



**Universidad
Zaragoza**

Trabajo Fin de Grado

Estudio de los nuevos patrones de anticuerpos antinucleares (ANA) y su correlación con parámetros de autoinmunidad

Study of new antinuclear antibody (ANA) patterns and their correlation with
autoimmunity parameters

Autor:

Berta Comeras Hernández

Director/es:

Dr. Luis Martínez Lostao

Dr. Borja del Carmelo Gracia Tello

Facultad de Medicina de Zaragoza

Departamento de Microbiología, Medicina Preventiva y Salud Pública, Área de Inmunología



ABREVIATURAS:

AC: anti-células

AI: autoinmune

AIJ: artritis idiopática juvenil

ANA: anticuerpos antinucleares

AR: artritis reumatoide

BCOADC-E2: complejo 2-oxo-ácido deshidrogenasa

CBP: colangitis biliar primaria

CENF-P: proteína del centrómero F

CENP: anticuerpos anticentrómero

Cep110: proteína centrosomal 110

Cep250: proteína centrosomal 250

CREST: Calcinosis, Raynaud, dismotilidad esofágica, esclerodactilia y telangiectasia

C3: factor C3 del complemento

C4: factor C4 del complemento

DFS70: moteado, fino y denso, peso molecular de 70kd

DM: diabetes mellitus

DNA: ácido desoxirribonucleico

dsDNA: anti-DNA de doble cadena

EA: enfermedad autoinmune

EAS: enfermedades autoinmunes sistémicas

EASI/IIUIS: *European Autoimmunity Standardization Initiative/ International Union of Immunological Societies*

EASNF: enfermedades autoinmunes sistémicas no filiada

EMTC: enfermedad mixta del tejido conectivo

FG: filtrado glomerular

E3BP: proteína de unión E3

ES: esclerosis sistémica

golgin95/GM130: proteína de membrana periférica fuertemente unida a la membrana de Golgi

gp22: glicoproteína N-glicosilada

GW: cuerpos de glicina-triptófano

HEp-2: células del carcinoma epitelial humano

hnRNP: partícula heterogénea de ribonucleoproteína

hUBF/NOR-90: factor de unión ascendente humano/ región organizadora antinucleolar 90

HsEg5: huso de proteína similar a la quinesina

ICAP: Consenso Internacional de Patrones de ANA

IFI: inmunofluorescencia indirecta

IFN: interferón

IMPDH2: Inosina Monofosfato Deshidrogenasa 2

KIF-14: miembro de la familia quinesina 14

Ku: anticuerpo dirigido contra la subunidad reguladora ácido desoxirribonucleico

LEDGF: factor de crecimiento derivado del epitelio del cristalino

LES: lupus eritematoso sistémico

MCA: antígeno asociado a carcinoma tipo mucina

MeSH: Medical Subject Headings
Mi-2: anticuerpo dirigido contra una enzima helicasa del núcleo celular
MKLP-1: proteína mitótica similar a la quinesina
MSA-2: antígeno de membrana de superficie 2
NL: nefritis lúpica
NOAI: no enfermedad autoinmune
No55: autoantígeno nucleolar
NXP-2: anticuerpos contra la proteína de la matriz nuclear
NuMA: aparato mitótico nuclear
OGDC-E2: complejo 2-oxo-glutarato deshidrogenasa
PCR: proteína C reactiva
P80-coilina: autoantígeno nuclear que se acumula fuertemente en los cuerpos de Cajal
PDC-E2/M2: complejo piruvato deshidrogenasa
proteínas PML: proteína de la leucemia promielocítica
PCNA: antígeno nuclear de células en proliferación
PDC: piruvato decarboxilasa
PL-7: anti-treonil-tRNA sintetasa
PL-12: anti-alanil tRNA sintetasa
PM: polimiositis
RNA: ácido ribonucleico
SAF: síndrome antifosfolípido
SARD: enfermedades reumáticas con ANA asociados
SC65: complejo sinaptonémico 65
Scl-70: antitopoisomerasa 1
SIDA: síndrome de inmunodeficiencia adquirida
Sm: Smith
SMN: proteína neuronal de supervivencia
Sp-100: componente del cuerpo nuclear ND10
SSA/Ro: antígeno A relacionado con el síndrome de Sjögren
SSB/La: inmunoglobulina contra la proteína La
SSj: síndrome de Sjögren
Su/Ago2: proteína argonauta 2
Th/To: especificidades que muestran la tinción nucleolar en la prueba de ANA con IFI
TIF: factor intermediario transcripcional
U1RNP: U1 ribonucleoproteínas
VHC: virus hepatitis C

ÍNDICE

1. RESUMEN Y PALABRAS CLAVE	5
2. INTRODUCCIÓN.....	7
2.1. ENFERMEDADES AUTOINMUNES	7
2.2. ANTICUERPOS ANTINUCLEARES	10
2.3. NUEVA CLASIFICACIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES	11
2.4. PATRONES DE FLUORESCENCIA	13
2.5. PATRONES DE ANA, ANTÍGENOS RELACIONADOS Y ENFERMEDADES ASOCIADAS.....	15
3. OBJETIVOS.....	17
4. MATERIAL Y MÉTODOS.....	17
4.1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	17
4.2. ANÁLISIS DE LA COHORTE.....	18
4.2.1. SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS	18
4.2.2. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS.....	18
4.3. INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA	19
5. RESULTADOS	20
5.1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS: DISTRIBUCIÓN POR SEXO Y EDAD	20
5.2. DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES SEGÚN EL DIAGNÓSTICO	20
5.3. DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES SEGÚN EL PATRÓN DE ANA.....	21
5.4. DISTRIBUCIÓN DE LOS PATRONES DE ANA POR ENFERMEDADES	22
5.5. DISTRIBUCIÓN DE LOS PATRONES DE ANA POR ENFERMEDADES	23
5.6. DISTRIBUCIÓN DEL TÍTULO DEL PATRÓN DE ANA EN ENFERMEDAD AUTOINMUNE NO FILIADA	24
5.7. ASOCIACIÓN DE LES CON DISTINTOS PARÁMETROS INMUNOLÓGICOS Y DE FUNCIÓN RENAL	26
5.8. ASOCIACIÓN DE LES Y NEFRITIS LÚPICA CON DISTINTOS PARÁMETROS INMUNOLÓGICOS Y DE FUNCIÓN RENAL	28
5.9. ENFERMEDADES AUTOINMUNES Y RELACIÓN CON ESPECIFICIDADES ANTIGÉNICAS	31
5.10. ENFERMEDADES AUTOINMUNES Y RELACIÓN CON ESPECIFICIDADES ANTIGÉNICAS	33
6. DISCUSIÓN	34
7. CONCLUSIONES.....	37
8. BIBLIOGRAFÍA.....	38
ANEXOS	40

1. RESUMEN Y PALABRAS CLAVE

El estudio de los autoanticuerpos constituye una herramienta fundamental para el enfoque de las enfermedades autoinmunes, dado que se aplican en su diagnóstico y subclasificación, en el control de la actividad, así como en el establecimiento del pronóstico y de perfiles de riesgo específico. Los anticuerpos antinucleares (ANA) constituyen un grupo diverso de anticuerpos dirigidos contra antígenos nucleares, pero también contra algunos componentes como la envoltura nuclear, el aparato mitótico o antígenos citoplasmáticos; considerados importantes marcadores en el diagnóstico de enfermedades autoinmunes, especialmente en las enfermedades reumáticas asociadas a ANA. Para su detección, existe una técnica considerada *gold standard* por el Colegio Americano de Reumatología (ACR) y por el Consenso Internacional de Patrones de ANA (ICAP), que es la inmunofluorescencia indirecta (IFI), en la que se utilizan principalmente las células HEp-2 (células humanas provenientes de un carcinoma epidermoide de laringe). Debido a que con esta técnica se observan patrones morfológicos muy variados, con una interpretación muy subjetiva, en 2014 se inició el ICAP para llegar a una armonización sobre la interpretación de resultados. Desde entonces se han llevado a cabo varias reuniones, sin embargo, todavía no se ha llegado a un acuerdo sobre algunos aspectos, dado que existe cierta controversia y además se detectan dificultades para poder realizar en todos los centros algunas de las propuestas. Uno de los apartados controvertidos y sin consenso actual es la asociación entre patrones de ANA y enfermedades autoinmunes, dado que se considera que la información disponible es escasa como para poder asesorar al respecto, por lo que se discute e investiga constantemente sobre las posibles relaciones existentes. No obstante, sí que existen estudios en los que se analiza la relación entre determinadas enfermedades autoinmunes y su relación con algunos parámetros de inmunidad, en los cuales nos hemos basado para realizar el estudio descriptivo de este trabajo en el que hemos analizado posibles asociaciones entre los patrones de ANA y distintos parámetros inmunológicos.

Palabras clave: “anticuerpos antinucleares”, “enfermedades autoinmunes”, “enfermedades reumáticas”, “parámetros de inmunidad”, “inmunofluorescencia indirecta”, “anticuerpos”, “anti-dsADN”.

ABSTRACT AND KEY WORDS

The study of autoantibodies constitutes a fundamental tool for the approach of autoimmune diseases, since it applied in their diagnosis and subclassification, in the control of activity, as well as in the establishment of prognosis and specific risk profiles. Antinuclear antibodies (ANA) constitute a diverse group of antibodies recognising nuclear antigens but also against other components such as nuclear envelope, mitotic apparatus or cytoplasmic antigens; they are considered important markers in in the diagnosis of autoimmune diseases, especially in ANA associated rheumatic diseases. For their detection, there is a technique considered as gold standard by the American College of Rheumatology (ACR) and by International Consensus on Antinuclear Antibody Patterns, which is indirect immunofluorescence (IIF), in which HEp-2 cells (human cells coming from an epidermoid carcinoma of the larynx) are mainly used. Since there is a wide variety of morphological patterns and their interpretation is very subjective, in 2014 the ICAP was initiated in order to reach a harmonization on the interpretation of the outcomes. Since then, several meetings have taken place, however, an agreement on some aspects has not been reached yet, given that there is some controversy and there are also difficulties in being able to implement some of the proposals in all centres. One of the controversial sections without current consensus is the association between ANA patterns and autoimmune diseases, since it is considered that the available information is

scarce to be able to advice on the matter, discussions are constantly held, and research is carried out on possible links. However, there are studies in which the relationship between certain autoimmune diseases and their relationship to some immunity parameters is analysed, on which we have based the descriptive study of this work, in which we have also analysed possible associations between ANA patterns and diverse immunological parameters.

Key words: *“antinuclear antibodies”, “autoimmune diseases”, “rheumatic diseases”, “immunologic parameters”, “indirect immunofluorescence”, “antibodies”, “anti-dsDNA”.*

2. INTRODUCCIÓN

2.1. ENFERMEDADES AUTOINMUNES

Las enfermedades autoinmunes se definen como aquellas enfermedades que son consecuencia de reacciones de base inmunitaria, habitualmente crónicas, en las que las dianas o blancos de la respuesta inmunitaria son moléculas propias denominadas autoantígenos. Constituyen un amplio espectro de trastornos, ya que existen más de 300 enfermedades autoinmunes humanas que afectan en conjunto al 2-5% de la población mundial y suponen una notable carga de morbilidad y mortalidad (1). Se pueden dividir en dos grupos en función de las estructuras a las que afectan: aquellas que son específicas de tejidos y, por otro lado, aquellas en las que están afectados múltiples tejidos, también denominadas sistémicas (Figura 1). En las enfermedades autoinmunes específicas de tejidos la respuesta inmune suele ser frente a autoantígenos expresados en dicho tejido, mientras que en las sistémicas son varios autoantígenos frente a los cuales se genera la respuesta inmune. A pesar de existir dos grupos, las EAS se definen por ciertos criterios comunes a todas, que serían: i) la presencia en suero de autoanticuerpos reactivos frente a autoantígenos (tejido-específicos o sistémicos) o de autoanticuerpos unidos a la célula diana; ii) la demostración del papel patogénico de los autoanticuerpos; iii) la presencia de infiltrados linfocitarios crónicos en los tejidos afectados (linfocitos y macrófagos); iv) la demostración de que los linfocitos T infiltrantes pueden ser *in vitro* activados por un autoantígeno; v) además existen modelos animales *experimentales* que imitan la enfermedad en humanos (1, 2).

Establecer un diagnóstico en pacientes con enfermedades autoinmunes puede ser complejo e incluso en muchos casos puede suponer un importante desafío, dado que este espectro de trastornos autoinmunes comparte mecanismos inmunológicos y una clínica en ocasiones inespecífica, por lo que resulta difícil concretar la enfermedad que padece el paciente. De hecho, esta complejidad afecta a casi todos los aspectos de las enfermedades autoinmunes, como la genética, la expresión fenotípica y su cinética. En el caso de la cinética, con frecuencia hay un periodo prolongado (meses o años) desde el inicio de los síntomas y el desarrollo del fenotipo clínico que permite el diagnóstico. Además, la expresión de la enfermedad puede variar dentro del mismo individuo a lo largo del tiempo (1-3).

En las enfermedades autoinmunes la respuesta inmunitaria tiene las características de una respuesta inmunitaria adaptativa que, aunque generalmente se encuentra dirigida contra antígenos exógenos, en este caso su diana son autoantígenos (2). La asociación de los autoanticuerpos específicos a distintos fenotipos clínicos proporciona claves fundamentales para comprender la patogénesis y la fisiopatología de las enfermedades autoinmunes. Existe una sorprendente asociación entre el fenotipo clínico y las dianas de la respuesta autoinmune; de hecho, esta asociación es tan significativa que, en ocasiones los autoanticuerpos se utilizan en el diagnóstico y pronóstico de las enfermedades autoinmunes humanas (3).

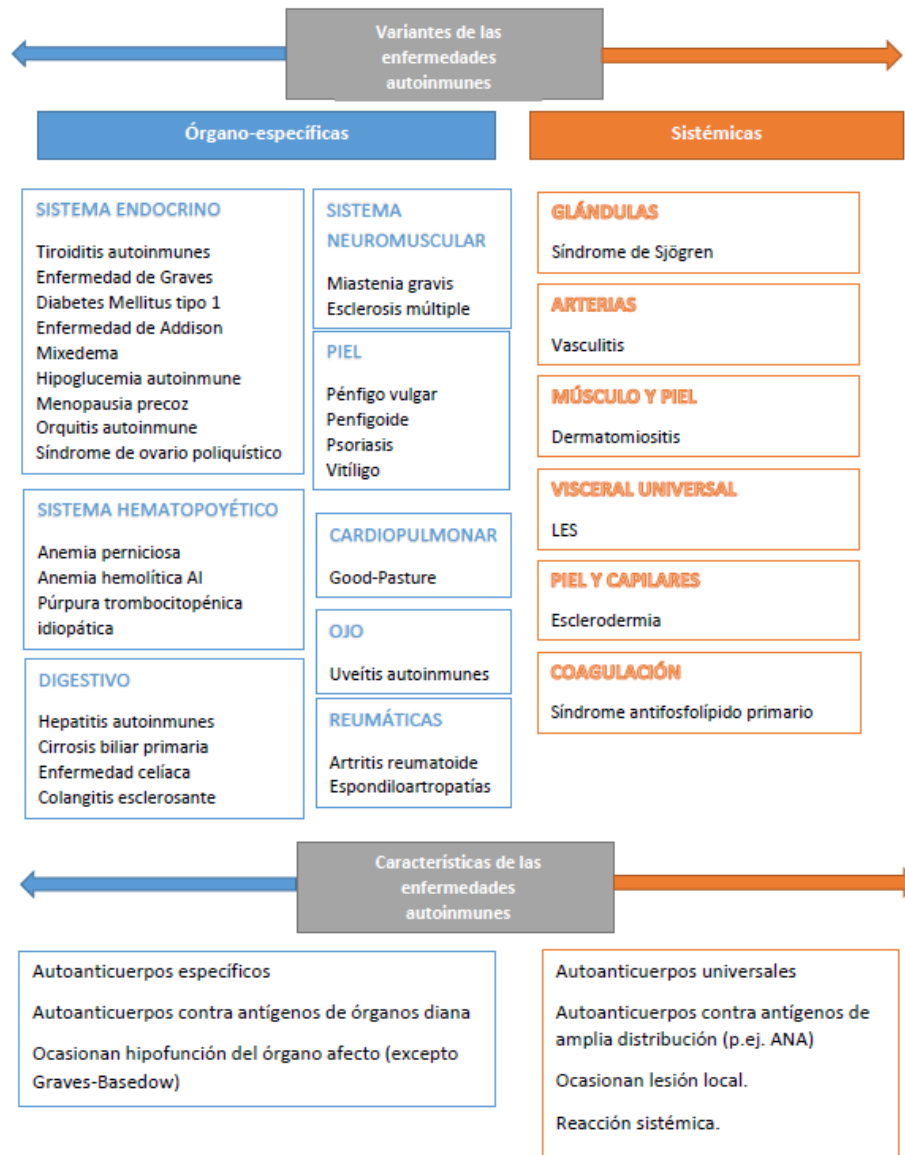


Figura 1. Variantes de enfermedades autoinmunes y características.

A continuación, se describen algunas de las enfermedades autoinmunes más frecuentes que se han incluido en el presente trabajo:

LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO (LES): es una enfermedad autoinmune en la que se produce un daño crónico mediado por dos mecanismos: i) depósito de inmunocomplejos y ii) daño directo por autoanticuerpos específicos. Esta enfermedad puede afectar prácticamente a cualquier órgano, motivo por el cual se denomina sistémico. El grado de afectación, el curso y el pronóstico de la enfermedad son muy variables, predominando las formas leves de la enfermedad, aunque un 85% de los pacientes presenta clínica de manera continua o en forma de brotes, es decir, alternan periodos de actividad y remisión, aunque la remisión completa es muy rara (4, 5).

El LES es más frecuente en mujeres (9:1) en edad fértil (90%) aunque se puede dar a cualquier edad. Su prevalencia en España se estima en 9/100000 habitantes. Las manifestaciones más

frecuentes son inespecíficas, tales como febrícula, malestar, astenia, anorexia, artralgias o pérdida de peso, característicamente se presentan en relación con enfermedad activa, ya que hasta el 95% las presentan (6). La prevalencia de ANA en el LES es del 98%, por lo que su ausencia prácticamente descarta la enfermedad. El diagnóstico se realiza en base a las manifestaciones clínicas del paciente y los hallazgos de laboratorio (4-6).

SÍNDROME DE SJÖGREN (SSj): se trata de una enfermedad inflamatoria crónica producida por un trastorno en el sistema inmunitario, que produce característicamente una disminución en la secreción de las glándulas exocrinas (lacrimales y salivales), aunque puede afectar a otros órganos, incluso llegando a producir una afectación severa. Puede ser primaria o secundaria a otras EAS (5, 6).

Afecta mayoritariamente a mujeres de mediana edad (9:1). La prevalencia del SSj primario es del 0'5-4%, mientras que la prevalencia del SSj secundario es del 20%. Los pacientes que padecen este síndrome presentan un riesgo mayor de linfoma y de cáncer de tiroides, así como de cirrosis biliar primaria. El diagnóstico se basa en criterios clínicos como la sequedad ocular u oral (cuyo patrón de oro es la biopsia de las glándulas salivares), y criterios inmunológicos: la presencia de anti-SSA (Ro60) y anti-SSB (La) (5, 6).

ESCLEROSIS SISTÉMICA (ES): es una enfermedad multisistémica crónica, caracterizada por la aparición de alteraciones cutáneas (engrosamiento/endurecimiento de la piel y fibrosis de los órganos internos), vasculares (fenómeno de Raynaud, úlceras digitales, hipertensión arterial pulmonar), gastrointestinales y enfermedad pulmonar intersticial. Existen dos tipos en función de la extensión de la afectación cutánea: la cutánea difusa, que es de peor pronóstico, y la cutánea limitada, que es de mejor pronóstico y en la que se incluye el síndrome de CREST (calcinosis, Raynaud, dismotilidad esofágica, esclerodactilia y telangiectasia) (5, 6).

Suele aparecer en la quinta década de la vida y es más frecuente en mujeres (3:1), especialmente durante la edad fértil (15:1). Un 95% de pacientes con ES presentan ANA positivos, en general con un patrón nucleolar o centromérico, con diferentes especificidades en función del cuadro clínico asociado. Los anticuerpos específicos de ES se asocian con las diferentes formas clínicas (5, 6).

SÍNDROME ANTIFOSFOLÍPIDO (SAF): es una trombofilia mediada por anticuerpos antifosfolípido, que se detectan hasta en un 1-5% de la población general. Es de etiología desconocida y se caracteriza por trombosis de repetición, abortos espontáneos y pérdidas fetales, además de la presencia de los anticuerpos mencionados. Otras manifestaciones frecuentes son: trombocitopenia, anemia hemolítica, lívedo reticularis, valvulopatía cardíaca y cefalea. Cuando aparece de forma aislada, se puede denominar SAF primario, sin embargo, lo más habitual es que se encuentre en el contexto de otra enfermedad, lo más frecuente es en pacientes con LES, en cuyo caso se denomina SAF secundario. Al igual que las otras enfermedades autoinmunes mencionadas, es más frecuente en mujeres (5).

2.2. ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

Los anticuerpos antinucleares (ANA) son inmunoglobulinas dirigidas contra estructuras del núcleo celular, como las ribonucleoproteínas, las histonas, el centrómero o incluso el DNA. No son específicos, ya que en casi todas las enfermedades autoinmunes sistémicas se observa la presencia de ANA y, además, estos anticuerpos también han sido detectados en enfermedades no reumáticas, en pacientes con un síndrome clínico no definido o incluso en sujetos sanos, por lo que un resultado positivo debe ser interpretado en el contexto clínico del paciente y en relación con otros parámetros inmunológicos (7). Sin embargo, presentan una elevada sensibilidad y es ahí donde radica su utilidad, resultando especialmente importantes como elementos diagnósticos en las enfermedades reumáticas con ANA asociados (SARD). La incidencia de estos anticuerpos varía de manera significativa debido a que existe una amplia diversidad de patrones de los ANA y a las variaciones étnicas y genéticas presentes en la población, así como a factores ambientales (8).

Los ANA son evaluados convencionalmente por inmunofluorescencia indirecta (IFI). La detección de ANA por IFI es la técnica de elección y tiene como ventaja obtener información sobre el patrón de tinción de inmunofluorescencia, lo que constituye un valor clínico añadido. El sustrato más utilizado son las células humanas de un carcinoma epidermoide de laringe denominadas HEp-2. La razón por la que esta constituye la técnica *gold standard* es porque la IFI proporciona el reconocimiento tanto de patrones nucleares como de patrones citoplasmáticos y mitóticos e, incluso, permite detectar anticuerpos dirigidos contra antígenos celulares que todavía no han sido completamente identificados. Todo esto se debe en buena parte a que el sustrato celular utilizado procede de una línea tumoral y, por tanto, se trata de células con núcleos prominentes y en todas las fases del ciclo celular (incluidas las distintas fases de la mitosis) lo que permite la visualización de una manera relativamente sencilla de los distintos patrones de fluorescencia (9). Se trata de una técnica que presenta alta especificidad, pero baja sensibilidad; hecho que sustenta la recomendación general de emplear una estrategia de detección secuencial con un cribado inicial con IFI sobre HEp-2 y posterior confirmación con otras técnicas capaces de identificar anticuerpos específicos (10, 11).

Esta técnica se lleva a cabo incubando las muestras, habitualmente suero, de pacientes con un sustrato antigénico que permite la unión específica de los autoanticuerpos presentes en la muestra a los núcleos de las células. Cuando hay presencia de ANA, se forma un complejo antígeno-anticuerpo estable. Posteriormente, se realiza un lavado para retirar los anticuerpos no unidos o unidos de forma inespecífica y se incuba el sustrato con un anticuerpo anti-inmunoglobulina conjugado con un fluorocromo (habitualmente fluoresceína). Si el resultado es positivo, se forma un complejo estable con tres partes: el anticuerpo fluorescente unido al anticuerpo antinuclear del paciente, unido a su vez al antígeno nuclear (Figura 2). Este compuesto se puede visualizar con la ayuda de un microscopio de fluorescencia. En las muestras positivas, los núcleos celulares mostrarán una fluorescencia de color verde brillante, con un patrón de tinción propio de la característica distribución del antígeno nuclear en las células. Cuando no hay presencia de ANA en las muestras, el núcleo presentará un patrón de fluorescencia nuclear difícilmente discernible (12).

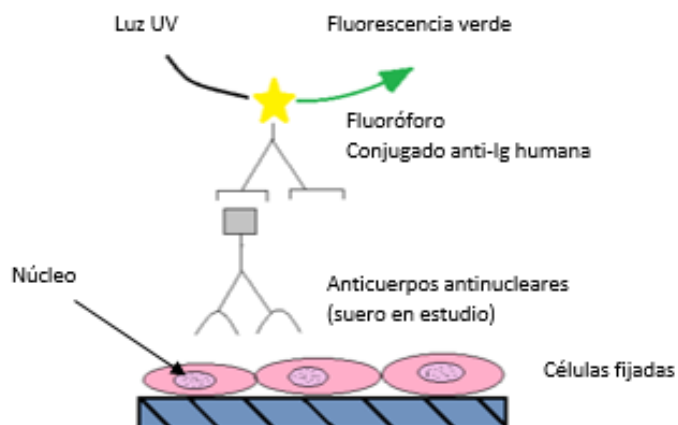


Figura 2. Representación esquemática de la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) para la detección de anticuerpos antinucleares.

2.3. NUEVA CLASIFICACIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

Los patrones morfológicos observados en los ensayos de IFI sobre células HEp-2 son muy variados y su interpretación es muy subjetiva, por lo que, con el objetivo de llegar a un acuerdo sobre estas cuestiones, se inició el Consenso Internacional de Patrones de ANA (ICAP) en el año 2014 (13).

En el primer consenso ICAP, se presentó la propuesta de un árbol clasificatorio de ANA en el que a cada patrón le corresponde un código alfanumérico, denominado AC (siglas en inglés de *anti-cell*) (Figura 3) (14). En esta clasificación se incluyeron tanto los patrones nucleares como los citoplasmáticos y mitóticos, considerados todos como positivos. Esto constituye un punto importante puesto que se desvía de ciertas normas sobre los informes de ANA de algunos laboratorios de diagnóstico clínico en los que sólo se informaban aquellos patrones considerados clínicamente relevantes mientras que se ignoraban otros patrones “menos importantes”. Se consideró que el hecho de no declarar todos los patrones y ocultar información podía ser potencialmente perjudicial, por lo que se argumentó que se debía informar de cualquier patrón observado y *a posteriori* se conocería la relevancia clínica. Dentro del árbol clasificatorio desarrollado, se hizo una distinción entre patrones considerados de nivel competente y los de nivel experto, según el nivel de capacitación que tuviera el observador que llevaba a cabo el estudio de los ANA mediante IFI proponiéndose que dichos niveles fuesen equivalentes a la descripción más simple de niveles “básico” y “avanzado”. La clasificación de patrones como nivel competente no siguió criterios estrictos, pero tuvo en cuenta la relevancia clínica y la consistencia morfológica de los patrones. Todo ello se realizó con el objetivo de promover una integración gradual de los informes de resultados de los ANA a un nivel superior con capacitación continua (14, 15).

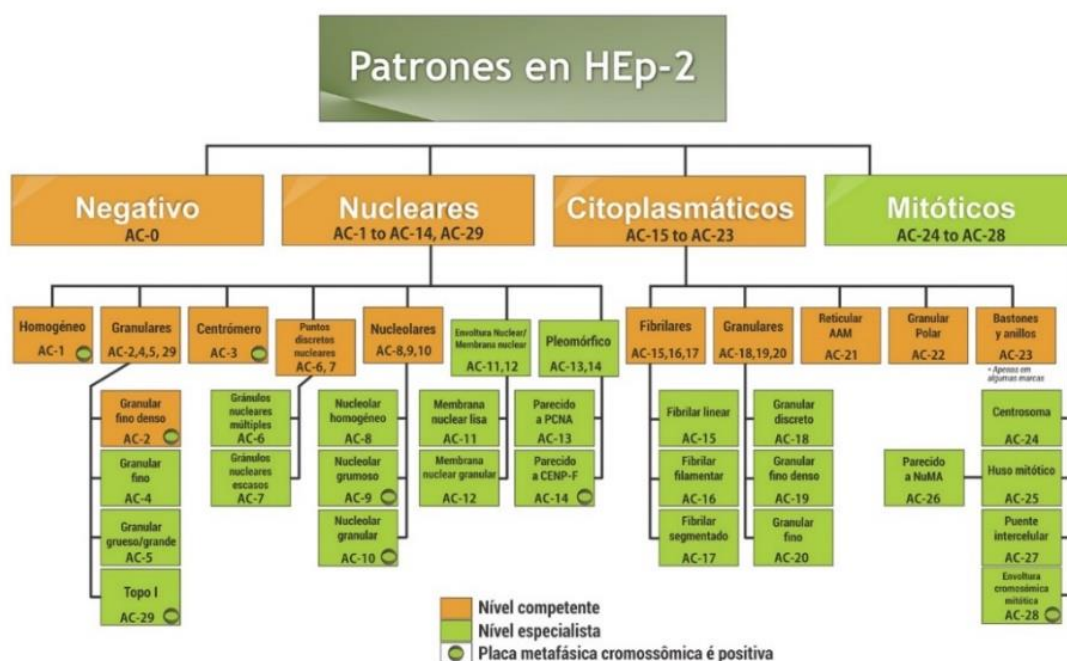


Figura 3. Nomenclatura y árbol clasificatorio de los patrones de ANA por IFI del primer consenso ICAP (16).

El segundo seminario ICAP se centró en dos temas importantes. El primero de ellos era la cuestión de si los patrones citoplasmático y mitótico debían ser considerados como positivos o negativos. El segundo asunto fue el asesoramiento a los médicos clínicos sobre la posible importancia y significado clínico de los patrones observados. No obstante, también se debatió sobre el nombre de la prueba, dado que “test de ANA” puede considerarse inapropiado para denominar a una prueba que también detecta anticuerpos contra antígenos en el citoplasma y el aparato mitótico, pero no se acordó ningún otro nombre alternativo ni tampoco aceptar “anticuerpos anti-células” propuesto por las recomendaciones de la EASI/IUIS. Con relación a estas cuestiones, se propusieron dos alternativas para informar sobre los resultados de los patrones de ANA y ambas diferían sobre la consideración de los patrones citoplasmático y mitótico como positivos o negativos, dado que en la primera eran tomados como positivos y en la segunda como negativos. En estas propuestas, el informe debía consistir en 3 puntos: tipo de ensayo utilizado, resultado de la prueba y, si se consideraba apropiado, asesoramiento sobre el resultado obtenido. Con relación a estos tres puntos del informe, en el primero “tipo de ensayo” se debía especificar el método usado, proporcionando también el nombre del fabricante del kit de ensayo, hecho que se considera importante puesto que algunos anticuerpos y sus respectivos patrones aparecen preferentemente en las preparaciones de determinadas marcas comerciales. Sobre el segundo apartado, “resultado de la prueba”, este debía informarse con la siguiente secuencia: positivo/negativo-patrón-título. La nomenclatura utilizada sería la acordada en el primer consenso ICAP. Respecto al tercer apartado, “asesoramiento”, se estuvo de acuerdo en que las relaciones entre la clínica y los patrones de ANA estaban pobremente definidas, por lo que es necesaria más información sobre esto antes de poder asesorar según el resultado obtenido. Finalmente, hubo un consenso sobre que el resultado de la prueba debe ser informado como positivo o negativo y, si es positivo, se deben incluir el patrón observado

con IFI (empleando la nomenclatura ICAP) y la intensidad de fluorescencia o el título, además de información sobre el sistema utilizado para realizar la prueba y asesoramiento clínico cuando sea posible (8, 17).

Por otro lado, los miembros del ICAP establecieron la necesidad de reflexionar y madurar más sobre la cuestión de si los patrones citoplasmático y mitótico deben ser considerados como positivos o negativos, aunque se acordó ampliamente que algunos patrones citoplasmáticos son clínicamente relevantes y que, por tanto, no han de ser pasados por alto. La iniciativa de la actividad del ICAP fue de gran ayuda para plantear y también difundir la importancia de la correcta identificación y denominación de los diversos patrones de los ANA observados con el sustrato HEp-2 en IFI. Además, en el segundo taller se identificaron cuestiones no planteadas hasta la fecha, que debían abordarse en próximos consensos ICAP (8, 17).

Como preparación para el tercer taller de ICAP en Kyoto (2016) (8, 10), se comenzó la redacción de los documentos de relevancia clínica para los patrones nucleares, citoplasmáticos y mitóticos. La junta ejecutiva de ICAP comentó los documentos disponibles hasta el momento y, tras haber hecho los ajustes oportunos, se analizaron con los participantes del taller. Los comentarios de los participantes se centraron principalmente en la estructura de la información proporcionada, en el nivel de detalle necesario y en el formato recomendado de las pruebas de seguimiento (8, 10).

Finalmente, en el cuarto taller de ICAP en Dresde (2017), se terminó de completar el conjunto de documentos de relevancia clínica para todos los patrones, incluyendo comentarios adicionales de la junta directiva de ICAP previamente consensuados (10). Dichos documentos fueron analizados de manera individual con los participantes del taller para los patrones nucleares, citoplasmáticos y mitóticos. Hubo un acuerdo general de que la información debía proporcionarse en formato tabular a dos niveles distintos. El primer nivel debía contener información sobre pruebas de seguimiento relevantes en el contexto clínico respectivo, las pruebas de seguimiento recomendadas debían estar disponibles comercialmente y las características detalladas de la prueba no debían darse debido a posibles diferencias geográficas y jurisdiccionales. La información basada en informes de casos o pequeñas cohortes de pacientes, así como la de posibles pruebas de seguimiento que sólo están disponibles en laboratorios de investigación especializados, únicamente debían proporcionarse en el segundo nivel de información (10).

2.4. PATRONES DE FLUORESCENCIA

El patrón de fluorescencia indica la estructura celular de la que forma parte el autoantígeno contra el que se dirige el autoanticuerpo. Las células son analizadas tanto en interfase como en división, dado que algunas de las estructuras celulares sólo se manifiestan en determinados momentos del ciclo celular e incluso cambian de aspecto a lo largo del mismo. Los patrones no son específicos puesto que varias enfermedades pueden producir el mismo patrón y una misma enfermedad puede manifestarse con patrones distintos. Esto último ocurre porque en caso de coexistir varios anticuerpos con títulos distintos o dirigidos contra antígenos del mismo compartimento celular, algunos de ellos podrían quedar enmascarados. A pesar de que se están

haciendo muchos esfuerzos por implementar algoritmos de reconocimiento de patrones en sistemas automatizados de IFI, actualmente la lectura del patrón observado sigue siendo subjetiva. Con este objetivo, en 2014 se alcanzó un consenso internacional para la nomenclatura y clasificación de los principales patrones, comentado en el epígrafe anterior (14). Existen un total de 28 patrones ICAP designados con un código alfanumérico de AC para cada uno, que comprenden desde AC-1 hasta AC-28 (Figura 4).

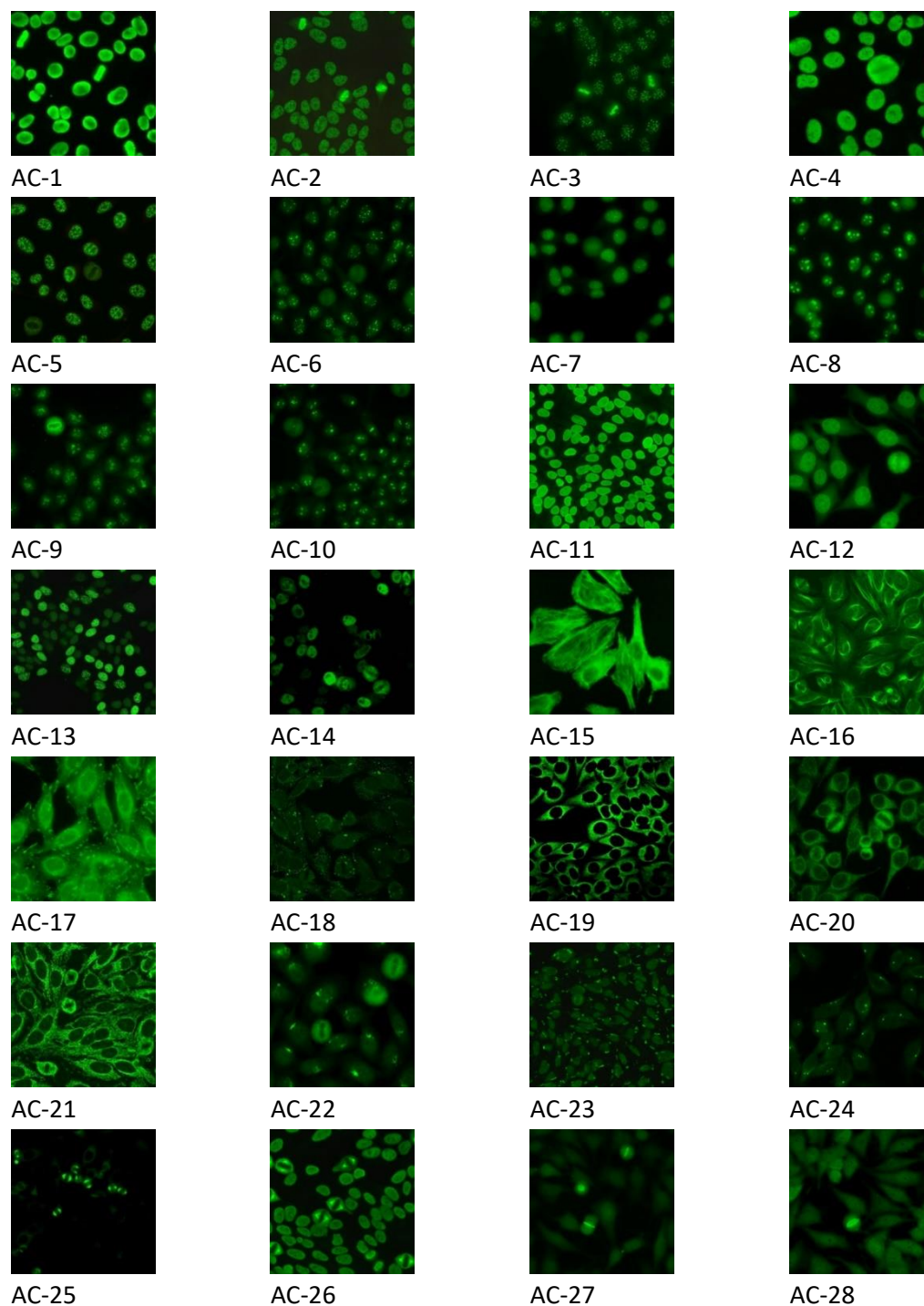


Figura 4. Imágenes de los patrones de ANA con IFI (16).

2.5. PATRONES DE ANA, ANTÍGENOS RELACIONADOS Y ENFERMEDADES ASOCIADAS

En el año 2015 se celebró en Dresde un simposio sobre autoanticuerpos titulado *“From autoantibody research to standardized diagnostic assays in the management of human diseases”* (15), el cual marcó el comienzo de la iniciativa del ICAP. En este taller se presentaron 145 documentos centrados en aspectos novedosos de la investigación y diagnóstico de autoanticuerpos. En ese momento se decidió establecer el ICAP como un taller cuyo objetivo era discutir en profundidad y promover el consenso en cuanto a la variedad de matices de patrones morfológicos observados en el estudio por IFI en células HEp-2. Desde entonces, se han llevado a cabo varios talleres en los que se ha discutido ampliamente sobre la nomenclatura de los patrones de los ANA, el tipo de ensayo que llevar a cabo, los diversos tipos de patrones morfológicos y la relación de estos patrones con diferentes parámetros inmunológicos, así como la relación con enfermedades (14, 15). Aunque la información existente entre la asociación de enfermedades autoinmunes y patrones de ANA se considera insuficiente para poder establecer asesoramiento clínico, sí que se ha investigado sobre este tema y se han demostrado, al menos, las siguientes asociaciones entre distintos patrones de ANA con distintos autoantígenos y a su vez con distintas enfermedades autoinmunes (3, 16). Un resumen de dichas asociaciones se encuentra esquematizado en la siguiente tabla 1:

Tabla 1. Patrones de ANA, antígenos relacionados y enfermedades asociadas (3, 16).

Nombre	ICAP	Antígenos relacionados	Enfermedades asociadas
Nuclear homogéneo	AC-1	dsDNA, nucleosomas, histonas	LES, lupus inducido por fármacos, AIJ
Nuclear granular fino denso	AC-2	DFS70/LEDGF-P75	Vogt Koyanagi Harada, SIDA, dermatitis atópica; raro en LES, SSj y ES
Centrómero	AC-3	CENP-A/B (C)	ES cutánea limitada, CBP
Nuclear granular fino	AC-4	SSA/Ro, SSB/La, Scl-70, Mi-2, TIF1γ, TIF1β, Ku, RNA helicasa A, proteína de replicación A	SS, LES, EMTC, ES, DM, solapamiento en ES/PM, AR
Nuclear granular grueso	AC-5	hnRNP, U1RNP, Sm, RNA polimerasa III	EMTC, LES, ES, SS
Gránulos nucleares múltiples	AC-6	Sp-100, proteínas PML, MJ/NXP-2	CBP, EAS, PM/DM
Gránulos nucleares escasos	AC-7	P80-coilina, SMN	SS, LES, ES, PM, controles sanos
Nucleolar homogéneo	AC-8	PM/Scl-75, PM/Scl-100, Th/To, B23/nucleofosmina, nucleolina, No55/SC65	ES, solapamiento ES/PM
Nucleolar grumoso	AC-9	U3snoRNP/fibrilarina	ES
Nucleolar granular	AC-10	RNA polimerasa I, hUBF/NOR-90	ES, SS
Membrana nuclear lisa	AC-11	Láminas A, B, C, o proteínas asociadas con las láminas	LES, SS, artritis seronegativa
Membrana nuclear granular	AC-12	Proteínas del complejo del poro nuclear (gp22)	CBP

Nombre	ICAP	Antígenos relacionados	Enfermedades asociadas
Parecido a PCNA	AC-13	Antígeno nuclear de células proliferativas (PCNA)	LES, otras enfermedades
Parecido a CENF-P	AC-14	Proteína del centrómero F (CENF-P)	Cáncer, enfermedades inflamatorias (Crohn, SS)
Citoplasmático fibrilar linear	AC-15	Actina, miosina no muscular	EMTC (raro en otras EAS), hepatitis AI, CBP, cirrosis, enfermedad de Crohn, miastenia gravis, hemodiálisis
Citoplasmático fibrilar filamentar	AC-16	Vimentina, citoqueratina, tropomiosina	Infecciones, hepatopatía alcohólica, psoriasis, hemodiálisis, EAS, controles sanos
Citoplasmático fibrilar segmentado	AC-17	Actina α , vinculina	Miastenia gravis, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa
Citoplasmático granular discreto/parecido a cuerpos GW	AC-18	GW182, Su/Ago2, Ge-1	CBP, EAS, enfermedades neurológicas
Citoplasmático granular fino denso	AC-19	PL-7, PL-12, antígeno P ribosomal	Síndrome antisintetasa, PM/DM, LES, LES juvenil, LES neuropsiquiátrico
Citoplasmático granular fino	AC-20	Jo-1	Síndrome antisintetasa, PM/DM, ES limitada, derrame pleural idiopático
Citoplasmático reticular/AAM	AC-21	PDC-E2/M2, BCOADC-E2, OGDC-E2, subunidad E1 α de PDC, E3BP/proteína X	Común en CBP, ES generalizada; raro en otras EAS
Citoplasmático granular Polar/tipo Golgi	AC-22	Giantina/macrogolagina, golgin-95/GM130, Golgina-160, golgina-97, golgina-245	Ataxia cerebelosa, infecciones virales; raro en SS, LES, AR, EMTC
Bastones y anillos	AC-23	IMPDH2	Algunos pacientes infectados con VHC tras tratamiento con IFN/ribavirina; raro en LES, Hashimoto y controles sanos
Centrosoma	AC-24	Pericentrina, nineína, Cep250, Cep110	Infecciones (virus y <i>Mycoplasma</i>); raro en ES
Huso mitótico	AC-25	HsEg5	Raro en SS, LES, otras EAS
Parecido a NuMA	AC-26	NuMA	SS, LES, otras EAS
Puente intercelular	AC-27	Aurora quinasa B, CENP-E, MSA-2, KIF-14, MKLP-1	Neoplasias malignas; raro en ES
Envoltura cromosómica mitótica	AC-28	Histona H3 modificada, MCA-1	Raro en lupus discoide, SS, polimialgia reumática y leucemia linfocítica crónica

Cabe mencionar que, en varios estudios se ha observado que el antígeno DFS70/LEDGF se encuentra presente con mayor frecuencia en población sana que en pacientes con SARD, por lo que en algunos de estos estudios se afirmaba que, si este antígeno se mostraba durante el estudio de un sujeto, se excluía la posibilidad de padecer una SARD; no obstante, se ha demostrado que no están completamente ausentes en estas enfermedades. Ante esta información, se considera que para alcanzar un consenso definitivo sobre la utilización de este antígeno como biomarcador fiable para la exclusión de diagnóstico SARD, se requerirá la realización de más ensayos multicéntricos con gran diversidad racial, étnica y geográfica de cohortes diferentes de SARD e individuos sanos. Dichos estudios, deberían usar ensayos de

detección de anticuerpos altamente sensibles y específicos, así como evaluar cuidadosamente tanto los algoritmos de detección de ANA ya disponibles como los más recientes que incluyan estos anticuerpos (18).

3. OBJETIVOS

El objetivo principal del presente Trabajo Fin de Grado ha sido comprobar, tal y como ha sido ya reportado en otros estudios (15), si la introducción de la estandarización en la nomenclatura de los patrones de los ANA según el consenso establecido por la ICAP puede ayudar a definir mejor el diagnóstico en nuestro entorno, esto es, en una cohorte de pacientes con EAS controlados en el Servicio de Medicina Interna del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza.

Así mismo, se pretende analizar si existe alguna correlación entre la definición de los patrones de los ANA según la nueva nomenclatura establecida por la ICAP con distintos parámetros inmunológicos de autoinmunidad en dicha cohorte de pacientes.

Para ello se plantean los siguientes objetivos específicos:

- Observar la distribución del patrón principal de los ANA de la cohorte a estudio, así como analizar su asociación con las enfermedades padecidas por los sujetos estudiados.
- Analizar determinados parámetros de inmunidad y función renal en pacientes con LES y poder comparar los valores obtenidos en sujetos con esta patología y diferentes patrones de ANA.
- Comparar los valores de varios parámetros de inmunidad y función renal en pacientes que presenten simultáneamente LES y nefritis lúpica, para observar el grado de afectación en estos sujetos en función de los diferentes patrones de los ANA que presenten.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

La información expuesta en este estudio se basa en la búsqueda bibliográfica sistemática realizada en la base de datos de Medline (PUBMED) y en la literatura derivada de libros de la sección de Inmunología de la Biblioteca de la Facultad de Medicina de la Universidad de Zaragoza. Para ello, se han tenido en cuenta artículos publicados entre 2015 y 2020, limitando la búsqueda de estos a lengua inglesa y artículos de habla hispana. Adicionalmente, se han utilizado los términos MeSH (*Medical Subject Headings*) para controlar el vocabulario, siendo las palabras clave: “*antinuclear antibodies*”, “*autoimmune diseases*”, “*rheumatic diseases*”, “*immunologic parameters*”, “*indirect immunofluorescence*”, “*antibodies*”, “*anti-dsDNA*”.

Con respecto a la búsqueda, se incluyen un total de dieciocho referencias sobre la utilidad de los ANA, la nueva clasificación de estos, los diferentes patrones de inmunofluorescencia, su relación con enfermedades autoinmunes y con distintos parámetros de inmunidad, así

como la utilidad de esta información en la práctica clínica, disponibles en la actualidad y seleccionadas en función de la disponibilidad en versión completa y relevancia para el estudio. Estas referencias son: quince artículos, un tratado de diagnóstico y tratamiento de EAS, tres libros y una página web.

4.2. ANÁLISIS DE LA COHORTE

Este trabajo se realizó en el Servicio de Inmunología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa.

4.2.1. SELECCIÓN DE LAS MUESTRAS

El trabajo según la cronología de los datos utilizados y analizados es de tipo observacional retrospectivo. Sobre datos recogidos con anterioridad a la iniciación del estudio se puede proponer un modelo para realizar un determinado análisis de los mismos.

Se han seleccionado los datos de 333 pacientes, procedentes del Servicio de Medicina Interna del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa de Zaragoza. El periodo analizado fue el comprendido entre diciembre de 2018 y noviembre de 2019. El criterio inmunológico de selección fue la presencia de ANA positivos.

La selección de los pacientes se realizó empleando el Sistema Informático de Laboratorio instalado en los laboratorios del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa Modulab Laboratorio Versión 3.1.01 (*Werfen*). El Sistema Informático de Laboratorio Modulab Laboratorio Versión 3.1.01 (*Werfen*) permite exportar la información de las muestras en el formato de Hoja de Cálculo. Las muestras se ordenan en dicha Hoja de Cálculo por fecha de extracción y la pseudoanonimización se realizó mediante la sustitución de los datos del paciente por un número correlativo que carece de relación con la información original.

4.2.2. ANÁLISIS DE LOS RESULTADOS

En primer lugar, se realizó un estudio descriptivo de todas las variables que forman parte del estudio, mediante frecuencias absolutas y porcentajes en el caso de las variables cualitativas; media y desviación estándar en variables cuantitativas que seguían una distribución normal, y mediana y rango intercuartílico cuando no seguían distribuciones normales.

En segundo lugar, se realizó un análisis bivalente entre cada una de las 3 variables principales del estudio (patrón de ANA, título de ANA, diagnóstico) y el resto de las variables. Para este análisis se utilizó el estadístico Chi-Cuadrado de *Pearson*, cuando las variables independientes eran cualitativas, analizando los residuales de *Haberman* para determinar entre qué categorías de las variables existía asociación. Cuando más del 20% de las frecuencias esperadas eran menores de 5 se recurrió, en las comparaciones basadas en tablas de contingencia de 2×2 , a la prueba exacta de

Fisher. Para las variables cuantitativas, se empleó el estadístico *t-Student* si las distribuciones eran normales o, U de *Mann-Whitney* y *Kruskall-Wallis* si no seguían distribuciones normales. La normalidad de las variables cuantitativas continuas se evaluó con la prueba de *Kolmogorov-Smirnov* o *Shapiro-Wilk* en función del número de ítems analizado.

En tercer lugar, los valores del título de ANA se dicotomizaron para distintos puntos de corte (menor a igual a 1:320, mayor a 1:320; menor o igual a 1:640, mayor a 1:640) y se calcularon las *odds ratio* y sus intervalos de confianza de 95% entre estas nuevas variables y la variable de primer diagnóstico.

El nivel de significación se fijó en $p < 0,05$ y los paquetes de software empleados fueron Excel 2010 Office 365 (*Microsoft*) y *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) versión 22.0 con licencia de la Universidad de Zaragoza.

Las variables solicitadas en el estudio son:

- edad
- sexo
- primer diagnóstico de enfermedad
- segundo diagnóstico de enfermedad
- patrón de ANA
- título de ANA
- Anticuerpos anti-dsDNA (Quimioluminiscencia)
- Anticuerpos anti-dsDNA (IFI)
- Anticuerpos anti-Sm
- Anticuerpos anti-histonas
- Anticuerpos anti-nucleosomas
- Anticuerpos anti-RNP
- Anticuerpos anti-ribosomal
- Anticuerpos anti-Ro60
- Anticuerpos anti-Ro52
- PCR
- Factor C3 del complemento
- Factor C4 del complemento
- Urea
- Creatinina
- Ácido úrico
- Filtrado glomerular calculado (CKD-EPI)

4.3. INMUNOFLUORESCENCIA INDIRECTA

La detección de los ANA se realizó mediante la técnica de IFI, empleando como sustrato las células tumorales humanas procedentes de un carcinoma epidermoide laríngeo denominadas HEP-2, cuyo fundamento se ha explicado previamente en el apartado 2.2. La técnica de IFI se llevó a cabo de manera automatizada en el Servicio de Inmunología del Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa empleando el equipo 'HELIOS' (*Aesku Systems*).

5. RESULTADOS

5.1. DATOS EPIDEMIOLÓGICOS: DISTRIBUCIÓN POR SEXO Y EDAD

Se analizó una cohorte de 333 pacientes, de los cuales 244 eran mujeres (73,3%) y 89 varones (26,7%) (Figura 6.A). La media de edad de la muestra a estudio fue de 58,83 años, con un rango de edad comprendido entre 14 y 94 años (Figura 6.B). Todos los pacientes estudiados presentaron un primer patrón de ANA y 64 (19,21%) de ellos presentaron asociado un segundo patrón de ANA. Se analizó la muestra por intervalos de edad. El primero comprendió a pacientes menores de 30 años con 23 (6,9%) pacientes incluidos. El segundo intervalo de edad comprendió desde los 30 años hasta los 49, y fueron incluidos 84 (25,23%) sujetos. El tercer rango de edad abarcó desde los 50 años hasta los 69 y en él se encontraron 113 (33,9%) pacientes, número análogo al cuarto intervalo de edad que incluyó a pacientes con edad mayor o igual a 70 años.

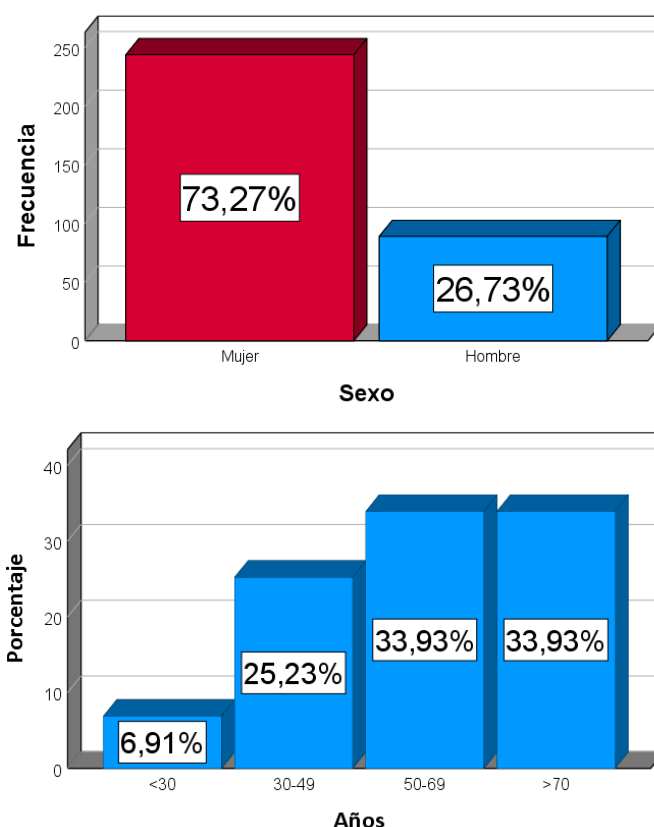


Figura 5. Distribución de pacientes según sexo (A) y según edad (B).

5.2. DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES SEGÚN EL DIAGNÓSTICO

En primer lugar, se analizó la distribución de la cohorte de estudio seleccionada en función del primer diagnóstico de enfermedad (Tabla 2).

Tabla 2. Distribución de los pacientes según el primer diagnóstico.

	NOAI	LES	SJO	SCLE	EASNF	SAF	OTRAS	Total
Frecuencia	151	67	21	24	39	7	24	333
Porcentaje	45,3%	20,1%	6,3%	7,2%	11,7%	2,1%	7,2%	100,0%

De la cohorte de pacientes estudiados todos presentaron ANA positivos y se observó que 151 (45,3%) se asociaron a pacientes sin enfermedades autoinmunes. En el grupo de pacientes con ANA asociados a enfermedades autoinmunes, la más frecuente fue el LES, presente en 67 (20,1%) pacientes. Cabe destacar que, en la cohorte estudiada hubo 39 (11,7%) pacientes que presentaron una enfermedad autoinmune todavía no filiada.

En segundo lugar, se analizó la distribución de la cohorte de estudio seleccionada en función de la presencia de segunda enfermedad autoinmune clasificada como segundo diagnóstico (Tabla 3).

Tabla 3. Distribución de los pacientes según el segundo diagnóstico.

	NOENF	NL	CBP	SJO	LES	SAF	Total
Frecuencia	298	10	3	10	3	9	333
Porcentaje	89,5%	3,0%	0,9%	3,0%	0,9%	2,7%	100,0%

De la cohorte de pacientes estudiada, 35 (10,5%) pacientes presentaron un segundo diagnóstico de enfermedad. La frecuencia de presentación de estas fue muy similar, dado que nefritis lúpica y síndrome de Sjögren afectaban cada una de ellas a 10 (3%) pacientes, seguidas de SAF que estaba presente en 9 (2,7%) pacientes. Se observó que el LES fue la enfermedad autoinmune más frecuente en esta cohorte de pacientes como primer diagnóstico, sin embargo, como segundo diagnóstico fue la menos frecuente.

5.3. DISTRIBUCIÓN DE LOS PACIENTES SEGÚN EL PATRÓN DE ANA

También se analizó la distribución de la cohorte de estudio seleccionada en función del patrón de ANA observado. (Tabla 4).

Tabla 4. Distribución de los pacientes según el patrón de ANA.

		Frecuencia	Porcentaje
Patrón ANA	AC-1	59	17,7%
	AC-2	2	0,6%
	AC-3	18	5,4%
	AC-4	115	34,5%
	AC-5	55	16,5%
	AC-6	12	3,6%
	AC-7	1	0,3%
	AC-8-10	14	4,2%
	AC-8	13	3,9%
	AC-9	7	2,1%
	AC-10	1	0,3%
	AC-12	4	1,2%
	AC-16	6	1,8%
	AC-18-20	15	4,5%
	AC-18	3	0,9%
	AC-19	2	0,6%
	AC-20	2	0,6%
	AC-21	1	0,3%
	AC-24-28	1	0,3%
	AC-24	1	0,3%
	AC-26	1	0,3%
	Total	333	100,0%

A partir de los datos obtenidos, se pudo concluir que el patrón AC-4 (granular fino) fue el más frecuente en la cohorte de pacientes estudiados, presente en 115 (34,5%) sujetos. El segundo patrón más frecuente fue el AC-1 (homogéneo) presente en 59 (17,7%) pacientes, seguido por el patrón AC-5 (granular grueso) observado en 55 (16,5%) sujetos.

5.4. DISTRIBUCIÓN DE LOS PATRONES DE ANA POR ENFERMEDADES

En la cohorte estudiada se analizó la distribución del patrón de ANA en función de las diferentes enfermedades presentes en el primer diagnóstico (Anexo 1).

Con relación a los datos obtenidos, se pudo observar que, según la distribución del patrón de ANA en la cohorte, el patrón AC-4 (granular fino) fue el más frecuente en los pacientes con enfermedad no autoinmune, confirmado en 55 (36,4%) de los pacientes. En cuanto al LES, el patrón AC-1 (homogéneo) fue el más frecuente, presente en 25 (37,3%) pacientes, seguido por el patrón AC-5 (granular grueso) observado en 15 (22,4%) sujetos. En el caso de los pacientes con síndrome de Sjögren, el patrón más frecuente fue el AC-4 (granular fino) presente en 10 (47,6%) sujetos con este diagnóstico, seguido del patrón AC-5 (granular grueso) como segundo patrón más frecuente, observado en 7 (33,3%) pacientes con este síndrome. Respecto a los pacientes que padecían esclerodermia, el patrón más frecuente fue el AC-3 (centromérico), con 11 (45,8%) sujetos con esta enfermedad. En el caso de los pacientes con síndrome antifosfolípido, el patrón más frecuente fue el AC-4

(granular fino) presente en 4 (57,1%) de los pacientes con esta enfermedad. Por último, en las enfermedades incluidas en el grupo de otras enfermedades autoinmunes, el patrón más frecuente también fue el AC-4 (granular fino), confirmado en 13 (54,2%) de los pacientes.

Por otro lado, se observó que varios patrones estaban presentes únicamente en pacientes con enfermedades no autoinmunes, dichos patrones fueron: AC-16 (citoplasmático granular fino denso), AC-21 (mitocondrial), AC-24-28 (mitótico), AC-24 (centrosoma) y AC-26 (NuMA-like).

Además, también hubo patrones que sólo se presentaron en el contexto de enfermedad autoinmune, los cuales son: AC-2 (granular fino denso), AC-7 (escasos puntos nucleares) y AC-10 (nucleolar punteado). (Tabla 1).

Por otra parte, se observaron diferencias significativas entre algunas enfermedades y el patrón de ANA, que fueron las siguientes: enfermedad no autoinmune con patrón AC-3 (centromérico) ($p=0,012$), con patrón AC-16 (citoplasmático granular fino denso) ($p<0,008$) y con patrón AC-18-20 (citoplasmático granular) ($p=0,006$); LES con patrón AC-1 (homogéneo) ($p=0,001$), con patrón AC-2 (granular fino denso) ($p=0,040$), con patrón AC-4 (granular fino) ($p=0,009$) y con patrón AC-18-20 (citoplasmático granular) ($p=0,048$); esclerodermia con patrón AC-3 (centromérico) ($p=0,001$); SAF con patrón AC-7 (escasos puntos nucleares) ($p=0,021$); otras enfermedades autoinmunes con patrón AC-4 (granular fino) ($p=0,036$).

5.5. DISTRIBUCIÓN DE LOS PATRONES DE ANA POR ENFERMEDADES

También se realizó el estudio de la distribución de los títulos de ANA por enfermedades. Para ello, se estableció en primer lugar un punto de corte de un título de ANA $\leq 1:320$ (Tabla 6).

Tabla 5. Distribución de títulos de ANA $\leq 1:320$ según enfermedades.

			Primer Diagnóstico						
			NOAI	EA	LES	SJO	SCLE	SAF	OTRA
Títulos ANA≤1:320	≤1:320	Recuento	113	108	38	13	2	6	18
		% dentro de ANA≤1:320	51,1%	48,9%	17,2%	5,9%	0,9%	2,7%	8,1%
		% dentro de Primer Diagnóstico	74,8%	59,3%	56,7%	61,9%	8,3%	85,7%	75%
	>1:320	Recuento	38	74	29	8	22	1	6
		% dentro de ANA≤1:320	33,9%	66,1%	25,9%	7,1%	19,6%	0,9%	5,4%
		% dentro de Primer Diagnóstico	25,2%	40,7%	43,3%	38,1%	91,7%	14,3%	25%

En el subgrupo de pacientes con ANA asociados a enfermedades no autoinmunes un 25,2% de los pacientes presentaron títulos $>1:320$, a diferencia de los pacientes con enfermedad

autoinmune en los que el 40,7% presentaron títulos >1:320; con diferencias significativas ($p<0,004$). También se observaron diferencias en la proporción de títulos de ANA $\leq 1:320$ entre pacientes con esclerodermia ($p<0,001$) y con otro tipo de enfermedades ($p<0,001$). Con respecto al resto de enfermedades autoinmunes, no se hallaron diferencias estadísticamente significativas.

Posteriormente, se realizó el estudio de la distribución de los títulos de ANA por enfermedades estableciendo un punto de corte de un título $\leq 1:640$ (Tabla 7).

Tabla 6. Distribución de títulos de ANA $\leq 1:640$ según enfermedades.

		Primer Diagnóstico						
		NOAI	EA	LES	SJO	SCLE	SAF	OTRA
Títulos ANA $\leq 1:640$	Recuento	143	159	61	20	10	7	23
	% dentro de ANA $\leq 1:640$	47,40%	52,60%	20,20%	6,60%	3,30%	2,30%	7,60%
	% dentro de Primer Diagnóstico	94,70%	87,40%	91%	95,20%	41,70%	100%	95,80%
	Recuento	8	23	6	1	14	0	1
	% dentro de ANA $\leq 1:640$	25,80%	74,20%	19,40%	3,20%	45,20%	0%	3,20%
	% dentro de Primer Diagnóstico	5,30%	12,60%	9%	4,80%	58,30%	0%	4,20%

Cuando se analizó la presencia de títulos con este nuevo punto de corte se observó que el 5,3% de los pacientes sin enfermedad autoinmune presentaban títulos de ANA >1:640, mientras que en el caso de los pacientes con enfermedad autoinmune la presencia de títulos de ANA >1:640 fue del 12,6%.

Por lo tanto, se observó que los pacientes con enfermedad autoinmune presentaban títulos de ANA más altos que aquellos que padecían una enfermedad no autoinmune, no obstante, en la cohorte estudiada la mayoría de pacientes con enfermedad autoinmune presentaban títulos de ANA $< 1:640$; además, estas diferencias en la proporción de títulos de ANA $\leq 1:640$ entre pacientes con enfermedad autoinmune y no autoinmune fueron estadísticamente significativas ($X^2(1) = 4,432$, $p<0,035$).

5.6. DISTRIBUCIÓN DEL TÍTULO DEL PATRÓN DE ANA EN ENFERMEDAD AUTOINMUNE NO FILIADA

Se analizó la relación entre la distribución del patrón de ANA y sus títulos con la presencia de enfermedad autoinmune no filiada.

En primer lugar, se analizó la distribución del patrón de ANA en el grupo de pacientes con una enfermedad autoinmune no filiada (Anexo 1).

En los datos obtenidos se observó que, en los pacientes con enfermedad autoinmune no filiada, el principal patrón mostrado fue el AC-4 (granular fino), presente en 13 (33,3%)

pacientes. El segundo patrón más frecuente fue el AC-1 (homogéneo) presente en 8 (20,5%) pacientes; seguido por el patrón AC-5 (granular grueso) observado en 7 (17,9%) pacientes. En estos resultados se pudo comprobar que el patrón de ANA presentó una distribución similar a la observada en la muestra en conjunto, puesto que los tres patrones más frecuentes fueron los mismos.

En segundo lugar, para realizar el estudio de la distribución de los títulos de ANA según enfermedad autoinmune no filiada, se estableció un punto de corte de un título de ANA \leq 1:320 (Tabla 8).

Tabla 7. Distribución de títulos de ANA \leq 1:320 en enfermedades autoinmunes no filiadas.

			EAS no filiada	
			No	Sí
Títulos ANA\leq1:320	\leq1:320	Recuento	190	31
		% dentro de ANA\leq1:320	86%	14%
		% dentro de EASNF	64,6%	79,5%
	>1:320	Recuento	104	8
		% dentro de ANA\leq1:320	92,9%	7,1%
		% dentro de EASNF	35,4%	20,5%

De la cohorte de pacientes estudiados, en el momento del estudio, de los 39 pacientes que padecían enfermedad autoinmune no filiada, 31 (79,5%) pacientes presentaron títulos de ANA \leq 1:320 y 8 (20,5%) mostraron títulos de ANA $>$ 1:320. No se encontraron diferencias significativas.

De forma similar a lo realizado previamente, se realizó el estudio de la distribución de los títulos de ANA según enfermedad autoinmune no filiada, pero esta vez estableciendo un punto de corte de un título de ANA \leq 1:640 (Tabla 9).

Tabla 8. Distribución de títulos de ANA \leq 1:640 en enfermedades autoinmunes no filiadas.

			EAS no filiada	
			No	Sí
Títulos ANA\leq640	\leq1:640	Recuento	264	38
		% dentro de ANA\leq640	87,4%	12,6%
		% dentro de EASNF	89,8%	97,4%
	>1:640	Recuento	30	1
		% dentro de ANA\leq1:640	96,8%	3,2%
		% dentro de EASNF	10,2%	2,6%

De la cohorte de pacientes estudiados, en el momento del estudio, de los 39 pacientes que padecían enfermedad autoinmune no filiada, 38 (97,4%) pacientes presentaron títulos de ANA \leq 1:640 y 1 (2,6%) mostró un título de ANA $>$ 1:640.

Estos resultados indican que las enfermedades autoinmunes no filiadas presentaban con mayor frecuencia títulos bajos de ANA, especialmente \leq 1:640 en la cohorte de pacientes estudiada; no obstante, las diferencias halladas no fueron estadísticamente significativas.

5.7. ASOCIACIÓN DE LES CON DISTINTOS PARÁMETROS INMUNOLÓGICOS Y DE FUNCIÓN RENAL

Dado que, dentro de la cohorte de estudio, el diagnóstico más frecuente fue LES, se analizó la asociación y las diferencias existentes en pacientes que presentaban LES en relación con varios parámetros de interés en esta enfermedad. Se analizaron parámetros inmunológicos relacionados con la actividad de la enfermedad en LES (PCR, anticuerpos anti-DNA y niveles de los factores del complemento C3 y C4) así como parámetros relacionados con la función renal (urea, creatinina, ácido úrico y filtrado glomerular calculado CKD-EPI). Los valores de normalidad de los parámetros estudiados se indican en el Anexo 2.

En primer lugar, se analizaron los mencionados parámetros de actividad en LES y función renal en los 57 pacientes cuyo único diagnóstico fue LES, esto es, se excluyó a aquellos pacientes que presentaban nefritis lúpica como segundo diagnóstico (Tabla 10).

Tabla 9. Parámetros de actividad en LES y función renal en pacientes con LES.

	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
PCR (mg/dL)	0,02	14,5	0,93	2,66
Ac. Anti-DNA (IU/mL)	9,8	666,9	59,74	127,21
C3 (mg/mL)	44,8	141	88,7	22,96
C4 (mg/mL)	5,4	39,8	17,5	7,69
Urea (g/L)	0,09	0,62	0,33	0,11
Creatinina (mg/dL)	0,51	1,35	0,81	0,18
Ácido úrico (mg/dL)	1,9	8,8	4,53	1,27
FG Calculado (CKD-EPI) (ml/min/1,73m ²)	38,16	90	82,52	13,16

Posteriormente, se analizaron los mismos parámetros de actividad en LES y función renal en pacientes que padecían únicamente LES, en función del patrón de ANA que presentaban, comenzando por los 18 pacientes con LES que presentaban patrón AC-1 (homogéneo) como patrón de ANA (Tabla 11).

Tabla 10. Parámetros de actividad en LES y función renal en pacientes con LES y patrón AC-1.

	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
PCR (mg/dL)	0,08	14,5	2,69	5,25
Ac. Anti-DNA (IU/mL)	9,8	666,9	88,33	158,76
C3 (mg/mL)	44,8	140	88,38	26,97
C4 (mg/mL)	5,4	30	17,4	7,7
Urea (g/L)	0,22	0,62	0,38	0,13
Creatinina (mg/dL)	0,64	1,35	0,92	0,24
Ácido úrico (mg/dL)	3,2	7,4	5,07	1,28
FG Calculado (CKD-EPI) (ml/min/1,73m ²)	38,16	90	75,16	19,91

También se analizaron dichos parámetros en 13 pacientes que sólo padecían LES y presentaban un patrón AC-4 (granular fino) como patrón de ANA (Tabla 12).

Tabla 11. Parámetros de actividad en LES y función renal en pacientes con LES y patrón AC-4.

	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
PCR (mg/dL)	0,03	2,77	0,69	0,76
Ac. Anti-DNA (IU/mL)	9,8	58,7	20,29	16,86
C3 (mg/mL)	64	141	96,76	23,17
C4 (mg/mL)	5,8	39,8	18,79	10,76
Urea (g/L)	0,09	0,58	0,3	0,13
Creatinina (mg/dL)	0,61	1	0,8	0,12
Ácido úrico (mg/dL)	3	6,4	4,24	0,95
FG Calculado (CKD-EPI) (ml/min/1,73m ²)	63,58	90	82,46	9,19

Finalmente, se analizaron los parámetros de actividad en LES y función renal en 2 pacientes que padecían únicamente LES y presentaban como patrón de ANA un patrón AC-8 (nucleolar homogéneo) (Tabla 13).

Tabla 12. Parámetros de actividad en LES y función renal en pacientes con LES y patrón AC-8.

	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
PCR (mg/dL)	0,09	0,46	0,28	0,26
Ac. Anti-DNA (IU/mL)	71,9	147,3	109,6	53,31
C3 (mg/mL)	96,2	96,2	96,2	N/A
C4 (mg/mL)	22,5	22,5	22,5	N/A
Urea (g/L)	0,33	0,36	0,34	0,02
Creatinina (mg/dL)	0,72	1,04	0,88	0,22
Ácido úrico (mg/dL)	4,5	8,8	6,65	3,04
FG Calculado (CKD-EPI) (ml/min/1,73m ²)	90	90	90	0

Aquellos pacientes que presentaban únicamente LES (excluyendo los pacientes que además presentaban nefritis lúpica como segundo diagnóstico), presentaron diferencias estadísticamente significativas, con respecto a los pacientes que no padecían LES, en los siguientes parámetros: niveles de DNA ($p=0,001$), C3 ($p=0,0001$), C4 ($p=0,001$), urea ($p=0,006$), creatinina ($p=0,019$), ácido úrico ($p=0,003$) y FG calculado ($p=0,002$).

En los pacientes con patrón AC-1 (homogéneo) se observaron los niveles más altos de algunos parámetros y, además, mostraron diferencias estadísticamente significativas respecto a aquellos pacientes que no presentaban dicho patrón; en concreto, los parámetros con valores más altos fueron: PCR ($p=0,017$), urea ($p=0,043$) y creatinina ($p=0,004$).

Los pacientes que presentaban mayores valores de anticuerpos anti-DNA, C4, ácido úrico, filtrado glomerular calculado (CKD-EPI) fueron los que mostraron patrón AC-8 (nucleolar homogéneo); se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas únicamente en los valores de ácido úrico ($p=0,015$) con respecto a aquellos pacientes que presentaban un patrón de ANA diferente a ese. Los pacientes que presentaron mayores niveles de C3 fueron los que presentaban patrón AC-4 (granular fino), pero esta diferencia no fue estadísticamente significativa.

Por otro lado, las menores cifras de PCR se vieron en los pacientes que presentaban patrón AC-8 (nucleolar homogéneo), sin mostrar diferencias estadísticamente significativas; los valores más bajos de anticuerpos anti-DNA, urea, creatinina y ácido úrico se vieron en pacientes con patrón AC-4 (granular fino), sin embargo, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas; mientras que las cifras más bajas de C3, C4 y filtrado glomerular calculado (CKD-EPI) ($p=0,006$) se observaron en pacientes con patrón AC-1.

Se analizaron las medias de cada uno de los parámetros y se establecieron comparaciones entre los pacientes con LES sin nefritis lúpica con cada uno de los subgrupos en función del patrón que presentaban los pacientes, así como comparaciones de medias entre los diferentes subgrupos. De este análisis solo se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en los valores de ácido úrico entre: i) los pacientes con LES sin nefritis lúpica y los pacientes con LES sin nefritis lúpica y que presentaban patrón AC-8 (nucleolar homogéneo) ($p=0,032$) y ii) los pacientes con LES sin nefritis lúpica con patrón AC-4 (granular fino) y los pacientes con LES sin nefritis lúpica con patrón AC-8 (nucleolar homogéneo) ($p=0,029$). También se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de anticuerpos anti-DNA en los pacientes con LES sin nefritis lúpica con patrón AC-4 (granular fino) y los pacientes con LES sin nefritis lúpica con patrón AC-8 (nucleolar homogéneo) ($p=0,001$).

5.8. ASOCIACIÓN DE LES Y NEFRITIS LÚPICA CON DISTINTOS PARÁMETROS INMUNOLÓGICOS Y DE FUNCIÓN RENAL

Tras analizar la asociación de los parámetros de actividad de la enfermedad y los parámetros de función renal en los pacientes de la cohorte de estudio que tenían únicamente un diagnóstico de LES, se realizó el mismo análisis en pacientes que presentaban simultáneamente LES y nefritis lúpica.

En primer lugar, se analizaron los mismos parámetros de actividad en LES y función renal en el total de 10 pacientes que padecían LES y nefritis lúpica (Tabla 14).

Tabla 13. Parámetros de actividad en LES y función renal en pacientes con LES y nefritis lúpica.

	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
PCR (mg/dL)	0,07	1,35	0,48	0,42
Ac. Anti-DNA (IU/mL)	9,8	666,9	102,1	199,83
C3 (mg/mL)	61	134	92,99	22,83
C4 (mg/mL)	9,3	37,8	20,63	9,2
Urea (g/L)	0,16	1,1	0,47	0,27
Creatinina (mg/dL)	0,44	2,45	1,13	0,56
Ácido úrico (mg/dL)	2,4	6,8	5,02	1,62
FG Calculado (CKD-EPI) (ml/min/1,73m ²)	19,23	90	65,71	24,4

Dado que los 10 pacientes que presentaban ambas patologías mostraron patrones de ANA diferentes, se analizaron las características de estos parámetros con cada uno de los cuatro patrones observados.

En primer lugar, se analizaron los parámetros de actividad en LES y función renal en los 7 pacientes que padecían LES y nefritis lúpica y que presentaban un patrón de ANA AC-1 (homogéneo) (Tabla 15).

Tabla 14. Parámetros de actividad en LES y función renal en pacientes con LES, nefritis lúpica y patrón AC-1.

	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
PCR (mg/dL)	0,07	0,94	0,44	0,32
Ac. Anti-DNA (IU/mL)	9,8	666,9	130,47	238,01
C3 (mg/mL)	61	114	89,61	20,64
C4 (mg/mL)	13,2	33,9	19,3	7,24
Urea (g/L)	0,16	0,51	0,34	0,13
Creatinina (mg/dL)	0,44	1,3	0,89	0,32
Ácido úrico (mg/dL)	2,4	6,8	4,47	1,66
FG Calculado (CKD-EPI) (ml/min/1,73m ²)	44,14	90	76,31	17,07

En segundo lugar, se analizaron los mismos parámetros en el único paciente con LES y nefritis lúpica que tenía un patrón AC-4 (granular fino) (Tabla 16).

Tabla 15. Parámetros de actividad en LES y función renal en pacientes con LES, nefritis lúpica y patrón AC-4.

	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
PCR (mg/dL)	0,23	0,23	0,23	N/A
Ac. Anti-DNA (IU/mL)	57,3	57,3	57,3	N/A
C3 (mg/mL)	94,9	94,9	94,9	N/A
C4 (mg/mL)	24,1	24,1	24,1	N/A
Urea (g/L)	0,72	0,72	0,72	N/A
Creatinina (mg/dL)	1,32	1,32	1,32	N/A
Ácido úrico (mg/dL)	6,2	6,2	6,2	N/A
FG Calculado (CKD-EPI) (ml/min/1,73m ²)	40,05	40,05	40,05	N/A

También se analizaron estos parámetros de actividad en LES y función renal en el paciente que padecía LES y nefritis lúpica y que presentaba un patrón AC-8 (nucleolar homogéneo) (Tabla 17).

Tabla 16. Parámetros de actividad en LES y función renal en pacientes con LES, nefritis lúpica y patrón AC-8.

	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
PCR (mg/dL)	0,11	0,11	0,11	N/A
Ac. Anti-DNA (IU/mL)	29,7	29,7	29,7	N/A
C3 (mg/mL)	73,7	73,7	73,7	N/A
C4 (mg/mL)	9,3	9,3	9,32	N/A
Urea (g/L)	0,47	0,47	0,47	N/A
Creatinina (mg/dL)	1,3	1,3	1,3	N/A
Ácido úrico (mg/dL)	6,2	6,2	6,2	N/A
FG Calculado (CKD-EPI) (ml/min/1,73m ²)	63,62	63,62	63,62	N/A

Finalmente, se analizaron los mismos parámetros de actividad en el único paciente con LES y nefritis lúpica con patrón AC-12 (membrana nuclear granular) (Tabla 18).

Tabla 17. Parámetros de actividad en LES y función renal en pacientes con LES, nefritis lúpica y patrón AC-12.

	Mínimo	Máximo	Media	Desviación Estándar
PCR (mg/dL)	1,35	1,35	1,35	N/A
Ac. Anti-DNA (IU/mL)	20,7	20,7	20,7	N/A
C3 (mg/mL)	134	134	134	N/A
C4 (mg/mL)	37,8	37,8	37,8	N/A
Urea (g/L)	1,1	1,1	1,1	N/A
Creatinina (mg/dL)	2,45	2,45	2,45	N/A
Ácido úrico (mg/dL)	6,5	6,5	6,5	N/A
FG Calculado (CKD-EPI) (ml/min/1,73m ²)	19,23	19,23	19,23	N/A

Dado que únicamente hubo 1 paciente por cada grupo con los patrones AC-4 (granular fino), patrón AC-8 (nucleolar homogéneo) y AC-12 (membrana nuclear granular), no fue factible la comparación con el grupo de 7 pacientes que presentaban un patrón AC-1 (homogéneo). En cualquier caso, los valores más altos de PCR ($p=0,020$), C3 ($p=0,050$), C4 ($p=0,040$), urea ($p=0,005$), creatinina ($p=0,003$) y ácido úrico así como los valores más bajos de anticuerpos anti-DNA y filtrado glomerular calculado (CKD-EPI) ($p=0,034$) se vieron en el paciente que presentaba un patrón AC-12 (membrana nuclear granular), obteniendo diferencias estadísticamente significativas en los valores de algunos parámetros en los pacientes que presentaban este patrón con respecto a los que presentaban otro diferente.

Por otra parte, las cifras más altas de anticuerpos anti-DNA y filtrado glomerular calculado (CKD-EPI) ($p=0,024$) así como los menores valores de urea ($p=0,015$), creatinina ($p=0,030$) y ácido úrico se observaron en los pacientes que presentaban un patrón AC-1 (homogéneo), en este patrón también se observaron diferencias estadísticamente significativas respecto a aquellos pacientes que presentaban otro patrón de ANA.

Las cifras más bajas de PCR, C3 y C4 fueron observadas en el paciente con un patrón AC-8 (nucleolar homogéneo), sin embargo, en este caso no se obtuvieron diferencias significativas. Respecto al paciente con LES y nefritis lúpica que presentaba un patrón AC-4 (granular fino), tanto sus parámetros de actividad en LES como de función renal estaban a caballo de los valores observados en los pacientes que presentaban los otros patrones de ANA, pero en ninguno de ellos se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas.

Además, en el análisis realizado entre los pacientes con LES y nefritis lúpica frente a los pacientes que presentaban LES sin nefritis lúpica, se observaron diferencias estadísticamente significativas en varios parámetros, en concreto, se evidenciaron diferencias en: urea ($p=0,011$), creatinina ($p=0,001$) y FG calculado ($p=0,003$).

5.9. ENFERMEDADES AUTOINMUNES Y RELACIÓN CON ESPECIFICIDADES ANTIGÉNICAS

En algunos pacientes de la cohorte estudiada, se analizó la presencia de autoanticuerpos dirigidos contra determinadas especificidades antigénicas, en concreto, las más relacionadas con LES: anticuerpos anti-Sm, anti-histonas, anti-nucleosomas, anti-RNP, anti-ribosomal P, anti-Ro52 y anti-Ro60. De los 333 pacientes incluidos en la cohorte estudiada se realizó el estudio de la presencia de los mencionados anticuerpos en 168 pacientes de los cuales 51 pacientes presentaban anticuerpos dirigidos contra al menos una de las especificidades antigénicas mencionadas. Los anticuerpos anti-Sm se observaron en 2 pacientes, los anticuerpos anti-histonas en 1 paciente, los anticuerpos anti-nucleosomas en 14 pacientes, 5 pacientes fueron positivos para los anticuerpos anti-RNP, los anticuerpos anti-Ro52 fueron positivos en 25 pacientes y los anticuerpos anti-Ro60 en 31 pacientes. Los anticuerpos anti-ribosomal P no fueron positivos en ninguno de los pacientes en los que se estudiaron las especificidades antigénicas indicadas.

En primer lugar, se analizó la distribución de los anticuerpos dirigidos contra las especificidades antigénicas mencionadas según las diferentes enfermedades que podían presentar los pacientes. La especificidad antigénica que se mostró en mayor número de pacientes fueron los anticuerpos anti-Ro52, dado que estuvieron presentes en 25 pacientes, de los cuales 9 tenían LES, 2 síndrome de Sjögren, 3 esclerodermia, 2 una enfermedad autoinmune no filiada, 1 paciente tenía otro tipo de enfermedad autoinmune y 8 pacientes presentaban enfermedad no autoinmune. Los anticuerpos anti-nucleosoma se encontraron en 14 pacientes, de los cuales 10 tenían LES. En cuanto al número total de anticuerpos dirigidos contra distintas especificidades antigénicas fueron los pacientes que padecían LES los que mostraron un número más elevado (14/51), seguido curiosamente de los pacientes que no tenían enfermedades autoinmunes (8/51) (Tabla 19).

Tabla 18. Distribución de especificidades antigénicas según enfermedades.

		Especificidades antigénicas						
		Anti-Sm	Anti-histonas	Anti-nucleosoma	Anti-RNP	Anti-ribosomal	Anti-Ro52	Anti-Ro60
Primer Diagnóstico	NOAI	0	0	2	1	0	8	8
	LES	2	1	10	1	0	9	14
	SJO	0	0	0	1	0	2	4
	SCLE	0	0	0	0	0	3	2
	EASNF	0	0	1	0	0	2	2
	SAF	0	0	1	0	0	0	0
	OTRAS	0	0	0	2	0	1	1
Total		2	1	14	5	0	25	31

Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas con relación a la presencia de enfermedad autoinmune y los anticuerpos anti-nucleosoma ($p=0,023$) y anticuerpos anti-Ro60 ($p=0,028$); sin embargo, no se pudieron demostrar diferencias estadísticamente significativas en relación con las demás especificidades analizadas.

Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en relación con la presencia de LES y los anticuerpos anti-Sm ($p=0,031$), anti-nucleosoma ($p=0,001$), anticuerpos anti-Ro60 ($p=0,001$) y anticuerpos anti-Ro52 ($p=0,018$); sin embargo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas con la presencia de anticuerpos: anti-histonas, anti-RNP y anti-ribosomal.

En el caso de los pacientes con síndrome de Sjögren, esclerodermia y SAF, no se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en relación con la presencia de las especificidades analizadas.

En los pacientes con otras enfermedades autoinmunes se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en relación con la presencia de anticuerpos anti-RNP ($p=0,040$).

En segundo lugar, se analizó la distribución de los anticuerpos dirigidos contra las mismas especificidades antigénicas, en función de los patrones de ANA. (Tabla 20).

Tabla 19. Distribución de especificidades antigénicas según el patrón de ANA.

Especificidades antigénicas								
	Anti-Sm	Anti-histonas	Anti-nucleosoma	Anti-RNP	Anti-ribosomal	Anti-Ro52	Anti-Ro60	
Patrón ANA	AC-1	2	1	6	2	0	3	6
	AC-3	0	0	1	0	0	1	1
	AC-4	0	0	4	0	0	4	7
	AC-5	0	0	1	2	0	15	17
	AC-6	0	0	0	0	0	1	0
	AC-8-10	0	0	1	0	0	0	0
	AC-8	0	0	1	0	0	0	0
	AC-18-20	0	0	0	0	0	1	0
	AC-20	0	0	0	1	0	0	0
Total	2	1	14	5	0	25	31	

Se obtuvieron diferencias estadísticamente significativas en el caso de pacientes con patrón AC-1 (homogéneo) y la presencia de las siguientes especificidades: anticuerpos anti-Sm ($p=0,027$) y anticuerpos anti-nucleosoma ($p=0,015$); en el caso de los pacientes con patrón AC-5 (granular grueso) hubo diferencias estadísticamente significativas en relación con anticuerpos anti-Ro52 ($p=0,001$); en los pacientes que presentaron patrón AC-4 (granular fino) se obtuvieron diferencias con relación a la presencia de anticuerpos anti-Ro52 ($p=0,040$). Sin embargo, no se observaron más diferencias estadísticamente significativas.

5.10. ENFERMEDADES AUTOINMUNES Y RELACIÓN CON ESPECIFICIDADES ANTIGÉNICAS

También se quiso analizar la presencia de autoanticuerpos dirigidos contra las mismas especificidades antigénicas del apartado anterior (anticuerpos anti-Sm, anti-histonas, anti-nucleosomas, anti-RNP, anti-ribosomal P, anti-Ro52 y anti-Ro60) en pacientes con enfermedad autoinmune no filiada.

En primer lugar, se analizó la distribución de los anticuerpos dirigidos contra estas especificidades antigénicas y su relación con los patrones de ANA observados (Tabla 21).

Tabla 20. Distribución de especificidades antigénicas, en enfermedad autoinmune no filiada, según el patrón de ANA.

		Anti-Sm	Anti-histonas	Anti-nucleosoma	Anti-RNP	Anti-ribosomal	Anti-Ro52	Anti-Ro60
Patrón ANA	AC-1	0	0	0	0	0	0	1
	AC-4	0	0	0	0	0	0	0
	AC-5	0	0	0	0	0	2	1
	AC-8-10	0	0	1	0	0	0	0
	AC-8	0	0	0	0	0	0	0
	AC-10	0	0	0	0	0	0	0
Total		0	0	1	0	0	2	2

Se observó que las especificidades antigénicas más frecuentes eran los anticuerpos anti-Ro52 y los anti-Ro60. Cabe recordar que, dentro de las enfermedades autoinmunes, estos anticuerpos se presentaban sobre todo en LES. Aunque el número de pacientes con enfermedad autoinmune no filiada que mostraron positividad en alguna de las especificidades determinadas fue muy reducido, sí que se observó que el patrón que se relacionó con mayor frecuencia a la positividad de estos anticuerpos fue el AC-5 (granular grueso), tal y como ocurría en el apartado anterior. Sólo se observaron diferencias estadísticamente significativas en los pacientes que presentaban patrón AC-5 (granular grueso) y anticuerpos anti-Ro52 ($p=0,036$).

6. DISCUSIÓN

En la cohorte estudiada, todos los pacientes presentaban ANA positivos, 224 pacientes de 333 fueron mujeres, lo que implica que estos autoanticuerpos son más comúnmente detectados en mujeres que en hombres (6). Al realizar el análisis de la distribución de los ANA por rangos de edad, se observó que el 67,86% de los pacientes con estos autoanticuerpos positivos tenían edades iguales o superiores a 50 años; en algunos estudios se ha demostrado que la prevalencia de los ANA aumenta con la edad (6), y en esta cohorte de estudio se demuestra tal hecho. En el estudio realizado también se comprobó que la positividad de ANA no está necesariamente ligada a la presencia de enfermedad autoinmune (7), dado que 151 pacientes con estos autoanticuerpos positivos presentaron enfermedades no autoinmunes.

Con el objetivo de conocer mejor la presencia de los diferentes patrones de ANA en la cohorte estudiada y la asociación existente con las enfermedades padecidas por los pacientes, se realizó un análisis de la distribución de los patrones de ANA en función de las enfermedades presentes en el primer diagnóstico, en el que se comprobó que el patrón AC-4 (granular fino) fue el más frecuente en toda la cohorte de estudio, además de ser el más frecuente en la mayoría de las enfermedades, incluidas las enfermedades autoinmunes no filiadas, con excepción de LES y esclerodermia. En este mismo análisis se observó que los patrones AC-16 (citoplasmático granular fino denso), AC-21 (mitocondrial), AC-24-28 (mitótico), AC-24 (centrosoma) y AC-26 (NuMA-like) estaban presentes únicamente en pacientes con enfermedades no autoinmunes, sin embargo, dado que dichos patrones sólo se observaron en 1 paciente respectivamente no se puede extrapolar que estos patrones se presenten únicamente en pacientes con enfermedades no autoinmunes, por lo que en otros pacientes podrían observarse en el contexto de enfermedad autoinmune (3, 16). Además, los patrones AC-2 (granular fino denso), AC-7 (escasos puntos nucleares) y AC-10 (nucleolar punteado) sólo se presentaron en el contexto de enfermedad autoinmune, no obstante, estos patrones pueden verse con mayor frecuencia asociados a otras enfermedades diferentes a las que han presentado los pacientes de nuestra cohorte (3, 16).

En la cohorte estudiada, se realizó el estudio de la distribución de los títulos de ANA por enfermedades, primero se estableció un punto de corte de ANA $\leq 1:320$ y, luego se estableció un segundo punto de corte de ANA $\leq 1:640$. En este análisis se observó que los pacientes con enfermedad autoinmune presentaban títulos de ANA más altos que aquellos que padecían una enfermedad no autoinmune, tal y como se ha descrito en diversos estudios (6), no obstante, la

mayoría de los pacientes con enfermedad autoinmune presentaban títulos de ANA <1:640. Cabe destacar que, en el caso de las enfermedades autoinmunes no filiadas, estas presentaban con mayor frecuencia títulos bajos de ANA.

En relación con los parámetros inmunológicos, un aumento de la PCR indica un estado inflamatorio general, mientras que la presencia de valores elevados de los anticuerpos anti-DNA se relacionan con la actividad del LES. Así mismo, habitualmente un descenso del factor C4 del complemento con valores normales del factor C3 es indicativo de un consumo del complemento por una activación del mismo a través de la vía clásica lo que a su vez, se correlaciona con la actividad de LES. Con los datos obtenidos en el análisis de estos parámetros en los pacientes que padecían LES sin nefritis lúpica, parece que el patrón AC-1 (homogéneo) se relaciona con un estado inflamatorio general, ya que mostraron los valores de PCR más elevados, así como con una mayor actividad del LES (valores elevados de los anticuerpos anti-DNA y sobre todo los valores bajos de los factores del complemento). Igualmente, en los pacientes con un patrón AC-1 (homogéneo) se pudo observar una mayor afectación de la función renal. En cuanto a lo observado en los pacientes con los otros dos patrones de ANA, tanto en los pacientes con el patrón AC-4 (granular fino) como en los pacientes con el patrón AC-8 (nucleolar homogéneo), el estado inflamatorio general fue menor, con valores de la PCR más bajos que los observados en los pacientes con el patrón AC-1 (homogéneo). En cuanto a los parámetros de la actividad del LES, hay diferencias en los valores de estos entre los pacientes con los patrones AC-4 (granular fino) y AC-8 (nucleolar homogéneo). Mientras que los valores de los factores del complemento fueron similares en ambos grupos de pacientes y con valores dentro de la normalidad; los anticuerpos anti-DNA fueron bajos en los pacientes con un patrón AC-4 (granular fino) pero muy elevados en los pacientes con un patrón AC-8 (nucleolar homogéneo). Respecto a la función renal, tanto en el grupo de pacientes con un patrón AC-4 (granular fino) como en los pacientes con un patrón AC-8 (nucleolar homogéneo), los parámetros estudiados indican que su afectación renal es menor a la observada en el grupo de pacientes con un patrón AC-1 (homogéneo). En resumen, y a la vista de los resultados, parece que el patrón AC-1 (homogéneo) se asocia con una mayor actividad del LES, que a su vez puede traducirse en una mayor afectación renal. Debido a que el número de pacientes analizados que presentan estas características en nuestra cohorte es reducido, no se puede afirmar que estas observaciones sean extensibles a toda la población que presente estas características; no obstante, si estos resultados se pudieran confirmar, sería interesante desde el punto de vista pronóstico, para establecer un control más estrecho de la función renal de aquellos pacientes que presenten patrón AC-1 (homogéneo).

Con los datos obtenidos en el análisis realizado en los pacientes que padecían LES y nefritis lúpica, se observó que el paciente con un patrón AC-12 (membrana nuclear granular) presentó mayor afectación renal, mientras que curiosamente los pacientes que presentaron mejor función fueron aquellos que mostraron un patrón AC-1 (homogéneo). Esto puede ser debido a que, dada su afección renal conocida y a la relación del patrón AC-1 (homogéneo) con la actividad del LES, los pacientes con LES y nefritis lúpica pueden estar siendo tratados ya. Los pacientes que cumplen estas características son escasos, por tanto, no se puede afirmar que los resultados obtenidos se puedan extrapolar a toda la población con estas mismas características; no obstante, si estos resultados se pudieran confirmar, sería interesante desde el punto de vista

pronóstico, para establecer un control más estrecho de la función renal de aquellos pacientes que presenten patrón AC-12 (membrana nuclear granular).

Se llevó a cabo un análisis comparativo entre los pacientes diagnosticados únicamente de LES y los pacientes con LES y nefropatía lúpica. En primer lugar, al comparar los valores obtenidos en los pacientes con LES frente a aquellos que presentaban LES y nefritis lúpica, se observó que el primer grupo de pacientes presentaba mayor actividad inflamatoria general, así como una mayor actividad del LES, con valores más bajos de complemento, pero presentaban mejor función renal que los pacientes con nefritis lúpica. En segundo lugar, cuando se compararon los pacientes con LES y patrón AC-1 con los que presentaban LES junto a nefritis lúpica y patrón AC-1, se observó que los pacientes del primer grupo presentaban mayor actividad inflamatoria general con valores de PCR más elevados, sin embargo, los valores de actividad del LES, como los anticuerpos anti-DNA fueron más elevados en los pacientes con LES y nefritis lúpica que presentaban un patrón AC-1 (homogéneo). Sin embargo, resultó llamativo que la afectación renal fue similar en ambos grupos. Esto puede ser debido, tal y como se ha indicado anteriormente, a que los pacientes con LES y además con un diagnóstico de nefritis lúpica pueden estar siendo tratados de su afección renal conocida. En tercer lugar, al comparar los valores obtenidos en los pacientes con LES y patrón AC-4 (granular fino) frente al único paciente que presentaba LES y nefritis lúpica con patrón AC-4, se observó que este último presentaba una mayor afectación renal. Algo similar ocurre cuando se compararon los pacientes con LES y un patrón AC-8 (nucleolar homogéneo) con el único paciente que presentaba LES y nefritis lúpica y patrón AC-8 (nucleolar homogéneo).

Respecto al análisis realizado sobre la presencia de autoanticuerpos dirigidos contra determinadas especificidades antigénicas, especialmente de aquellas más relacionadas con LES, como: anticuerpos anti-Sm, anti-histonas, anti-nucleosomas, anti-RNP, anti-ribosomal P, anti-Ro52 y anti-Ro60, se observó que los pacientes que padecían LES son los que mostraban un número más elevado de estas especificidades, además de asociación significativa con anticuerpos anti-nucleosoma y anti-Sm, la positividad de estos anticuerpos puede ser útil en un caso de sospecha de LES con una determinación de títulos de ANA <1:160 (6). Con relación a la distribución de las especificidades antigénicas en función de los patrones de ANA, el patrón AC-5 (granular grueso) mostró especial relación con los anticuerpos anti-Ro52 y anti-Ro60, hecho que también se observó en el estudio de Chauhan *et al*, no obstante, solo mostró asociación significativa con los anticuerpos anti-Ro52. En la cohorte estudiada, el segundo patrón que más se asociaba con especificidades antigénicas fue el patrón AC-1 (homogéneo), en concreto, este patrón mostró pacientes positivos para todas las especificidades estudiadas, excepto para anticuerpos anti-ribosomal P; mostró especial relación con los anticuerpos anti-nucleosoma, anti-Ro52 y anti-Ro60, aunque solo se observó asociación significativa en el caso de anticuerpos anti-Sm y anti-nucleosoma. En el estudio de Chauhan *et al* se observó una distribución de autoanticuerpos dirigidos contra especificidades antigénicas en los diferentes patrones de ANA, similar a la observada en el presente trabajo.

7. CONCLUSIONES

Las conclusiones del presente trabajo son las siguientes:

1. La nueva nomenclatura de los patrones de los ANA establecida por la ICAP permite precisar mejor el tipo de patrón que presentan los pacientes, sin embargo, no permite definir mejor el diagnóstico, puesto que un patrón puede observarse en diferentes enfermedades, tanto autoinmunes como no autoinmunes y, además, una enfermedad puede mostrar diversos patrones.
2. Los ANA no sólo se asocian a enfermedades autoinmunes, sino que están presentes en un número importante de pacientes que padecen una enfermedad no autoinmune. Además, algunos patrones de ANA se presentaron únicamente en pacientes con enfermedad no autoinmune: (AC-21, AC-24-28, AC-24 y AC-26) y otros patrones sólo se presentaron en pacientes con enfermedad autoinmune (AC-2, AC-7 y AC-10).
3. El patrón AC-1 (homogéneo) se relaciona con una mayor actividad inflamatoria general y de actividad del LES, así como con la afectación renal en pacientes con diagnóstico únicamente de LES, por el contrario, la presencia de un patrón AC-8 (nucleolar homogéneo) se asocia con una menor afectación renal.
4. Los pacientes con un diagnóstico simultáneo de LES y nefritis lúpica que muestran un patrón AC-1 (homogéneo) presentaron una mejor función renal que los pacientes que presentan otros patrones de ANA, lo que podría deberse a que dada su afección renal conocida y a la relación del patrón AC-1 (homogéneo) con la actividad del LES, los pacientes que padecen ambas patologías pueden estar siendo ya tratados.
5. Los pacientes con LES presentaban una mayor actividad inflamatoria general, mayor actividad del LES y mejor función renal que aquellos pacientes que presentaban simultáneamente LES y nefritis lúpica.
6. Los pacientes que padecían LES son los que muestran un número más elevado de las especificidades antigénicas analizadas, seguido de los pacientes que no tenían enfermedades autoinmunes.
7. El patrón AC-5 (granular grueso) es el que más se asocia con la presencia de autoanticuerpos, mostrando asociación con los anticuerpos anti-Ro52, siendo el patrón AC-1 (homogéneo) el segundo patrón que más se asocia con autoanticuerpos, en concreto con los anticuerpos anti-Sm y anti-nucleosoma.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Damoiseaux J, Olschowka N, Shoenfeld Y. EASI-European Autoimmunity Standardisation Initiative: facing the challenges of diagnostics in autoimmunity. *Clin Chem Lab Med*. 2018;56(10):1620-23.
2. Rich R, Fleisher T, Shearer W, Schroeder H, Frew A, Weyand C. *Inmunología clínica. Principios y práctica*. 5a ed. Barcelona: Elsevier;2019.
3. García M. Detección y caracterización de los autoanticuerpos de interés en las enfermedades autoinmunes sistémicas. Rúa-Figueroa I, González-Gay MA. *Tratado SER de Diagnóstico y Tratamiento de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas*. Madrid: Editorial Médica Panamericana;2018.
4. Rozman C, Cardellach F. Farreras-Rozman. *Medicina Interna*. Vol 1. 18ª ed. Barcelona: Elsevier;2016.
5. Jameson JL, Fauci AS, Kasper DL, Hauser SL, Longo DL, Loscalzo J. Harrison. *Principios de Medicina Interna*. Vol 2. 19a ed. México: McGraw-Hill;2016.
6. Didier K, Bolko L, Giusti D, Toquet S, Robbins A et al. Autoantibodies Associated with Connective Tissue Diseases: what Meaning for Clinicians? *Front Immunol*. 2018;9(541).
7. Chauhan R, Jain D, Dorwal P, Roy G, Raina V, Nandi SP. The incidence of immunofluorescence patterns and specific autoantibodies observed in autoimmune patients in a tertiary care center. *Eur Ann Allergy Clin Immunol*. 2019;51(4):165-73.
8. Damoiseaux J, von Mühlen C, García I, Carballo O, de Melo W, Francescantonio P et al. International consensus on ANA patterns (ICAP): the bumpy road towards a consensus on reporting ANA results. *Autoimmun Highlights*. 2016;7(1):1-8.
9. Tebo AE. Recent approaches to optimize laboratory assesment of antinuclear antibodies. *Clin Vaccine Immunol*. 2017;24(12):1-10.
10. Damoiseaux J, Andrade LEC, Carballo OG, Conrad K, Francescantonio PLC, Fritzler MJ et al. Clinical relevance of HEp-2 indirect immunofluorescent patterns: The International Consensus on ANA patterns (ICAP) perspective. *Ann Rheum Dis*. 2019;78:879-89.
11. Ricchiuti V, Adams J, Hardy DJ, Katayev A, Fleming JK. Automated Processing and Evaluation of Antinuclear Antibody Indirect Immunofluorescence Testing. *Front Immunol*. 2018;9:927.
12. Daves M, Blecken J, Matthias T, Frey A, Perkmann V, Dall' Acqua A et al. New automated indirect immunofluorescent antinuclear antibody testing compares well with established manual immunofluorescent screening and titration for antinuclear antibody on HEp-2 cells. *Immunol Res*. 2017;65:370-4.

13. Damoiseaux J, Andrade LE, Fritzler MJ, Shoenfeld Y. Autoantibodies 2015: From diagnostic biomarkers toward prediction, prognosis and prevention. *Autoimmun Rev.* 2015;14(6):555-63.
14. Chan EKL, Damoiseaux J, Carballo OG, Conrad K, de Melo Cruvinel W, Francesantonio PLC et al. Report of the First International Consensus on Standardized Nomenclature of Antinuclear Antibody HEp-2 Cell Patterns (ICAP) 2014-2015. *Front Immunol.* 2015;6(412).
15. Conrad K, Andrade LEC, Chan EKL, Mahler M, Meroni PL, Pruijijn GJM et al. From autoantibody research to standardized diagnostic assays in the management of human diseases – Report of the 12th Dresden Symposium on Autoantibodies. *Lupus.* 2016;25:787-96.
16. ICAP: INTERNATIONAL CONSENSUS ON ANA PATTERNS [Internet]. 2015 [citado 12 feb 2020]. Disponible en: <https://www.anapatterns.org/index.php>
17. Chan EKL, Damoiseaux J, de Melo Cruvinel W, Carballo OG, Conrad K, Francesantonio PLC et al. Report on the second International Consensus on ANA Pattern (ICAP) workshop in Dresden 2015. *Lupus.* 2016;25:797-804.
18. Ortiz GL, Sánchez ES, Casiano CA. Twenty years of research on the DFS70/LEDGF autoantibody-autoantigen system: many lessons learned but still many questions. *Autoimmun Highlights.* 2020;11(1).

ANEXOS

Anexo 1. Distribución de los pacientes según el patrón de ANA y primer diagnóstico.

		PRIMER DIAGNÓSTICO							
		NOAI	LES	SJO	SCLE	EASNF	SAF	OTRA	
PATRÓN ANA	AC-1	Recuento	22	25	1	1	8	0	2
		% dentro de primer diagnóstico	14,60%	37,30%	4,80%	4,20%	20,50%	0,00%	8,30%
	AC-2	Recuento	0	2	0	0	0	0	0
		% dentro de primer diagnóstico	0,00%	3,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
	AC-3	Recuento	3	1	0	11	2	0	1
		% dentro de primer diagnóstico	2,00%	1,50%	0,00%	45,80%	5,10%	0,00%	4,20%
	AC-4	Recuento	55	14	10	6	13	4	13
		% dentro de primer diagnóstico	36,40%	20,90%	47,60%	25,00%	33,30%	57,10%	54,20%
	AC-5	Recuento	21	15	7	2	7	1	2
		% dentro de primer diagnóstico	13,90%	22,40%	33,30%	8,30%	17,90%	14,30%	8,30%
	AC-6	Recuento	5	1	2	1	3	0	0
		% dentro de primer diagnóstico	3,30%	1,50%	9,50%	4,20%	7,70%	0,00%	0,00%
	AC-7	Recuento	0	0	0	0	0	1	0
		% dentro de primer diagnóstico	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	14,30%	0,00%
	AC-8-10	Recuento	9	2	0	1	2	0	0
		% dentro de primer diagnóstico	6,00%	3,00%	0,00%	4,20%	5,10%	0,00%	0,00%
	AC-8	Recuento	6	3	0	1	2	0	1
		% dentro de primer diagnóstico	4,00%	4,50%	0,00%	4,20%	5,10%	0,00%	4,20%
	AC-9	Recuento	2	2	0	1	1	0	1
		% dentro de primer diagnóstico	1,30%	3,00%	0,00%	4,20%	2,60%	0,00%	4,20%

Anexo 1. Distribución de los pacientes según el patrón de ANA y primer diagnóstico (continuación).

			PRIMER DIAGNÓSTICO						
			NOAI	LES	SJO	SCLE	EASNF	SAF	OTRA
PATRÓN ANA	AC-10	Recuento	0	0	0	0	1	0	0
		% dentro de primer diagnóstico	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	2,60%	0,00%	0,00%
	AC-12	Recuento	3	1	0	0	0	0	0
		% dentro de primer diagnóstico	2,00%	1,50%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
	AC-16	Recuento	6	0	0	0	0	0	0
		% dentro de primer diagnóstico	4,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
	AC-18-20	Recuento	12	0	1	0	0	0	2
		% dentro de primer diagnóstico	7,90%	0,00%	4,80%	0,00%	0,00%	0,00%	8,30%
	AC-18	Recuento	1	0	0	0	0	1	1
		% dentro de primer diagnóstico	0,70%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	14,30%	4,20%
	AC-19	Recuento	1	1	0	0	0	0	0
		% dentro de primer diagnóstico	0,70%	1,50%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
	AC-20	Recuento	1	0	0	0	0	0	1
		% dentro de primer diagnóstico	0,70%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	4,20%
	AC-21	Recuento	1	0	0	0	0	0	0
		% dentro de primer diagnóstico	0,70%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
	AC-24-28	Recuento	1	0	0	0	0	0	0
		% dentro de primer diagnóstico	0,70%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
	AC-24	Recuento	1	0	0	0	0	0	0
		% dentro de primer diagnóstico	0,70%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%
	AC-26	Recuento	1	0	0	0	0	0	0
		% dentro de primer diagnóstico	0,70%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%	0,00%

Anexo 2. Valores de normalidad de los parámetros relacionados con la actividad de la enfermedad en LES y la función renal.

	Mínimo	Máximo
PCR (mg/dL)	0,02	0,61
Ac. Anti-DNA (IU/mL)	9,8	666,9
C3 (mg/mL)	79	152
C4 (mg/mL)	10	40
Urea (g/L)	0,15	0,4
Creatinina (mg/dL)	0,5	0,9
Ácido úrico (mg/dL)	2,3	6,1
FG Calculado (CKD-EPI) (ml/min/1,73m²)	>90	