son similares a puntos (ver anexo D) (25).

- Antígenos asociados: Sp-100, proteínas PML, MJ/NXP-2.
- Patologías asociadas: cirrosis biliar primaria, miastenia grave y LES, esclerosis sistémica, enfermedad mixta del tejido conectivo, síndrome de superposición ES-MIA (25).

Gránulos nucleares escasos (AC-7). – presencia de 1 a 6 gránulos nucleares discretos llamados cuerpos de Cajal o cuerpos enrollados (ver anexo D) (25).

- Antígenos asociados: P80-coilina, SMN.
- Patologías asociadas: LES, esclerosis sistémica localizada linear, síndrome de Sjögren, miastenia gravis, síndrome de superposición ES-MIA (25).

Nucleolar homogéneo (AC-8). - la fluorescencia del nucléolo es difusa y las placas metafásicas no presentan tinción (ver anexo D) (25).

- Antígenos asociados: PM/ScI-75, PM/ScI-100, Th/To, B23/nucleofosmina, nucleolina, No55/SC65.
- Patologías asociadas: esclerosis sistémica, síndrome de superposición ES-MIA, LES, esclerosis sistémica sinusoidal, enfermedad pulmonar intersticial idiopática, hipertensión pulmonar, miastenia gravis, síndrome de Sjögren (25).

Nucleolar grumoso (AC-9). – al aplicar tinción pericromosomal en las placas metafásicas, el nucléolo y cuerpos de Cajal se tiñen de forma irregular (ver anexo D) (25).

- Antígenos asociados: U3snoRNP/fibrilarina.
- Patologías asociadas: esclerosis sistémica (25).

Nucleolar granular (AC-10). – nucléolos de las células interfásicas con gránulos distintos densamente, en la cromatina de las células metafásicas se pueden observar 5 pares brillantes de NOR y el citoplasma de las células mitóticas presenta una leve tinción positiva (ver anexo D) (25).

- Antígenos asociados: ARN polimerasa I, hUBF/NOR-90.
- Patologías asociadas: esclerosis sistémica, fenómeno de Raynaud, síndrome de Sjögren, cáncer (25).

Membrana nuclear lisa (AC-11). – tinción intensa en la membrana externa del núcleo, en la anafase y metafase no hay tinción de las placas de cromatina, entre los contactos de las células puede existir un aumento de fluorescencia (ver anexo D) (25).

- Antígenos asociados: láminas A, B, C, proteínas asociadas con las láminas.
- Patologías asociadas: un patrón poco frecuente que se ha relacionado a enfermedades hepáticas autoinmunes y a enfermedades reumáticas autoinmunes sistémicas (25).

Membrana nuclear granular (AC-12). - en células interfásicas la membrana nuclear presenta tinciones punteadas a manera de poros y una mayor fluorescencia entre los contactos de células (ver anexo D) (25).

- Antígenos asociados: proteínas de los poros nucleares.
- Patologías asociadas: enfermedades hepáticas autoinmunes, cirrosis biliar primaria (25).

Parecido a PCNA (AC-13). - presenta una tinción granular pleomórfica del nucleoplasma, en interfase; pueden ser negativas (G1), tinción intensa (fase S), tinción nuclear con presencia de gránulos (fase S tardía y G2 temprana) y sin tinción mitótica (ver anexo D) (25).

- Antígenos asociados: PCNA.
- Patologías asociadas: lupus eritematoso sistémico y artritis reumatoide (25).

Parecida a CENP-F (AC-14). – intensa tinción granular en el núcleo, en profase y metafase se visualiza una tinción en los centrómeros a manera de puntos alineados, además la tinción de un anillo que divide las células hijas (ver anexo D) (25).

- Antígenos asociados: CENP-F.
- Patologías asociadas: hepatitis autoinmune, síndrome de Sjögren (25).

DNA-topoisomerasa I similar a Topo-I (AC-29). – tinción de 5 de regiones celulares: 1) tinción moteado fino con fluorescencia nuclear en interfase; 2) tinción de cromatina (homogénea) en mitosis; 3) en las células mitóticas se observa una tinción intensa del NOR (Región organizadora de nucléolos); 4) en células en interfase se visualiza una fluorescencia del citoplasma; 5) tinción nuclear punteada o perinucleolar (ver anexo D) (25).

- Antígenos asociados: DNA-topoisomerasa-I.
- Patologías asociadas: muy específico para esclerosis sistémica (25).

2.1.8.2. Patrones citoplasmáticos (AC-15 a AC-23).

Citoplasmático fibrilar lineal (AC-15). – tinción de las fibras de actina permitiendo la visualización de las fibras del citoesqueleto con depósitos granulares (ver anexo E) (25).

- Antígenos asociados: actina, miosina no muscular.
- Patologías asociadas: hepatitis autoinmune tipo 1 (25).

Citoplasmático fibrilar filamentar (AC-16). – la tinción se extiende desde la membrana nuclear hasta los microtúbulos y filamentos (ver anexo E) (25).

- Antígenos asociados: vimentina, citoqueratina, tropomiosina.
- Patologías asociadas: hepatitis autoinmune, fibrosis pulmonar idiopática, hepatitis crónica activa, colangitis biliar primaria, mononucleosis infecciosa, carcinoma nasofaríngeo, artritis reumatoide (25).

Citoplasmático fibrilar segmentado (AC-17). – tinción a lo largo de las fibras a manera de cuerpos densos pequeños segmentados (ver anexo E) (25).

- Antígenos asociados: actina alfa, vinculina.
- Patologías asociadas: lupus eritematoso sistémico y nefritis lúpica (25).

Citoplasmático granular discreto (AC-18). – se tiñen los cuerpos GW en el citoplasma de las células en interfase, mayormente en la fase S/G2 (ver anexo E) (25).

- Antígenos asociados: GW182, Su/Ago2.
- Patologías asociadas: síndrome de Sjögren, LES, artritis reumatoide, cirrosis biliar primaria, miastenia gravis, esclerosis sistémica cutánea limitada (25).

Citoplasmático granular fino denso (AC-19). - la tinción se presenta homogénea en todo el citoplasma (ver anexo E) (25).

- Antígenos asociados: PL-7, PL-12, Proteína P ribosomal.
- Patologías asociadas: LES, síndrome antisintetasa, enfermedad pulmonar intersticial, poliartritis, anemia hemolítica autoinmune, miastenia gravis, anemia hemolítica autoinmune, hepatitis autoinmune (25).

Citoplasmático granular fino (AC-20). – en el citoplasma se observan gránulos pequeños con fondo homogéneo o granular fino denso (ver anexo E) (25).

- Antígenos asociados: Jo-1/sintetasa del Histidil del ARNt.
- Patologías asociadas: síndrome de antisintetasa, enfermedad pulmonar intersticial, poliartritis (25).

Citoplasmático reticular/AAM (AC-21). - se tiñen los filamentos granulares gruesos, cuya tinción se extiende también a través del citoplasma (ver anexo E) (25).

- Antígenos asociados: PDC-E2/M2, BCOADC-E2, OGDC-E2, subunidad E1 α de PDC, E3BP/proteína X.
- Patologías asociadas: cirrosis biliar primaria, esclerosis sistémica, incluyendo síndrome de sobreposición CBP-ES Y CBP-SSJ (25).

Citoplasmático granular Polar/ parecido a aparato de Golgi (AC-22). - en el citoplasma se observa una tinción a manera de listón granular discontinuo perinuclear (ver anexo E) (25).

- Antígenos asociados: giantina/macrogolgina, golgin-95/GM130, Golgina-160, golgina-97, golgina 245.
- Patologías asociadas: síndrome de Sjögren, LES, artritis reumatoide (25).

Bastones y anillos (AC-23). – en el citoplasma de células interfásicas se observa la tinción de corpúsculos en formas de comas, bastones y anillos, en ocasiones en el núcleo (ver anexo E) (25).

- Antígenos asociados: IMPDH2.
- Patologías asociadas: principalmente en enfermedades hepáticas (Hepatitis C) (25).

2.1.8.3. Patrones mitóticos (AC-24 a AC-28).

Centrosoma (AC-24). - en el citoplasma o en los polos del huso mitótico se tiñen los centriolos como pequeños puntos visibles (ver anexo F) (25).

- Antígenos asociados: pericentrina, nineína, Cep250, Cep110.
- Patologías asociadas: esclerodermia localizada o esclerosis sistémica, LES, artritis reumatoide (25).

Huso mitótico (AC-25). – en células mitóticas se observa la tinción de las fibras del huso y pequeños conos en los polos (ver anexo F) (25).

- Antígenos asociados: HsEg5.
- Patologías asociadas: síndrome de Sjögren, LES (25).

Parecido a NuMA (AC-26). – se tiñen las fibras del huso mitótico de manera granular nuclear (ver anexo F) (25).

- Antígenos asociados: NuMA.
- Patologías asociadas: síndrome de Sjögren, LES, esclerosis sistémica limitada, artritis reumatoide (25).

Puente intercelular (AC-27). - se tiñe el puente que une las dos células hijas al final de la división celular, antes de su separación total (ver anexo F) (25).

- Antígenos asociados: ninguno.
- Patologías asociadas: esclerosis sistémica, fenómeno de Raynaud y neoplasias malignas (25).

Envoltura cromosómica mitótica (AC-28). - en células en profase y metafase se observa la tinción de los bordes de los cromosomas. No se observa en células en interfase (ver anexo F) (25).

- Antígenos asociados: histona H3 modificada, MCA-1.
- Patologías asociadas: lupus eritematoso sistémico (25).

2.1.9. Inmunofluorescencia indirecta (IFI)

Los fluorocromos son moléculas que generan luz visible a una determinada longitud de onda, la variedad de fluorocromos en la inmunofluorescencia permite identificar dos o más moléculas de manera simultánea en una célula o matriz celular. Al determinar una longitud de onda se pueden visualizar varios fluorocromos unidos a diferentes inmunoglobulinas para detectar moléculas en una célula (26).

La inmunofluorescencia indirecta es una técnica muy utilizada para la detección de anticuerpos en el diagnóstico de enfermedades autoinmunes, tiene una alta sensibilidad del 70.96% y una especificidad del 85.85%, sin embargo, el observador debe tener un alto grado de experiencia en la interpretación de la positividad de la prueba como del patrón, puntos clave en el uso clínico y correlación con enfermedades autoinmunes. Esta técnica se fundamenta en el reconocimiento de anticuerpos que identifican antígenos celulares nativos, esta interacción se visualiza gracias a un anticuerpo antiinmunoglobulina humana sintetizado en animales como conejo, cabra o cobayo; al cual se le acopla un fluoróforo denominado isotiocianato de fluoresceína (FITC). El anticuerpo antiinmunoglobulina marcado con FITC está dirigido contra la fracción constante de los anticuerpos IgG, IgA y/o IgM. El

reconocimiento del antígeno por los anticuerpos presentes en el plasma, suero o líquido biológico se visualiza en un microscopio de epifluorescencia (26).

Para identificar anticuerpos que reconocen antígenos nucleares se utiliza como sustrato las células HEP-2 de la línea celular tumoral de epiteloma laríngeo humano como fuente antigénica para la identificación de anticuerpos antinucleares a lo que se considera como el “Gold Standard” en el diagnóstico de enfermedades autoinmunes (27).

Las células Hep-2 contienen una alta concentración antigénica que se localiza en el núcleo (46 cromosomas, más de dos núcleos y gran cantidad de mitocondrias), lo que facilita que los antígenos sean reconocidos por los autoanticuerpos presentes en el suero de los pacientes con enfermedades autoinmunes. El estudio de los anticuerpos antinucleares mediante IFI sobre las células Hep-2 es útil como prueba de tamizaje inicial en problemas autoinmunes debido a que genera patrones de tinción nuclear de las células en interfase y mitosis, también patrones citoplasmáticos que independientemente expresan antígenos en determinadas fases del ciclo celular y citoplasma (27).

2.1.10. Inmunofluorescencia indirecta automatizada

En la actualidad se han generado plataformas automáticas para IFI con la finalidad de obtener una mayor productividad en el laboratorio y mejor desempeño en el diagnóstico al mostrar una mayor concordancia en la estimación de los resultados, además, una menor variabilidad en la definición de los niveles de anticuerpos y mejorar la identificación al comparar patrones con imágenes que ayuden a definir patrones positivos y su título. Estas plataformas de IFI automatizada poseen una concordancia aceptable al compararlo con los métodos manuales en la expresión correcta de resultados positivos y negativos (92% y 99%); en cuanto al grado de precisión, los sistemas automatizados en muestras claramente negativas o muy positivas ha demostrado resultados cercanos al 100%. Estos sistemas cuantifican anticuerpos y clasifican patrones de fluorescencia, además poseen un control de calidad interno (28).

El sistema comercial HELIOS es un procesador de IFI automatizado que emplea la digitalización de imágenes y lectura de ANA. Todo el proceso es automático para minimizar la intervención del usuario, incluye un lector de códigos de barras, garantiza un rendimiento continuo gracias a un sistema de tres agujas para un pipeteo rápido y garantizado. Está implementado con un microscopio fluorescente de enfoque automático que junto a un software de diseño específico que trabaja con determinados algoritmos matemáticos para realizar una lectura de IFA y definir resultados positivos o negativos; además genera la titulación y reconocimiento del patrón correspondiente a la prueba positiva de ANA. Las imágenes

tomadas por el microscopio de fluorescencia pueden ser confirmadas por un usuario capacitado y calificado en el manejo de IFI (29).

2.1.11. AESKUBLOTS ANA-17 Pro

El ensayo de enzimoimmunoanálisis de membrana es una técnica de diagnóstico diferencial de enfermedades reumáticas sistémicas, que identifica en suero humano anticuerpos IgG (cualitativo) frente a dsDNA, nucleosomas, histonas, SmD1, PCNA, RibP0, SS-A/RoG0KD, SS-A/Ro52kD, SS-B/La, CENP-B, SCL-70, U1-snRNP, AMA M2, Jo-1, PM-Scl, Mi-2 y Ku, se utiliza una membrana de nitrocelulosa donde los antígenos se sitúan en forma de líneas paralelas en una posición definida, a lo que se denomina inmunoensayo lineal (LIA), este ensayo permite una diferenciación fiable de los ANA en función a su especificidad, esta técnica dispone de 17 antígenos que dependen de la relevancia de cada enfermedad autoinmune (30).

Anticuerpos:

- Nucleosomas: estos anticuerpos están dirigidos contra epítomos del complejo de histona, a su vez los anticuerpos anti-dsDNA y anti-nucleosoma pueden reconocer los epítomos del nucleosoma (30).
- dsDNA: se observa que en aproximadamente en el 50-80% de los pacientes con LES, siendo específico para esta patología (30).
- Histonas: se consideran un marcador característico del LES inducido por fármacos, también aparecen en LES y otras enfermedades de tejido conjuntivo (30).
- SmD1 (antígeno Smith): se consideran un marcador específico de LES y actúan contra la proteína del núcleo D1 de las snRNP (30).
- U1-snRNP: se encuentra relacionado con la enfermedad mixta del tejido conjuntivo y también en LES. Es característico del síndrome de Sharp cuando existen títulos elevados (30).
- SS-A y SS-B: es común encontrar títulos elevados en el síndrome primario y secundario de Sjögren, además se pueden encontrar en LES, lupus neonatal y bloqueo cardíaco congénito (30).
- Scl-70: es un marcador específico de la esclerodermia sistémica ya que son indicativos de la evolución grave de la enfermedad. Actúan contra la topoisomerasa I del ADN (30).
- CENP-B: es característico del síndrome de CREST (30).
- Jo-1: se encuentra en pacientes con polimiositis y dermatomiositis (20-40%) y actúan contra la sintetasa histidil-ARNt (30).

- Proteínas P ribosómicas: se observa en pacientes con LES y en pacientes con lupus con afectación cerebral y actúan contra varias fosfoproteínas de la subunidad ribosómica mayor (30).
- AMA M2: es característico de cirrosis biliar primaria en títulos elevados (95%) por lo que son esenciales para su diagnóstico y diferenciación. Actúan con las proteínas del complejo cetoácido deshidrogenasa de las mitocondrias (30).
- Ku: se observa en pacientes con síndrome mixto de polimiositis/esclerodermia, miositis, hipertensión pulmonar primaria, LES, síndrome de Sjögren primario y en otras enfermedades del tejido conjuntivo. Actúan con la subunidad p80 respecto a un epítipo conformacional en el heterodímero p70/p80 de la proteína quinasa dependiente del ADN (30).
- Mi-2: se encuentran comúnmente en pacientes con dermatomiositis y raras veces en pacientes con polimiositis; es por ello su importancia en el diagnóstico diferencial. Este anticuerpo participa en la regulación del ciclo de proliferación celular (30).
- Pm-Scl: se encuentran en pacientes con síndrome mixto de polimiositis/esclerodermia y en pacientes con polimiositis y esclerodermia (30).
- PCNA: son característicos de LES y actúan como proteína auxiliar del ADN polimerasa delta con acción en la síntesis y los mecanismos de reparación del ADN especificidad, esta técnica dispone de 17 antígenos que dependen de la relevancia de cada enfermedad autoinmune (30).

Capítulo III

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

- ❖ Determinar la frecuencia de patrones de anticuerpos antinucleares ANA mediante inmunofluorescencia indirecta y su relación con el desarrollo de enfermedades autoinmunes en pacientes atendidos en el Hospital Vicente Corral Moscoso. Enero 2019 - diciembre 2020.

3.2. Objetivos específicos

- ❖ Caracterizar a la población de estudio según la variable edad, sexo, etnia, procedencia, enfermedad autoinmune, patrón de fluorescencia de ANA, títulos de ANA, subtipos de anticuerpos antinucleares ANA.
- ❖ Determinar la frecuencia de los patrones de anticuerpos antinucleares ANA comúnmente encontrados mediante inmunofluorescencia indirecta.
- ❖ Asociar los resultados de los patrones de anticuerpos antinucleares positivos con el diagnóstico de la enfermedad autoinmune.

Capítulo IV

4. Diseño metodológico

4.1. Tipo de estudio

El presente es un estudio descriptivo, retrospectivo de corte transversal.

4.2. Área de estudio

El presente estudio se realizó en el Hospital Vicente Corral Moscoso, perteneciente al cantón Cuenca en la provincia del Azuay de la República del Ecuador.

4.3. Universo y muestra

Universo

El universo estuvo conformado por las historias clínicas de todos los pacientes con diagnóstico de enfermedad autoinmune que fueron atendidos en el Hospital Vicente Corral Moscoso, durante el período, enero 2019 - diciembre 2020.

Muestra

Se aplicó un muestreo propositivo de todos los pacientes que se realizaron pruebas de detección de anticuerpos antinucleares ANA, mediante inmunofluorescencia indirecta, por lo cual no es necesario aplicar el cálculo muestral.

4.4. Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión

- Todos los pacientes que tengan un resultado de anticuerpos antinucleares ANA mediante inmunofluorescencia indirecta, con enfermedades autoinmunes que fueron atendidos en el Hospital Vicente Corral Moscoso, enero 2019 - diciembre 2020.

Criterios de exclusión

- Muestras referidas por los hospitales y centros de salud pertenecientes a la Zona 6.
- Pacientes con datos de filiación incompletos.
- Pacientes con resultados inconclusos.
- Pacientes sin diagnóstico.

4.5. Variables

- Variables dependientes: patrones de anticuerpos antinucleares ANA.
- Variables independientes: edad, sexo, etnia, procedencia, enfermedad autoinmune, títulos de ANA, subtipos de anticuerpos antinucleares ANA.

4.6. Operacionalización de variables

Ver anexo G.

4.7. Métodos, técnicas e instrumentos

Métodos

Análisis minucioso de la información referente a datos de laboratorio y enfermedades asociadas de cada paciente obtenidas de cada una de sus historias clínicas.

Técnicas

Observación de las historias clínicas de los pacientes que cumplan los criterios de inclusión durante el período enero 2019 - diciembre 2020, para la obtención de los datos de investigación.

Instrumentos

Para obtener la información en base a las historias clínicas se realizó un formulario de recolección de datos (ver anexo H).

4.8. Procedimientos

Autorización

Se solicitó el permiso a gerencia del Hospital Vicente Corral Moscoso representado por la Mgs. María José Vázquez (ver anexo I) y a su vez a la Unidad de Docencia e Investigación de esta institución, representado por la Dra. Cristina León (ver anexo J) para la obtención de los datos y la información necesaria para el desarrollo de la investigación.

Supervisión

La investigación fue supervisada por el Lcdo. Juan Carlos Patiño. MSc. director y asesor de tesis.

Plan de tabulación y análisis

Para la tabulación y análisis de los resultados de esta investigación se utilizó el programa estadístico IBM SPSS Statistics versión 26 y Microsoft Excel 2016 para la creación de tablas y gráficas estadísticas de frecuencia. Las variables se analizaron mediante frecuencias y porcentajes representados en tablas simples y tablas cruzadas.

Aspectos éticos

Para el desarrollo del presente estudio se solicitó mediante oficios, la respectiva aprobación por parte del Hospital Vicente Corral Moscoso para el acceso a la base de datos, la cual es anonimizada.

- **Confidencialidad:** la información es de uso exclusivo para el estudio garantizando una absoluta confidencialidad y un anonimato de las historias clínicas; para ello se realizó una nueva codificación de los pacientes mediante un código interno, siendo los autores de la investigación las únicas personas que manejaron los datos específicos. Todo fue enmarcado según lo mencionado en el acuerdo ministerial 5216 sobre el manejo de información confidencial en el Sistema Nacional de Salud en los siguientes apartados:

Artículo 7.- “el uso de los documentos que contienen información de salud no se podrá autorizar para fines diferentes a los concernientes a la atención de los/las usuarios/as, evaluación de la calidad de los servicios, análisis estadístico, investigación y docencia. Toda persona que intervenga en su elaboración o que tenga acceso a su contenido, está obligada a guardar la confidencialidad respecto de la información constante en los documentos antes mencionados.”

Artículo 12.- “en el caso de historias clínicas cuyo uso haya sido autorizado por el/la usuario/a respectivo para fines de investigación o docencia, la identidad del/a usuario/a deberá ser protegida, sin que pueda ser revelada por ningún concepto.”

- **Balance riesgo-beneficio:** la presente investigación supone un riesgo mínimo para los participantes de este proyecto de investigación frente a la posibilidad de que la información sea divulgada a personas ajenas al estudio, garantizando el derecho de absoluta confidencialidad. Los datos obtenidos de cada paciente brindarán una información actualizada referente a la frecuencia de anticuerpos antinucleares ANA en pacientes con enfermedades autoinmunes atendidos en el Hospital Vicente Corral Moscoso, beneficiando al personal de salud con información estadística actualizada y a los autores del estudio para la obtención de la Licenciatura.
- **Conflicto de intereses:** declaramos no tener ningún tipo de conflicto de interés o relación personal, económica, política o financiera que puedan influir en nuestro juicio; además no hemos recibido ningún beneficio externo de manera económica, bienes o subsidios de personas que tengan algún interés acerca de los resultados de la investigación.

- Idoneidad del investigador: al ser egresados de la Carrera de Laboratorio Clínico contamos con todos los requisitos y aprobación de asignaturas de la malla curricular para la realización de la presente investigación.

Capítulo V

5.1. Análisis e interpretación de los resultados

Luego de la recolección de datos se registró un total 1044 pacientes que fueron atendidos en el Hospital Vicente Corral Moscoso entre los años 2019-2020 con sospecha clínica de enfermedad autoinmune y solicitud de laboratorio para el análisis de anticuerpos antinucleares ANA mediante inmunofluorescencia indirecta.

Tabla 1. Frecuencia de anticuerpos antinucleares ANA mediante IFI en el Hospital Vicente Corral Moscoso, período 2019-2020.

Característica	N	%
Negativo	837	80,17%
Positivo	207	19,83%
Total	1044	100%

Fuente: Base de datos del Hospital Vicente Corral Moscoso.

Autores: Joselyne Tenesaca, Marco Pasato.

Tras el análisis 207 pacientes obtuvieron un resultado positivo junto a un diagnóstico de enfermedad autoinmune, obteniendo una frecuencia de anticuerpos antinucleares ANA del 19,83%.

Tabla 2. Características sociodemográficas de los pacientes con diagnóstico positivo de anticuerpos antinucleares ANA en el Hospital Vicente Corral Moscoso.

	Característica	N	%
Edad	Escolar (6-11 años)	9	4,35%
	Adolescente (12-18 años)	15	7,25%
	Adulto joven (19-26 años)	26	12,56%
	Adulto (27-64 años)	137	66,18%
	Adulto Mayor (>65años)	20	9,66%
	Total	207	100%
Sexo	Masculino	25	12,08%
	Femenino	182	87,92%
	Total	207	100%
Etnia	Indígena	2	0,93%
	Mestizo	204	98,60%
	Montubio	1	0,47%
	Total	207	100%
Residencia	Urbano	162	78,26%
	Rural	45	21,74%
	Total	207	100%

Fuente: Base de datos del Hospital Vicente Corral Moscoso.

Autores: Joselyne Tenesaca, Marco Pasato.

De acuerdo a la edad los adultos entre 27 a 64 años fueron los que presentaron el mayor porcentaje (66,18%), el sexo femenino fue el principal (87,92%), la etnia mestiza fue la más afectada (98,60%) y la mayoría de los pacientes eran residentes de la zona urbana (78,26%).

Tabla 3. Frecuencia de enfermedades autoinmunes en el Hospital Vicente Corral Moscoso, período 2019-2020.

Características	N	%
Lupus eritematoso sistémico	94	45,41%
Artritis reumatoide	63	30,43%
Síndrome de Sjögren	17	8,42%
Esclerosis sistémica	11	5,31%
Otras enfermedades autoinmunes	22	10,43%
Total	207	100%

Fuente: Base de datos del Hospital Vicente Corral Moscoso.

Autores: Joselyne Tenesaca, Marco Pasato.

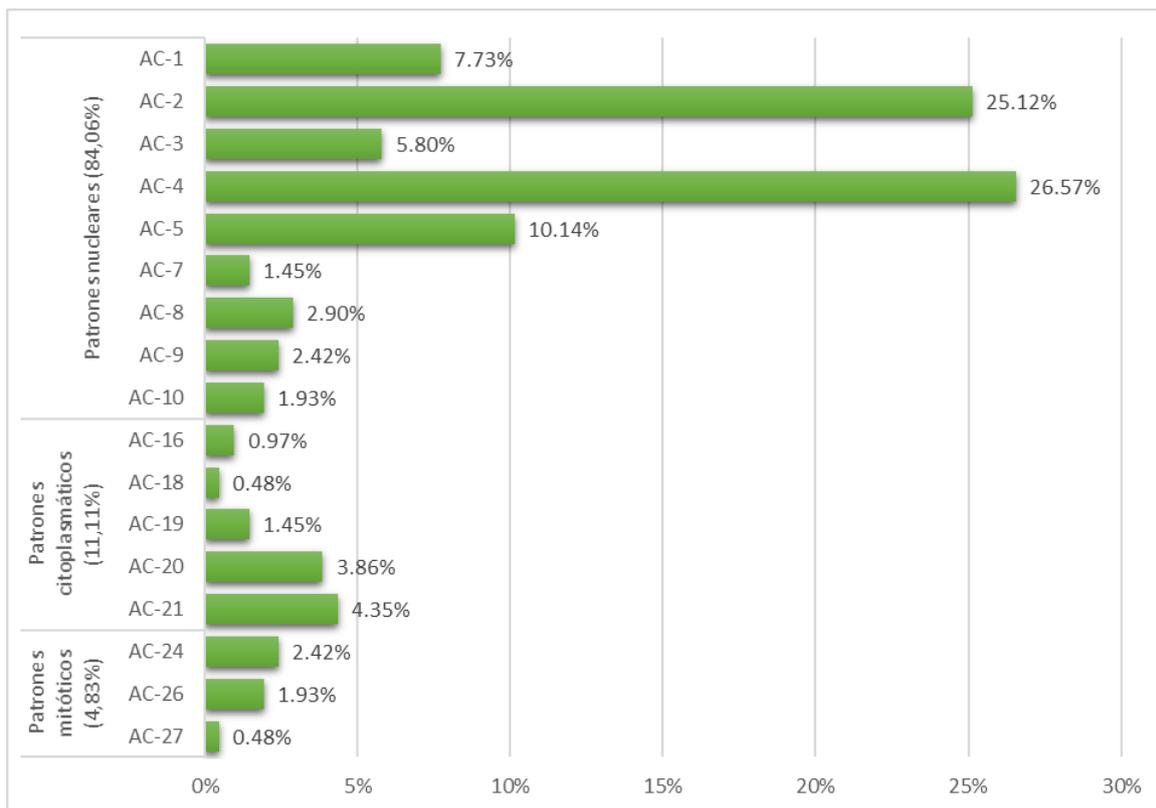
Lupus eritematoso sistémico fue la enfermedad más frecuente (45,41%), seguido de artritis reumatoide (30,43%). No se presentó enfermedades mixtas.

Tabla 4. Frecuencia de expresividad de patrones ANA por IFI.

	Patrón ANA	N	%
Patrones nucleares 174 (84,06%)	AC-1	16	7,73%
	AC-2	52	25,12%
	AC-3	12	5,80%
	AC-4	55	26,57%
	AC-5	21	10,14%
	AC-7	3	1,45%
	AC-8	6	2,90%
	AC-9	5	2,42%
	AC-10	4	1,93%
	Patrones citoplasmáticos 23 (11,11%)	AC-16	2
AC-18		1	0,48%
AC-19		3	1,45%
AC-20		8	3,86%
AC-21		9	4,35%
Patrones mitóticos 10 (4,83%)	AC-24	5	2,42%
	AC-26	4	1,93%
	AC-27	1	0,48%
207 (100%)	Total	207	100%

Fuente: Base de datos del Hospital Vicente Corral Moscoso

Autores: Joselyne Tenesaca, Marco Pasato



Fuente: Base de datos del Hospital Vicente Corral Moscoso

Autores: Joselyne Tenesaca, Marco Pasato

Figura 1. Frecuencia de expresividad de patrones ANA por IFI.

Los patrones nucleares fueron los más frecuentes (84,06%) y a su vez dentro de este grupo los patrones con mayor frecuencia fueron: el nuclear granular fino AC-4 (26,57%) y el nuclear granular fino denso AC-2 (25,12%) (tabla 4, figura 1).

Tabla 5. Títulos de anticuerpos antinucleares ANA.

Características	N	%
1/80	52	25,12%
1/160	31	14,97%
1/320	37	17,87%
1/640	25	12,08%
Títulos 1/1280	35	16,91%
1/2560	22	10,63%
1/5120	5	2,42%
Total	207	100%

Fuente: Base de datos del Hospital Vicente Corral Moscoso.

Autores: Joselyne Tenesaca, Marco Pasato.

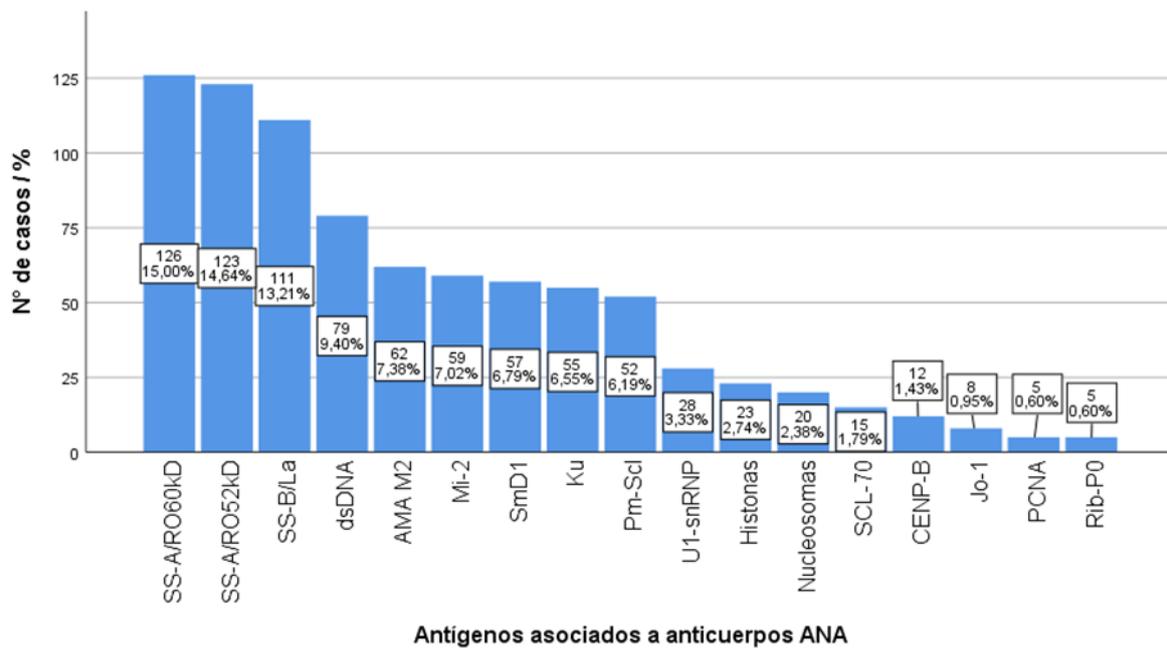
El título 1/80 (25,12%) fue el más frecuente en la determinación de anticuerpos antinucleares ANA en pacientes con enfermedades autoinmunes.

Tabla 6. Frecuencia de subtipos de antígenos asociados a anticuerpos antinucleares ANA.

Antígeno	N°	%
SS-A/RO60Kd	126	15,00%
SS-A/RO52Kd	123	14,64%
SS-B/La	111	13,21%
dsDNA	79	9,40%
AMA M2	62	7,38%
Mi-2	59	7,02%
SmD1	57	6,79%
Ku	55	6,55%
Pm-Scl	52	6,19%
U1-snRNP	28	3,33%
Histonas	23	2,74%
Nucleosomas	20	2,38%
Scl-70	15	1,79%
CENP-B	12	1,43%
Jo-1	8	0,95%
PCNA	5	0,60%
Rib-P0	5	0,60%
TOTAL	840	100%

Fuente: Base de datos del Hospital Vicente Corral Moscoso.

Autores: Joselyne Tenesaca, Marco Pasato.



Fuente: Base de datos del Hospital Vicente Corral Moscoso

Autores: Joselyne Tenesaca, Marco Pasato

Figura 2. Frecuencia de subtipos de antígenos asociados a anticuerpos antinucleares ANA.

Los antígenos SS-A/RO60kD (15,00%) y SS-A/RO52kD (14,64) asociados a anticuerpos antinucleares ANA fueron los que presentaron mayor frecuencia (tabla 6, figura 2).

Tabla 7. Patrones antinucleares ANA y su expresión de subtipos en el Hospital Vicente Corral Moscoso, período 2019-2020.

PATRON	SUBTIPOS DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES N%																	
	dsDNA	Nucleos oma	Histona	SmD1	PCNA	RibPO	SS-A/ Ro60kd	SS-A/ Ro52kd	SS-B/La	CENP-B	Sci-70	U1- snRNP	AMA M2	JO1	Pm-Sci	Mi-2	Ku	TOTAL
AC-1	16 (29,63%)	16 (29,63%)	16 (29,63%)	1 (1,85%)	0	0	2 (3,70%)	2 (3,70%)	0	0	0	1 (1,85%)	0	0	0	0	0	54
AC-2	52 (14,17%)	2 (0,54%)	1 (0,27%)	52 (14,17%)	0	0	52 (14,17%)	52 (14,17%)	52 (14,17%)	0	0	0	52 (14,17%)	0	52 (14,17%)	0	0	367
AC-3	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (7,69%)	12 (92,31%)	0	0	0	0	0	0	0	13
AC-4	0	0	0	1 (0,36%)	0	1 (0,36%)	55 (19,86%)	55 (19,86%)	55 (19,86%)	0	0	0	0	0	0	55 (19,86%)	55 (19,86%)	277
AC-5	1 (2,63%)	1 (2,63%)	1 (2,63%)	2 (5,26%)	0	0	5 (13,16%)	5 (13,16%)	2 (5,26%)	0	0	21 (55,26%)	0	0	0	0	0	38
AC-7	0	0	3 (100%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
AC-8	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6 (100%)	0	0	0	0	0	0	6
AC-9	0	0	0	0	0	0	3 (33,33%)	1 (11,11%)	0	0	0	5 (55,56%)	0	0	0	0	0	9
AC-10	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4 (100%)	0	0	0	0	0	0	4
AC-16	0	0	0	0	0	0	2 (50%)	2 (50%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4
AC-18	0	0	0	0	0	0	1 (50%)	1 (50%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
AC-19	0	0	1 (12,50%)	1 (12,50%)	0	3 (37,50%)	1 (12,50%)	1 (12,50%)	0	0	0	1 (12,50%)	0	0	0	0	0	8
AC-20	1 (7,14%)	1 (7,14%)	1 (7,14%)	0	0	1 (7,14%)	1 (7,14%)	0	1 (7,14%)	0	0	0	0	8 (57,14%)	0	0	0	14
AC-21	9 (50%)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9 (50%)	0	0	0	0	18
AC-24	0	0	0	0	5 (50%)	0	0	0	0	0	5 (50%)	0	0	0	0	0	0	10
AC-26	0	0	0	0	0	0	4 (33,33%)	4 (33,33%)	0	0	0	0	0	0	0	4 (33,33%)	0	12
AC-27	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1 (100%)	0	0	0	0	1
TOTAL	79	20	23	57	5	5	126	123	111	12	15	28	62	8	52	59	55	840

Fuente: Base de datos del Hospital Vicente Corral Moscoso

Autores: Joselyne Tenesaca, Marco Pasato

Dentro de los patrones nucleares, el patrón nuclear granular fino denso AC-2 presentó la mayor expresión de subtipos de anticuerpos ANA, dentro de este patrón los subtipos con mayor porcentaje fueron: dsDNA (14,17%), SmD1 (14,17%), SS-A/Ro60Kd(14,17%), SS-A/Ro52Kd (14,17%), SS-B/La (14,17%), AMA M2 (14,17%) y Pm-Scl (14,17%).

El patrón con mayor expresividad dentro de los patrones citoplasmáticos fue el citoplasmático reticular/AAM AC-21, con los subtipos dsDNA (50%) y AMA M2 (50%).

Finalmente, en los patrones mitóticos, el patrón parecido a NuMA AC-26 presentó la mayor expresión de subtipos ANA, con los subtipos SS-A/Ro60Kd (33,33%), SS-A/Ro52Kd (33,33%) y Mi-2 (33,33%).

Tabla 8. Enfermedades autoinmunes y su relación con la expresión del patrón de fluorescencia de anticuerpos antinucleares ANA en el Hospital Vicente Corral Moscoso, período 2019-2020.

	PATRON N (%)																TOTAL	
	AC-1	AC-2	AC-3	AC-4	AC-5	AC-7	AC-8	AC-9	AC-10	AC-16	AC-18	AC-19	AC-20	AC-21	AC-24	AC-26		AC-27
LES	14 (14,89)	23 (24,47)	3 (3,19)	23 (24,47)	12 (12,77)	1 (1,06)	2 (2,13)	2 (2,13)	2 (2,13)	0	0	1 (1,06)	4 (4,26)	5 (5,32)	1 (1,06)	1 (1,06)	0	94
AR	2 (3,17)	23 (36,51)	0	19 (30,16)	1 (1,59)	2 (3,17)	3 (4,76)	1 (1,59)	2 (3,17)	1 (1,59)	1 (1,59)	1 (1,59)	2 (3,17)	1 (1,59)	1 (1,59)	2 (3,17)	1 (1,59)	63
SS	0	3 (17,65)	2 (11,76)	6 (35,29)	3 (17,65)	0	0	0	0	0	0	0	2 (11,76)	0	0	1 (5,88)	0	17
ES	0	0	7 (63,64)	1 (9,09)	1 (9,09)	0	0	2 (18,18)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	11
OEA	0	3 (13,64)	0	6 (27,25)	4 (18,18)	0	1 (4,55)	0	0	1 (4,55)	0	1 (4,55)	0	3 (13,64)	3 (13,64)	0	0	22
TOTAL	16	52	12	55	21	3	6	5	4	2	1	3	8	9	5	4	1	207

LES= lupus eritematoso sistémico; AR= artritis reumatoide; SS= síndrome de Sjögren; ES= esclerosis sistémica; OEA= Otras enfermedades autoinmunes.

Fuente: Base de datos del Hospital Vicente Corral Moscoso

Autores: Joselyne Tenesaca, Marco Pasato

Lupus eritematoso sistémico fue la enfermedad que presentó la mayor expresividad de patrones de fluorescencia de anticuerpos antinucleares ANA, el patrón nuclear granular fino denso AC-2 (24,47%) y nuclear granular fino AC-4 (24,47%) fueron los más frecuentes en esta enfermedad.

Capítulo VI

6.1. Discusión

Las enfermedades autoinmunes son un grupo de enfermedades crónicas que se caracterizan por una respuesta autoinmune de origen desconocido, afectando cerca del 5% de la población, en su mayoría del sexo femenino en edad reproductiva. El marcador más común para el diagnóstico de estas enfermedades son los anticuerpos antinucleares ANA; el método de elección para su identificación es la inmunofluorescencia indirecta con células HEp-2 donde los anticuerpos séricos interactúan con dichas células y proporcionan patrones y títulos útiles en la presentación de la enfermedad. La plataforma HEp-2/IFA es una herramienta de diagnóstico que permite identificar autoanticuerpos y a su vez la estimación de su concentración (título) y la distribución topográfica de la inmunofluorescencia (patrón); gracias a su importancia, el consenso internacional sobre patrones ANA (ICAP) ha establecido una clasificación de los patrones ANA más relevantes y a su vez su nomenclatura (31-33).

En este estudio se determinó la frecuencia de anticuerpos antinucleares ANA en el Hospital Vicente Corral Moscoso en el período 2019-2020, la misma que fue del 19,83%, al comparar con estudios similares como el realizado en la ciudad de Quito-Ecuador en el año 2010 se observó una frecuencia del 8,2%, otro estudio realizado en Lima-Perú en el año 2017 presentó una frecuencia del 10,7%; la frecuencia en estos estudios son inferiores a la obtenida en nuestra investigación; sin embargo, diferentes estudios sugieren que en los últimos años existe un crecimiento de algunas enfermedades autoinmunes y de igual manera aumentaría la frecuencia de anticuerpos antinucleares ANA (34-36).

De acuerdo a las variables sociodemográficas de esta investigación el grupo de edad más frecuente con el 66,18% fueron los adultos entre los 27 a 64 años, de igual forma el sexo femenino fue el más afectado en un 87,92%; datos similares se encontraron en el estudio realizado en México en el año 2020 donde el sexo femenino fue el más frecuente con el 87,2%, en una edad adulta, evidenciando lo afirmado en la literatura, que el recuento de anticuerpos ANA es más alto en mujeres en edad adulta, debido a que las hormonas sexuales femeninas, especialmente los estrógenos juegan un papel muy importante en la inducción de una respuesta inmunitaria que puede desencadenar a una enfermedad autoinmune (37,38).

Las diferentes poblaciones presentan una significativa frecuencia de anticuerpos antinucleares ANA, según un estudio de Didir K, et al. en el año 2018 la población de China obtuvo una frecuencia del 5,92%, la población de India 12,3%, la población de Italia 18,1%, la población de Brasil 22,6%, la población de Bélgica 23,5%, la población de Japón 23,5%, la población de Líbano 26,4%, la población de Australia 28,4%, la población afroamericana

26,4%; sin embargo, este estudio está enfocado en la población ecuatoriana, exclusivamente la provincia del Azuay donde se obtuvo una frecuencia de anticuerpos antinucleares ANA del 19,83%, presentándose en mayor porcentaje en la etnia mestiza con el 98,26% y un 78,26% correspondientes a pacientes de la zona urbana, en cualquiera de estos casos hay que considerar que cuyos resultados están determinados de acuerdo a su distribución, ya que cada valor de anticuerpos antinucleares ANA varía de acuerdo a su factor genético y étnico (39).

Los patrones nucleares fueron los más frecuentes en la población de estudio: el nuclear granular fino AC-4 con un 26,57%, seguido del nuclear granular fino denso AC-2 con un 25,12%; al comparar con otro estudio similar realizado por Arévalo. J en la ciudad de Quito-Ecuador en el año 2018 donde el patrón más frecuente fue el nuclear granular fino AC-4 con un 37,1% , seguido del nuclear granular fino denso AC-2 con un 19,9%; según Ventura J, y Hoyos M en el año 2022, los patrones nucleares son los más informados por hospitales en el que se incluye el patrón nuclear granular fino AC-4 que ayuda en la identificación de diferentes enfermedades autoinmunes, en este patrón se tiñen intensamente los nucléolos celulares, esto implica la investigación de dichos componentes (SS-A/Ro, SS-B/La, Ku, Mi-2, Scl-70), cuya identificación tiene una importante relevancia clínica en lupus eritematoso sistémico y síndrome de Sjögren. En el patrón nuclear granular fino denso AC-2 se visualiza una tinción alrededor del núcleo y su centro se tiñe con menor intensidad lo que indica la investigación de pruebas anti-DNA. El título de inicio para establecer un ANA positivo en nuestra población fue 1/80 siendo el más frecuente con el 25,12% y a su vez fue considerado para el seguimiento y diagnóstico de una enfermedad autoinmune. Es clave una alta sensibilidad del título 1/80 para anticuerpos antinucleares ANA en células HEp-2 por inmunofluorescencia indirecta pues según el comité directivo de los criterios de clasificación EULAR/ACR 2019 para LES un título 1/80 es considerado en un 97,8% un criterio para seguimiento de LES, además este título debe ser interpretado junto a las manifestaciones clínicas para su fin diagnóstico (40,41).

Los subtipos de antígenos asociados a anticuerpos antinucleares ANA más frecuentes en nuestro estudio fueron SS-A/Ro60Kd (15%) y SS-A/Ro52Kd (14,64%); en un estudio similar realizado en pacientes con enfermedades autoinmunes en Brasil en el año 2018 se obtuvo una frecuencia del subtipo anti-SSA/Ro del 41,7%; al comparar estos estudios demostramos que la investigación de antígenos asociados a anticuerpos ANA es esencial para el diagnóstico de enfermedades autoinmunes (42).

Este estudio está enfocado en pacientes que tienen un diagnóstico de enfermedad autoinmune, en nuestra población de estudio lupus eritematoso sistémico fue el más frecuente

con el 45,41%, seguido de artritis reumatoide con un 30,43%. En un estudio realizado en Quito en el año 2019 a una población con enfermedad autoinmune podemos observar que artritis reumatoide fue el más frecuente en un 69,2% seguido de lupus eritematoso sistémico con el 15,8 %, a lo que podemos comparar con un estudio similar realizado en Uruguay en el año 2020 donde lupus eritematoso sistémico fue la enfermedad autoinmune más frecuente con el 32%, seguido de artritis reumatoide con el 21%; al analizar estos estudios con poblaciones de diferentes sectores tanto lupus eritematoso sistémico como artritis reumatoide son las enfermedades autoinmunes con mayor frecuencia (43,44).

En esta investigación el patrón nuclear granular fino denso AC-2 fue el que presentó mayor expresividad antigénica, siendo los más frecuentes: dsDNA, SmD1, SS-A/Ro60Kd, SS-A/Ro52Kd, SS-B/La, AMA M2, Pm-Scl a lo que podemos comparar con otro estudio similar realizado por Alsubki R, en 2020 donde el patrón nuclear ANA: AC-2 presentó mayor expresividad de los antígenos: SmD1, SS-A/Ro60Kd, SS-A/Ro52Kd, SS-B/La, snRNP, Jo1; existiendo una correlación significativa con el presente estudio tanto en patrones ANA como expresión antigénica, por lo tanto la expresividad antigénica juega un papel importante en el diagnóstico y seguimiento de enfermedades autoinmunes ya que evalúa las proteínas dentro del núcleo de los anticuerpos ANA reconocidos (45).

Varios estudios indican que el uso de los anticuerpos antinucleares ANA son de importancia diagnóstica y seguimiento de enfermedades autoinmunes por su amplia clasificación de anticuerpos ANA, tras el análisis de los datos obtenidos lupus eritematoso sistémico expresó con mayor frecuencia el patrón nuclear granular fino denso AC-2 y nuclear granular fino AC-4, de igual manera artritis reumatoide el patrón nuclear granular fino denso AC-2. El patrón nuclear granular fino AC-4 tiene una relación muy alta en los pacientes con diagnóstico de lupus eritematoso sistémico en un 95%, al contrario, el patrón nuclear granular fino denso AC-2 no es muy específico en esta enfermedad. El patrón nuclear granular fino AC-4 tiene una gran relevancia clínica, en particular en lupus eritematoso sistémico ya que ante una sospecha de esta enfermedad se recomienda la investigación de los antígenos SS-A/Ro60Kd y SS-A/Ro52Kd formando parte del criterio de diagnóstico, cuya información es similar en nuestro estudio (46,47).

Capítulo VII

7.1. Conclusiones

En base a los datos obtenidos en la investigación podemos concluir que:

- Del total de pacientes atendidos en el Hospital Vicente Corral Moscoso con sospecha clínica de enfermedad autoinmune (1044) de enero 2019 a diciembre 2020, 207 pacientes presentaron una prueba positiva de anticuerpos antinucleares ANA junto con diagnóstico de enfermedad autoinmune.
- Del total de la población estudiada que presentaron un diagnóstico de anticuerpos antinucleares ANA positivo se observó que se presenta en mayor frecuencia en mujeres de una edad comprendida entre 27 a 64 años, de etnia mestiza y procedentes del área urbana.
- En este estudio se encontró que el patrón de fluorescencia más frecuente fue el nuclear granular fino AC-4, con mayor expresividad de los subtipos SS-A/Ro60Kd, SS-A/Ro52Kd, SS-B/La, Mi-2 y Ku en el estudio.
- La dilución más alta de positividad encontrada es de 1/5120 y la dilución más baja y encontrada con mayor frecuencia fue 1/80, sugerentes de enfermedad autoinmune.
- La enfermedad autoinmune más frecuente en la población de estudio fue el lupus eritematoso sistémico.

7.2. Recomendaciones

- ✓ Al realizar este estudio se tuvo que descartar algunas historias clínicas debido a la falta o inexistencia de datos, reduciendo de manera considerable la población de estudio; por lo que se recomienda un mejor llenado de las historias clínicas para facilitar estudios posteriores.
- ✓ Se pudo observar que muchos pacientes que fueron diagnosticados con alguna enfermedad autoinmune, la mayoría ya no acudieron a más controles por Reumatología por lo que se recomienda dar seguimiento a estos pacientes.
- ✓ Brindar charlas de información y concientización a las personas que acuden al hospital en especial en la población de riesgo, ya que muchos desconocen o tienen poco conocimiento acerca de las enfermedades autoinmunes existentes en nuestro medio.
- ✓ Se recomienda el uso de los nombres y nomenclaturas estandarizadas por consensos internacionales como el ICAP para facilitar el reconocimiento y clasificación de los patrones de anticuerpos antinucleares ANA.
- ✓ Se recomienda mantener la utilización de métodos automatizados basados en la técnica de inmunofluorescencia indirecta, la cual es considerada como gold standard en el diagnóstico de enfermedades autoinmunes.

Referencias bibliográficas

1. Zhang P, Lu Q. Genetic and epigenetic influences on the loss of tolerance in autoimmunity. *Cellular and Molecular Immunology*. 2018;15(6):575-585.
2. Sur LM, Floca E, Sur D, Colceriu M, Samasca G, Sur G. Antinuclear Antibodies: Marker of Diagnosis and Evolution in Autoimmune Diseases. *Laboratory Medicine*. 2018;49(3): e62-73.
3. Rodas J, Sacoto P. Características de enfermedades reumatológicas autoinmunes seleccionadas en pacientes de consulta externa del Hospital Vicente Corral Moscoso enero-diciembre 2018 [Tesis de Pregrado]. Cuenca-Ecuador: Universidad de Cuenca; 2019.
4. Santafé L, Sáenz K, Cuero R, Arévalo J. Anticuerpos antinucleares en pacientes con sospecha clínica de enfermedad autoinmune. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*. 2019;66. (1):6-12.
5. Dinse G, Parks C, Weinberg C, Corrol C, Wilkerson J, Zeldin D, et al. Increasing Prevalence of Antinuclear Antibodies in the United States. *Arthritis Rheumatology*. 2020;72(6):1026-1035.
6. Palmezano J, Figueroa C, Rodríguez R, Plazas L. Prevalencia y caracterización de las enfermedades autoinmunitarias en pacientes mayores de 13 años en un hospital de Colombia. *Medicina Interna de México*. 2018;34(4):522-535.
7. Betancur J, Londoño A, Estrada V, Puerta S, Osorno S, Loaiza A, Carmona J, Gómez J. Uncommon patterns of antinuclear antibodies recognizing mitotic spindle apparatus antigens and clinical associations. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(34): e11727.
8. Rodríguez N, Buzzi C, Cairoli E, Coelho L, Danza A, Montenegro C. 1er Consenso Uruguayo de Anticuerpos Antinucleares. *Revista Médica del Uruguay*. 2019;35(4): 147-183.
9. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi M, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. *Nature Reviews Rheumatology*. 2020;16(12):715-726.
10. Rojas W, J Anaya, Gómez L, Aristizábal B, Cano L, Lopera D. *Inmunología de Rojas*. 18 a. ed. Colombia: Fondo Editorial CIB; 2017.
11. Ordoñez S, Reyes E, García J, García L. Proceso de atención de enfermería en paciente adulto con lupus eritematoso sistémico. *Polo del Conocimiento*. 2019;4(10):22.
12. Méndez T, Ochoa L, Posso I, Ortiz E, Naranjo J, Tobón G. Interpretación de los autoanticuerpos en enfermedades reumatológicas. *Revista Colombiana de Reumatología*. 2018;25(2):112-125.

13. Agostino L, Arturi A. Interpretación y relevancia clínica de la determinación de anticuerpos antinucleares. *Autoinmunidad*. 2019;4(12): 85-93.
14. Abbas A, Lichtman A, Pillai S. *Cellular and molecular immunology*. 10 th. ed. Philadelphia, Pennsylvania: Elsevier; 2021. 587 p.
15. Zenteno T, Reyes C, Symon T, Ramirez L, Bitzer O, Ramon G. Bases del funcionamiento del sistema inmune. *Recursos Naturales y Sociedad*. 2020;6(1):55-66.
16. Liu M, Liang S, Zhang C. NK Cells in Autoimmune Diseases: Protective or Pathogenic? *Frontiers in Immunology*. 2021; 12:624687.
17. Chávez F, Rojas M, Fortoul T, Tenorio E. Células T reguladoras tímicas: su origen, función e importancia en la salud y la enfermedad. *Revista de la Facultad de Medicina (México)*. 2017;60(5):36-44.
18. Snyder P, Zachary J. Chapter 5 - Diseases of Immunity1, En: *Pathologic basis of veterinary disease*. Sixth edition. St. Louis, Missouri: Elsevier; 2017. p. 242-285.
19. Theofilopoulos A, Kono D, Baccala R. The Multiple Pathways to Autoimmunity. *Nature Immunology*. 2017;18(7):716-724.
20. Punt J, Stranford S, Jones P, Owen J. *Kuby IMMUNOLOGY*. Eighth. New York: W.H. Freeman; 2019.
21. González M, Padrón A, González M, Padrón A. Factores etiopatogénicos de las enfermedades autoinmunes en el siglo XXI. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*. 2021;40(1).
22. Díaz D, Barcenilla H, Úbeda M, Muñoz L. Autorreactividad y autoinmunidad. *Medicine - Programa de Formación Médica Continuada Acreditado*. 2017;12(24):1418-1427.
23. Chú Á, Aguirre R, Olivero J. *Temas selectos en la inmunología actual*. 1.a ed. Machala: UTMACH; 2018. 35p.
24. Firestein G, Kelley W. *Tratado de reumatología*. 10a. ed. Barcelona: Elsevier; 2018. 817 p.
25. ANA Patterns. *International Consensus on ANA Patterns*. 2021. Disponible en: <https://www.anapatterns.org/index.php>.
26. Megias M, Molist P, Pombal M. *Atlas de histología vegetal y animal. Técnicas histológicas*. 2017.
27. Oliva J, Arroyo J, Oliva J, García M. Patrones de tinción de anticuerpos antinucleares identificados por Inmunofluorescencia indirecta en pacientes con enfermedad del tejido conectivo. *Revista Médica Herediana*. 2019;30(1):33-39.
28. Cinquanta L, Bizzaro N, Pesce G. Standardization and Quality Assessment Under the Perspective of Automated Computer-Assisted HEp-2 Immunofluorescence Assay Systems. *Frontiers in Immunology*. 2021; 12:638863.

29. Choi H, Kwon Y, Park J, Lee S, Chun S, Won E, Lee J, Choi H, Kim S, Shin M, Shin J, Kee S. Evaluation of a Fully Automated Antinuclear Antibody Indirect Immunofluorescence Assay in Routine Use. *Frontiers in Immunology*. 2020; 11
30. AESKU.DIAGNOSTICS. Manual de instrucciones AESKUBLOTS ® ANA-17 Pro. AESKU.DIAGNOSTICS GmbH & Co. KG; 2021
31. Anaya J. Primer Congreso Colombiano De Autoinmunidad. *Medicina*. 2018;40(1):67-69.
32. Nosal R, Superville S, Varacallo M. *Biochemistry, Antinuclear Antibodies (ANA)*. StatPearls. Treasure Island (FL).2022
33. Dellavance A, Coelho L. Detection of Autoantibodies by Indirect Immunofluorescence Cytochemistry on Hep-2 Cells. *Methods in Molecular Biology*. 2019; 1901:19-46.
34. Toledo P, Sáenz K, Vivar N. Valores de referencia de anticuerpos antinucleares en personas aparentemente sanas. Quito-Ecuador. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*. 2010;57(4):190-195.
35. La Rosa F, Lozano V. Prevalencia de anticuerpos antinucleares en personas aparentemente sanas. Lima-Perú. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*. 2017;64(1):8-13.
36. Lovell D, Huang B, Chen C, Angeles S, Simon T, Brunner H. Prevalence of autoimmune diseases and other associated conditions in children and young adults with juvenile idiopathic arthritis. *RMD Open*. 2021;7(1):e001435.
37. Vázquez T, Solís R. Frecuencia de patrones de anticuerpos antinucleares, en pacientes con sospecha de enfermedades sistémicas reumáticas autoinmunes. *Horizonte sanitario*. 2020;19(3):385-392.
38. Grygiel B, Rogacka N, Puszczewicz M. Antinuclear antibodies in healthy people and non-rheumatic diseases – diagnostic and clinical implications. *Reumatologia*. 2018;56(4):243-248.
39. Didier K, Bolko L, Giusti D, Toquet S, Robbins A, Antonicelli F, et al. Autoantibodies Associated With Connective Tissue Diseases: What Meaning for Clinicians, *Frontiers in Immunology*. 2018; 9:1-20.
40. Mendez T, Ochoa L, Posso I, Ortiz E, Naranjo J, Tobón G. Interpretación de los autoanticuerpos en enfermedades reumatológicas. *Revista Colombiana de Reumatología*. 2018;25(2):112-125.
41. Irure J, López M. The Past, Present, and Future in Antinuclear Antibodies (ANA). *Diagnostics*. 2022;12(3):647.

42. Weyand F, Correa B, Sandro J, Andrade R. Relationships among Antibodies against Extractable Nuclear Antigens, Antinuclear Antibodies, and Autoimmune Diseases in a Brazilian Public Hospital. *Autoimmune Diseases*. 2018; 2018:1-8.
43. Soria M. Factores asociados a sepsis en pacientes con enfermedades reumatológicas autoinmunes en el Hospital Carlos Andrade Marín, en el Servicio de Reumatología, período enero- diciembre 2018 [Tesis de pregrado]. Quito: Pontificia Universidad Católica del Ecuador; 2019.
44. Cruz M, Graña D, Gaudiano J, Pérez L. Unidad de enfermedades autoinmunes: experiencia de un centro. *Revista Uruguaya de Medicina Interna*. 2020;5(2):28-36.
45. Alsubki R, Tabassum H, Alfawaz H, Alaqil R, Aljaser F, Ansar S, Al Jurayyan A. Association between antinuclear antibodies (ANA) patterns and extractable nuclear antigens (ENA) in HEp-2 cells in patients with autoimmune diseases in Riyadh, Saudi Arabia. *Intractable Rare Diseases Research*. 2020;9(2):89-94.
46. Andrade L, Damoiseaux J, Vergani D, Fritzler M. Antinuclear antibodies (ANA) as a criterion for classification and diagnosis of systemic autoimmune diseases. *Journal of Translational Autoimmunity*. 2022; 5:100145.
47. Damoiseaux J, Andrade L, Carballo O, Conrad K, Francescantonio P, Fritzler M, et al. Clinical relevance of HEp-2 indirect immunofluorescent patterns: the International Consensus on ANA patterns (ICAP) perspective. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2019;78(7):879-889.

Anexos

Anexo A. Clasificación de las enfermedades autoinmunitarias

Clasificación de las enfermedades autoinmunitarias

Órgano-específicas		<i>No órgano-específicas</i>
Sistema endocrino	Músculo	Enfermedad del tejido conectivo:
Tiroiditis de Hashimoto	Miastenia gravis	Lupus eritematoso sistémico
Enfermedad de Graves	Sistema nervioso	Artritis reumatoide
Diabetes mellitus tipo I	Esclerosis múltiple	Esclerosis sistémica
Enfermedad de Addison	Síndrome de Guillain-Barré	Espondilitis anquilosante
	Piel	Artritis reactiva
	Pénfigo	Polimiositis/Dermatomiositis
	Psoriasis	Síndrome de Sjögren
	Vitíligo	
	Intestino	Enfermedad mixta del tejido conectivo:
	Enfermedad de Crohn	Síndrome de Behcet
	Colitis ulcerativa	Síndromes vasculíticos
	Enfermedad celiaca	Poliarteritis nudosa
Sistema hematopoyético	Corazón	Arteritis temporal
Anemia hemolítica	Fiebre reumática	Enfermedad de Kawasaki
Anemia perniciosa	Hígado	Granulomatosis de Wegener
Púrpura trombocitopénica autoinmunitaria	Hepatitis autoinmunitaria	Síndrome de Churg-Strauss
	Colangitis esclerosante	Sarcoidosis
	Cirrosis biliar primaria	

Elaborado por: Los autores.

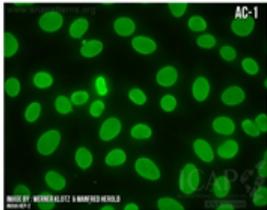
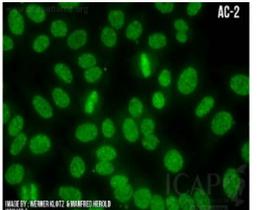
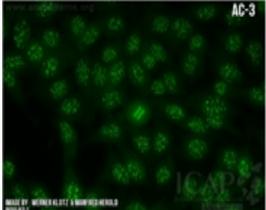
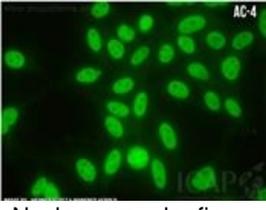
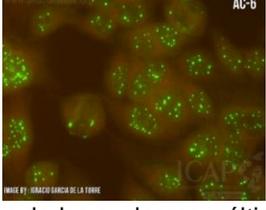
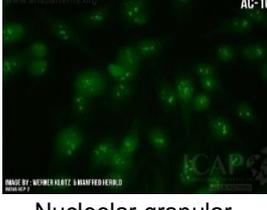
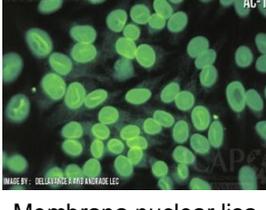
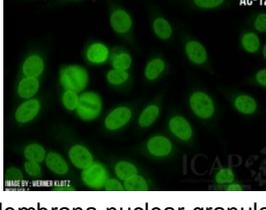
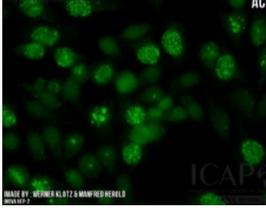
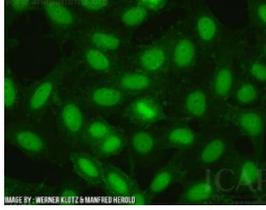
Anexo B. Especificidad antigénica en enfermedades autoinmunes.

Enfermedad asociada	Antígenos asociados	Patogenia
Lupus Eritematoso Sistémico, Lupus Eritematoso Sistémico cutáneo, Lupus neonatal.	Anti-dsDNA	La patogenia se da a través del depósito de inmunocomplejos, la unión directa a antígenos glomerulares con reacción cruzada, la penetración intracelular y la inducción de la toxicidad celular promoviendo la inflamación en la nefritis del LES.
	Anti-SSA/Ro (Ro60)	La patogenia se da a través de la penetración en células vivas y la unión a antígenos expuestos en la piel y el corazón promoviendo la aparición de las manifestaciones cutáneas o cardíacas.
	Anti-SS-B/La	
	Anti-Sm	
	Anti-U1RNP	
Síndrome de Sjögren	Anti-SSA/Ro (Ro60)	Se encuentra en el 60-96% en pacientes con SjS primario. Está asociado con manifestaciones extraglandulares.
	Anti-SSA/Ro (Ro52)	Se encuentra en varias enfermedades autoinmunes y por lo general se encuentra en el 30% de pacientes con síndrome antisintetasa.
	Anti-La/SS-B	Se encuentra en el 40-70% en pacientes con SjS primario. Se correlaciona en menor frecuencia con las manifestaciones renales y suele asociarse con Anti-La/SSA.
Esclerosis sistémica cutánea difusa, fibrosis pulmonar	Anti - (Scl)-70,	Se encuentra en el 65% en pacientes con SSc difusa. Induce altas concentraciones de interferón α . Su presencia se relaciona con la forma sistémica más rápidamente progresiva.

<p>Dermatomiositis, polimiositis.</p>	<p>Anticuerpos anti Jo-1</p>	<p>Se encuentra en el 24-30% en pacientes con MII. Este autoanticuerpo induce al IFN tipo I y a la molécula de adhesión intercelular 1 en las células endoteliales. Su presencia se relaciona con la fibrosis pulmonar intersticial.</p>
---------------------------------------	------------------------------	--

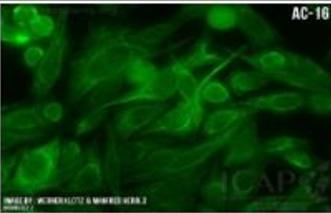
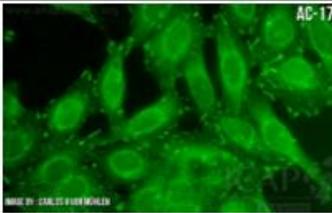
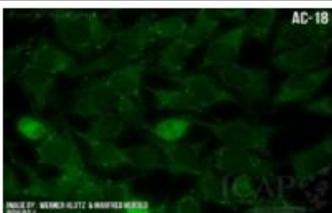
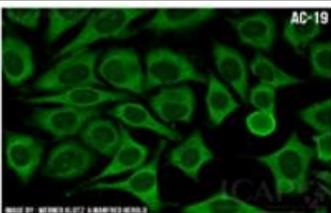
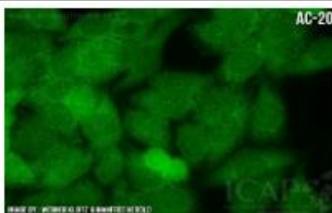
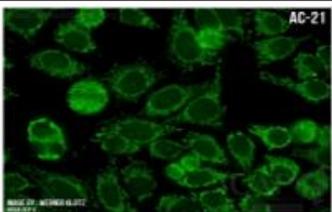
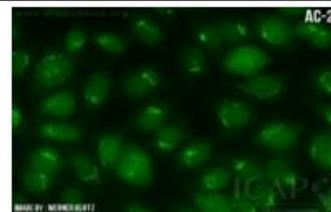
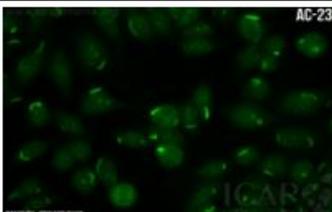
Elaborado por: Los autores.

Anexo D Patrones nucleares (AC-1 a AC-14, AC-29)

<p style="text-align: center;">AC-1</p>  <p style="text-align: center;">Nuclear homogéneo. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>	<p style="text-align: center;">AC-2</p>  <p style="text-align: center;">Nuclear granular fino denso. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>	<p style="text-align: center;">AC-3</p>  <p style="text-align: center;">Centrómero. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>
<p style="text-align: center;">AC-4</p>  <p style="text-align: center;">Nuclear granular fino. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>	<p style="text-align: center;">AC-5</p>  <p style="text-align: center;">Nuclear granular grueso. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>	<p style="text-align: center;">AC-6</p>  <p style="text-align: center;">Granulados nucleares múltiples. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>
<p style="text-align: center;">AC-7</p>  <p style="text-align: center;">Gránulos nucleares escasos Obtenido de: ICAP, 2021.</p>	<p style="text-align: center;">AC-8</p>  <p style="text-align: center;">Nucleares homogéneo Obtenido de: ICAP, 2021.</p>	<p style="text-align: center;">AC-9</p>  <p style="text-align: center;">Nucleolar grumoso Obtenido de: ICAP, 2021.</p>
<p style="text-align: center;">AC-10</p>  <p style="text-align: center;">Nucleolar granular Obtenido de: ICAP, 2021.</p>	<p style="text-align: center;">AC-11</p>  <p style="text-align: center;">Membrana nuclear lisa Obtenido de: ICAP, 2021.</p>	<p style="text-align: center;">AC-12</p>  <p style="text-align: center;">Membrana nuclear granular Obtenido de: ICAP, 2021.</p>
<p style="text-align: center;">AC-13</p>  <p style="text-align: center;">Parecido a PCNA Obtenido de: ICAP, 2021.</p>	<p style="text-align: center;">AC-14</p>  <p style="text-align: center;">Parecido a CENP-F Obtenido de: ICAP, 2021.</p>	<p style="text-align: center;">AC-29</p>  <p style="text-align: center;">DNA-topoisomerasa I similar a Topo-I Obtenido de: ICAP, 2021.</p>

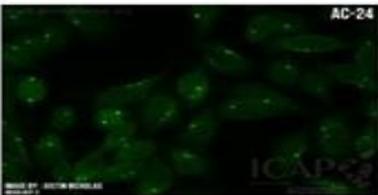
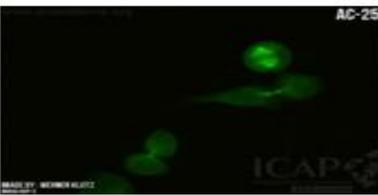
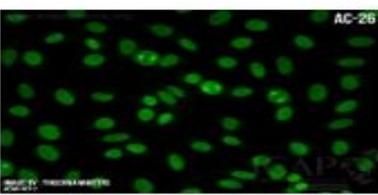
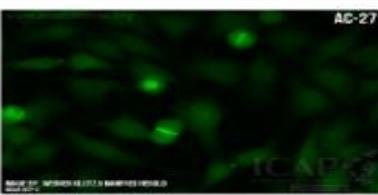
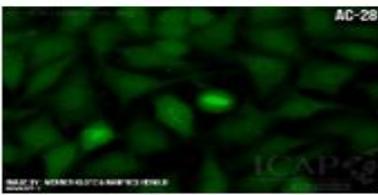
Elaborado por: Los autores.

Anexo E Patrones citoplasmáticos (AC-15 a AC-23)

<p style="text-align: center;">AC-15</p>  <p>Citoplasmático fibrilar lineal. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>	<p style="text-align: center;">AC-16</p>  <p>Citoplasmático fibrilar filamental. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>	<p style="text-align: center;">AC-17</p>  <p>Citoplasmático fibrilar segmentado. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>
<p style="text-align: center;">AC-18</p>  <p>Citoplasmático fibrilar segmentado. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>	<p style="text-align: center;">AC-19</p>  <p>Citoplasmático granular fino denso. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>	<p style="text-align: center;">AC-20</p>  <p>Citoplasmático granular fino. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>
<p style="text-align: center;">AC-21</p>  <p>Citoplasmático reticular/AAM. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>	<p style="text-align: center;">AC-22</p>  <p>Citoplasmático granular Polar. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>	<p style="text-align: center;">AC-23</p>  <p>Bastones y anillos. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>

Elaborado por: Los autores.

Anexo F. Patrones mitóticos (AC-24 a AC-24)

<p>AC-24</p>		<p>Patrón centrosoma. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>
<p>AC-25</p>		<p>Patrón huso mitótico. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>
<p>AC-26</p>		<p>Patrón parecido a NuMA. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>
<p>AC-27</p>		<p>Patrón puente intercelular. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>
<p>AC-28</p>		<p>Patrón envoltura cromosómica mitótica. Obtenido de: ICAP, 2021.</p>

Elaborado por: Los autores.

Anexo G. Matriz de operacionalización de variables.

Variable	Definición	Dimensión	Indicador	Escala
Edad	Tiempo transcurrido en el desarrollo del ciclo de vida	Tiempo	Historia Clínica, formulario de recolección	Prescolar (0-5 años) Escolar (6-11 años) Adolescente (12-18 años) Adulto joven (19-26 años) Adulto (27-64 años) Adulto Mayor (>65años)
Sexo	Diferencia fisiológica entre hombre y mujer	Fenotipo	Historia Clínica, formulario de recolección	Hombre Mujer
Etnia	Grupos étnicos de la especie humana que suelen diferenciarse por sus características físicas como color de piel, cabello principalmente.	Fenotipo	Historia Clínica, formulario de recolección	Blanco Mestizo Montubio Afroecuatoriano Indígena
Residencia	Lugar de residencia	Residencia	Historia Clínica, formulario de recolección	Zona urbana Zona rural
Enfermedad	Enfermedades autoinmunes	Tipo de enfermedad autoinmune	Historia Clínica, formulario de recolección	Lupus eritematoso sistémico Artritis reumatoide Síndrome de Sjögren Esclerosis sistémica

				Otras enfermedades autoinmunes
Patrón de fluorescencia de ANA	Patrón detectado por inmunofluorescencia indirecta en células Hep-2	Expresión	Historia Clínica, formulario de recolección	Patrones nucleares Patrones citoplasmáticos Patrones mitóticos
Título de anticuerpo antinuclear	Concentración de anticuerpos antinucleares en el suero del paciente	Concentración	Historia Clínica, formulario de recolección	Negativo <ul style="list-style-type: none"> • <1/80 Positivo <ul style="list-style-type: none"> • Igual o >1/80
Subtipo de anticuerpos antinucleares	Anticuerpos antinucleares ANA dirigidos a antígenos específicos ubicados en el núcleo o citoplasma de la célula	Especificidad antigénica	Historia Clínica, formulario de recolección	<ul style="list-style-type: none"> • Nucleosomas • dsDNA • Histonas • SmD1 • U1-snRNP • SS-A • SS-B • Scl-70 • CENP-B • Jo-1 • AMA M2 • Ku • Mi-2 • Pm-Scl • PCNA • Rib-P0

Anexo H. Formulario de recolección de datos.



Ficha de recolección de datos

Frecuencia de patrones de anticuerpos antinucleares ANA mediante inmunofluorescencia indirecta y su relación con el desarrollo de enfermedades autoinmunes en pacientes atendidos en el hospital Vicente Corral Moscoso. Enero 2019 - diciembre 2020.

Número de Ficha: _____

Código de muestra: _____

Sexo: M () F () Edad: _____

Etnia: Blanco ____

Mestizo ____

Montubio ____

Afroecuatoriano ____

Indígena ____

Procedencia: Zona urbana: ____

Zona rural: ____

Resultados de Laboratorio

ANA: Positivo () Negativo ()

Patrón: _____

Título: _____

Subtipo de anticuerpo ANA: Si () No ()

Diagnóstico: Si () No ()

Lupus eritematoso sistémico ()

Artritis Reumatoide ()

Síndrome de Sjögren ()

Esclerosis sistémica ()

Otra enfermedad autoinmune: Si ()

Anexo I. Oficio de autorización gerencia.



República
del Ecuador

Ministerio de Salud Pública
Hospital Vicente Corral Moscoso

Oficio No. 0230-GHR-2022
Cuenca, 5 de abril de 2022

Doctora
Lorena Mosquera
PRESIDENTA DE LA COMISIÓN DE INVESTIGACIÓN
UNIVERSIDAD DE CUENCA
Presente.

De mi consideración:

Asunto: Carta de interés institucional con protocolo de investigación "FRECUENCIA DE PATRONES DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES ANA MEDIANTE INMUNOFLOURESCENCIA INDIRECTA Y SU RELACIÓN CON EL DESARROLLO DE ENFERMEDADES AUTOINMUNES EN PACIENTES ATENDIDOS EN EL HOSPITAL VICENTE CORRAL MOSCOSO. ENERO 2019 – DICIEMBRE 2020".

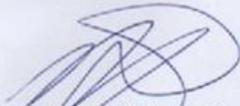
De mi consideración

Yo MARÍA JOSÉ VÁZQUEZ QUEZADA con CI 0104443916, en calidad de autoridad del HOSPITAL VICENTE CORRAL MOSCOSO, manifiesto que conozco y estoy de acuerdo con la propuesta del protocolo de investigación "FRECUENCIA DE PATRONES DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES ANA MEDIANTE INMUNOFLOURESCENCIA INDIRECTA Y SU RELACIÓN CON EL DESARROLLO DE ENFERMEDADES AUTOINMUNES EN PACIENTES ATENDIDOS EN EL HOSPITAL VICENTE CORRAL MOSCOSO. ENERO 2019 – DICIEMBRE 2020". Cuyos investigadores principales son Marco Sebastián Pasato Álvarez y Joselyne Dayan Tenesaca Gamboa.

Certifico también que se han establecido acuerdos con el investigador para garantizar la confidencialidad de los datos de los individuos, en relación con los registros médicos fuentes de información a los que se autorice su acceso.

Con sentimiento de distinguida consideración

Atentamente,



Mgs. María José Vázquez Quezada
GERENTE DEL HOSPITAL
VICENTE CORRAL MOSCOSO

Hospital Vicente Corral Moscoso
GERENCIA
 **MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA**
Av. 12 de Abril y Los Arupos - Cuenca - Ecuador

Dirección: Av. Los Arupos y Av. 12 de Abril
Teléfono: 593 -7-409-6000 - www.hvcm.gob.ec
Código postal: 010204 / CuencaEcuador



Gobierno | Juntos lo logramos
del Encuentro

Anexo J. Oficio Unidad de Docencia e investigación HVCM.

 República del Ecuador

**Ministerio de Salud Pública
Coordinación Zonal 6 - Salud**

Oficio N° 027-UDI-HVCM-2022
Cuenca, 04 de abril del 2022

**Dra. Lorena Mosquera
PRESIDENTA DE LA CTT**

De mis consideraciones:

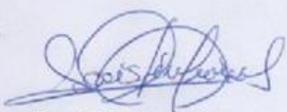
Luego de un cordial saludo, se informa que en respuesta al oficio presentado, fue analizado por la Comisión de Docencia e Investigación, "FRECUENCIA DE PATRONES DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES ANA MEDIANTE INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA Y SU RELACIÓN CON EL DESARROLLO DE ENFERMEDADES ANTUOINMUNES EN PACIENTES ATENDIDOS EN EL HOSPITAL VICENTE CORRAL MOSCOSO. ENERO 2019-DICIEMBRE 2020.", fue dado como FACTIBLE a ser realizado por las estudiantes Marco Sebastián Pasato Álvarez y Joselyne Dayan Tenesaca Gamboa.

Se solicita retroalimentación a la Unidad de Docencia e investigación de los resultados obtenidos de esta investigación.

Se recuerda además que la autorización para realizar dicha investigación en este centro médico es otorgada por la máxima autoridad de esta casa de salud, por lo que se recomienda realizar la solicitud respectiva.

Por la favorable atención a la presente, anticipamos nuestro sincero agradecimiento.

Atentamente,


Dra. Cristina León
**RESPONSABLE DE LA UNIDAD DE DOCENCIA E INVESTIGACIÓN
DEL HOSPITAL VICENTE CORRAL MOSCOSO**
HOSPITAL VICENTE CORRAL MOSCOSO

c.c. Archivo


GESTIÓN DE DOCENCIA
E INVESTIGACIÓN

Dirección: Av. José Alvear 2-56 y Tadeo Torres. Código postal: 010204 / Cuenca Ecuador
Teléfono: 593 -7 2831992 - 2821758 - 2847278 - www.salud.gob.ec

 **Gobierno** | Juntos lo logramos
del Encuentro