



Universidad Nacional
Federico Villarreal

Vicerrectorado de
INVESTIGACIÓN

FACULTAD DE TECNOLOGÍA MÉDICA

“PREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-DFS70 EN PACIENTES ANA POSITIVO”

LÍNEA DE INVESTIGACIÓN: SALUD PÚBLICA

TESIS PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE LICENCIADO EN TECNOLOGÍA
MÉDICA EN LA ESPECIALIDAD DE LABORATORIO Y ANATOMÍA PATOLÓGICA

AUTOR

CULQUI BERMUDEZ ISMAEL RAÚL

ASESOR

LAGOS CASTILLO MORAIMA ANGÉLICA

JURADOS

GARAY BAMBAREN JUANA AMPARO

CHERO PISFIL ZOILA SANTOS

ROJAS HERNANDEZ BERTHA AIDE

Lima – Perú

2021

ÍNDICE

RESUMEN	5
ABSTRACT	6
I. Introducción	8
1.1 Descripción y formulación del problema	9
1.1.1. Pregunta general	11
1.1.2. Pregunta específica	11
1.2 Antecedentes	11
1.3 Objetivos	14
1.3.1. Objetivo General	14
1.3.2. Objetivos Específicos	15
1.4 Justificación	15
1.5 Hipótesis	16
II. Marco teórico	17
2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación	17
2.1.1. Sistema inmune	17
2.1.2. Anticuerpos Antinucleares (ANA)	17
2.1.3. Anticuerpos anti-DSF70	25
III. MÉTODO	37

3.1 Tipo de investigación	37
3.2 Ámbito temporal y espacial	37
3.2.1. Ámbito temporal	37
3.2.1. Ámbito espacial.....	37
3.3 Variables	37
3.4 Población y muestra	38
3.4.1. Población.....	38
3.4.2. Muestra.....	38
3.5 Instrumentos	39
3.6 Procedimientos.....	39
3.7 Análisis de datos	40
IV. RESULTADOS	41
V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	48
VI. CONCLUSIONES	52
VII. RECOMENDACIONES.....	53
VIII. REFERENCIAS.....	54
IX. ANEXOS.....	63

DEDICATORIA

Este trabajo está dedicado a la memoria de mi padre y al apoyo incondicional de mi madre, por impulsarme a perseguir mis sueños y cumplir mis metas propuestas.

A mi familia, por el apoyo, el ánimo y la motivación constante de verme alcanzar un logro profesional.

AGRADECIMIENTO

A Dios por la vida y a mis padres por formarme de tal forma que me supere a mí mismo, de ser constante y confiar en lo que puedo lograr.

A la Mg. Moraima Lagos por haberme brindado la asesoría, la dedicación y la oportunidad de compartir a su conocimiento científico para culminar con éxito el desarrollo de la tesis y obtener una afable titulación profesional.

Al Laboratorio Clínico Synlab por permitirme el uso de sus instalaciones y la confianza brindada para el desarrollo de esta investigación, donde su más grande servicio es preservar la vida todos los días y brindar aportes científicos que contribuyan a la mejora continua y el correcto manejo clínico de los pacientes.

Resumen

Los anticuerpos anti-DFS70 son un subconjunto de anticuerpos antinucleares (ANA) de tipo natural, que tienden a manifestar un patrón moteado fino denso (DFS) por inmunofluorescencia indirecta. Su presencia se encuentra más relacionada en individuos aparentemente sanos que en pacientes con enfermedad autoinmune. El objetivo de este estudio fue determinar la prevalencia de anticuerpos anti- DFS70 en pacientes ANA positivo.

El diseño del estudio fue de tipo observacional, descriptivo, transversal y prospectivo. La muestra estuvo conformada por 96 sueros positivos para la prueba ANA y analizadas por inmunoblot automatizado en el Laboratorio Clínico Synlab – Jesus María entre enero y febrero del 2020. El análisis estadístico se realizó mediante el programa de Microsoft Office Excel.

Los resultados obtenidos evidenciaron la presencia del anticuerpo anti-DFS70 en el 28.1 % (n=27) del total de muestras positivas para ANA. Donde el 21.8% (n=21) correspondía al sexo femenino y el 6.2% (n=6) al sexo masculino. Entre los múltiples patrones ANA, la presencia del anticuerpo anti-DFS70 fue más prevalente en el patrón homogéneo. Así mismo, se encontró al anticuerpo anti-DFS70 de manera aislada y concomitante a otros anticuerpos en un 37.1% y 62.9 % respectivamente. Siendo el autoanticuerpo Nucleosoma el más frecuente, seguido de los autoanticuerpos dsDNA, SS-A y Ro-52.

Se concluye que existe una alta prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 en la población estudiada, siendo más frecuente en mujeres jóvenes y que su presencia puede manifestarse de manera aislada o concomitante a otros autoanticuerpos en otros patrones ANA, distintos al DFS.

Palabras clave: Anti-DFS70, Anticuerpos Antinucleares, Enfermedad Autoinmune, Inmunoblot automatizado

Abstract

Anti-DFS70 antibodies are a subset of wild-type antinuclear antibodies (ANA), which must manifest a dense fine speckled pattern (DFS) by indirect immunofluorescence. Its presence is more related in apparently healthy individuals than in patients with autoimmune disease. The objective of this study was to determine the prevalence of anti-DFS70 antibodies in ANA positive patients. The study design was observational, descriptive, cross-sectional and prospective. The sample consisted of 96 positive sera for the ANA test and analyzed by automated immunoblot at the Synlab - Jesus María Clinical Laboratory between January and February 2020. The statistical analysis was performed using the Microsoft Office Excel program.

The results obtained showed the presence of the anti-DFS70 antibody in 28.1% (n = 27) of the total samples positive for ANA. Where 21.8% (n = 21) corresponds to the female sex and 6.2% (n = 6) to the male sex. Among the multiple ANA patterns, the presence of the anti-DFS70 antibody was more prevalent in the homogeneous pattern. Likewise, the anti-DFS70 antibody was found in isolation and concomitantly with other antibodies in 37.1% and 62.9% respectively. The Nucleosome autoantibody being the most common, followed by dsDNA, SS-A and Ro-52 autoantibodies

It is concluded that there is a high prevalence of anti-DFS70 antibodies in the population studied, being more frequent in young women and that their presence can manifest itself in isolation or concomitant with other autoantibodies in other ANA patterns, different from DFS.

Keywords: Anti-DFS70, Antinuclear Antibodies, Autoimmune Disease, Automated Immunoblot

I. INTRODUCCIÓN

Las pruebas de detección de autoanticuerpos contra estructuras nucleares y citoplasmáticas son ampliamente utilizadas en los laboratorios clínicos para apoyar al diagnóstico de enfermedades reumáticas autoinmunes sistémicas (ERAS). Comúnmente, estos anticuerpos antinucleares (ANA) son detectados por el método de inmunofluorescencia indirecta (IFI) en sustratos de células HEp-2, personalizando múltiples patrones que son indicativos de autoanticuerpos específicos y de enfermedades asociadas.

Entre estos patrones, encontramos al patrón moteado fino denso (DFS); que se observa con frecuencia en los exámenes ANA de rutina y es causado principalmente por autoanticuerpos que reconocen una proteína moteada fina densa de 70 kDa (DFS70), también conocida como factor de crecimiento derivado del epitelio del lente p75 (LEDGFp75).

En los laboratorios de diagnóstico, la presencia de estos autoanticuerpos en pacientes ANA positivo se limitan a una apreciación generalizada y muchas veces suelen confundirse con patrones similares, tales como el homogéneo y el moteado, que son característicos de ERAS.

El interés por corroborar la presencia de estos autoanticuerpos anti- DFS70 por un método específico en los casos que se observe un patrón de tinción DFS o similares durante las pruebas ANA -IFI de rutina surge de estudios que evidencian que estos autoanticuerpos se encuentran con mayor frecuencia en individuos sanos en comparación con pacientes afectados por ERAS. Además, cuando se identifican como únicos autoanticuerpos responsables de una prueba positiva para ANA, pueden ayudar a excluir el diagnóstico de ERAS, dado que un estudio de seguimiento clínico en individuos positivos para anticuerpos anti-DFS70 demostró que ninguno de ellos manifestó un diagnóstico clínico de ERAS durante un periodo de 4 años.

Aunque este enfoque clásico de doble paso implica un tiempo de respuesta prolongado y costos adicionales para el informe final de laboratorio, permite ampliar la búsqueda de autoanticuerpos y mejorar el diagnóstico definitivo de los pacientes con sospecha clínica de enfermedad autoinmune.

El objetivo del presente estudio fue determinar la prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 en una serie consecutiva de muestras séricas positivas para ANA con la finalidad de: (a) definir la prevalencia de anticuerpos anti – DFS70 con respecto al sexo y el grupo etario; (b) verificar en qué patrones ANA -IFI, distintos al DFS, puede identificarse la presencia de anticuerpos anti-DFS70; (c) delimitar que porcentaje de anticuerpos anti – DFS70 pueden encontrarse de manera aislada y (d) determinar que otros autoanticuerpos se pueden encontrar concomitante a los anticuerpos anti – DFS70.

1.1 Descripción y formulación del problema

Una de las características irrefutables de las enfermedades reumáticas autoinmunes sistémicas (ERAS) es la producción aberrante de autoanticuerpos contra diferentes componentes nucleares y citoplasmáticos. A pesar de los avances metodológicos que existen para la determinación de estos autoanticuerpos, la inmunofluorescencia indirecta (IFI) sigue siendo el método más utilizado y considerado como la prueba “*gold estándar*” para la detección de anticuerpos antinucleares (ANA). No obstante, aún esta prueba, tiene varias limitaciones, incluida su especificidad causada básicamente por la aparición de resultados positivos en individuos no afectados por ERAS y en sujetos aparentemente sanos. Este es el caso de los autoanticuerpos dirigidos contra el antígeno 70 densamente moteado (DFS). (Infantino et al., 2019)

El antígeno denso moteado 70 (DFS70) (también conocido como factor de crecimiento derivado del epitelio del lente 75 - LEDGFp75) es una proteína de unión al ADN altamente conservado, que contribuye a la protección celular contra el daño oxidativo del ADN. La proteína está presente en

los núcleos celulares de todos los órganos y tejidos y puede ser alterado o sobre-expresado durante la inflamación, estimulando así la respuesta de autoanticuerpos. (Ochs et al., 2016)

Dentro de las pruebas ANA -IFI de rutina, estos autoanticuerpos generan un patrón de tinción DFS comúnmente detectado dentro de los laboratorios clínicos y se define como puntos finos y heterogéneos distribuidos por todo el núcleo interfásico y uniformemente en la placa metafásica cromosómica. (López Sañudo et al., 2015)

Aunque la importancia clínica de los anticuerpos anti-DFS70 aún no está clara, recientes estudios reconocen con mayor frecuencia al patrón DFS y/o anti-DFS70 en pacientes con diversas afecciones inflamatorias crónicas e individuos aparentemente sanos, en comparación con pacientes con enfermedades reumáticas autoinmunes sistémicas. Por lo tanto, ante la presencia de este tipo de patrón o similares en las pruebas ANA-IFI de rutina, es importante la confirmación de estos autoanticuerpos por medio de métodos diseñados específicamente para anticuerpos anti-DFS70. (Kang et al., 2019)

Además de la posible asociación de los anticuerpos anti-DFS70 con enfermedades específicas o condiciones clínicas, el reconocimiento adecuado del patrón de tinción DFS y, por lo tanto, de los anticuerpos anti-DFS70, es importante para evitar errores en la interpretación rutinaria de la prueba ANA. Dado que la positividad ANA, sin ninguna especificación adicional del patrón, pueden ocasionar un error en su interpretación clínica, conllevando a diagnósticos erróneos, análisis innecesarios y mayores costos en posibles sobretratamientos para los pacientes. (Bizzaro et al., 2016)

Por esta razón, múltiples estudios debaten la inclusión y confirmación de estos autoanticuerpos en los algoritmos ANA de rutina, dado que cada vez se consideran más como un potencial biomarcador para diferenciar a individuos aparentemente sanos con ANA positivo y pacientes con

ERAS, puesto que ambas poblaciones muestran un amplio rango en la prevalencia de estos autoanticuerpos que van desde 0–21.6% y 0–7.1% respectivamente. Las razones subyacentes de esta variabilidad aún no están definidas, pero pueden incluir el factor demográfico, racial (genético), intervenciones terapéuticas (es decir, corticosteroides, inmunosupresión), y / o tecnologías utilizadas para detectar el autoanticuerpo. Por lo tanto, los anticuerpos anti-DFS70 podrían contribuir a una mejor interpretación de los casos sospechosos de enfermedad autoinmune donde el cuadro clínico es inespecífico. (Infantino et al., 2019)

1.1.1. Pregunta general

- ¿Cuál es la prevalencia de anticuerpos anti – DFS70 en pacientes ANA positivo en un laboratorio privado – Lima 2020?

1.1.2. Pregunta específica

- ¿Cuál es la prevalencia de anticuerpos anti – DFS70 con respecto al sexo y grupo etario?
- ¿Cuál es la frecuencia de los anticuerpos anti – DFS70 en los diferentes patrones ANA-IFI, distintos al DFS?
- ¿Cuál es la prevalencia de los anticuerpos anti – DFS70 aislado?
- ¿Cuál es la prevalencia de los anticuerpos anti – DFS70 concomitantes a otros autoanticuerpos?

1.2 Antecedentes

Şener & Afşar (2015) evaluaron la frecuencia de anticuerpos anti-DFS70 en una cohorte de pacientes sometidos a pruebas ANA de rutina. El estudio incluyó 5800 muestras de suero, los cuales 22.4 % (n=1302) fueron positivos para ANA-IFI. La prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 fue del 1.2 % para el total de resultados positivos para ANA. El 68.7% (n=11)

representó a las mujeres y el 31.3% (n=5) a los hombres. La presencia de anticuerpos anti-DFS70 no se observó en ningún paciente con enfermedad autoinmune.

Vázquez-Del Mercado et al. (2017) determinaron la frecuencia de anticuerpos anti-DFS70 en pacientes hispano-mexicanos. El estudio comprendió de 171 muestras de suero analizadas por el método ANA-IFI, donde se incluyó 71 pacientes con dermatomiositis (DM), 30 pacientes con obesidad (OB), 47 pacientes con artritis reumatoide (AR) y 23 personas sanas. El 36.7 % (n=63) presentó el patrón moteado nuclear fino (NFS), el 5.6 % (n=9) el patrón moteado fino denso, el 18.1% (n=31) otros patrones ANA y el 39.6% (n=68) resultó negativo. Se observó una baja frecuencia del patrón DFS en los tres grupos de enfermedades evaluados (1,4% en DM, 4,3% en AR, 6,7% en OB) pero mayor en pacientes sanos con un 17,4%. Todos los sueros fueron analizados para la detección de autoanticuerpos anti-DFS70 por el método de ELISA. La prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 fue del 9.7% (n=10) para el total de resultados positivos para ANA. El 90% (n=9) incluía al patrón DFS y el 10 % (n=1) al patrón homogéneo. La alta prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 correspondía a pacientes sanos, en comparación de pacientes con enfermedades reumáticas.

Aleksandrova et al. (2017) evaluaron la prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 en pacientes con enfermedad autoinmune y pacientes aparentemente sanos. Se evaluó un total de 57 muestras séricas que provenían de 45 personas sanas y 12 pacientes con LES, los cuales fueron analizados mediante la técnica IFI con una mezcla de células HEp-2 estándar y células DFS70-KO HEp-2 para determinar la presencia de anticuerpos ANA clásicos y anti-DFS70 respectivamente. El 33.3% (n=19) presentó patrones ANA-IFI clásicos (homogéneos, moteado, mixto y DFS), donde 7 correspondía a personas sanas y 12 a pacientes con LES. La prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 fue del 21.0% (n=4) para el total de muestra ANA

positivas. Todos los anticuerpos positivos para anti-DFS70 resultaron aislados de suero de pacientes sanos. La detección de anticuerpos anti-DFS70 aislados puede considerarse como criterio de exclusión para el diagnóstico de enfermedad autoinmune.

Lucas et al. (2018) determinaron la prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 en pacientes con ANA positivo sospechosos de tener ERAS. Se seleccionó un total de 211 muestras de suero positivas para ANA basadas en la técnica automatizada ANA HEp-2 IFI y la técnica de inmunoensayo enzimático (EIA). Todas las muestras se analizaron por quimioluminiscencia (DFS70-CLIA) para confirmar la presencia de anticuerpos anti-DFS70 en conjunto con una prueba panel ENA de cribado. Entre las 211 muestras positivas para ANA, 102 pertenecían a pacientes con diagnóstico de ERAS y 109 a pacientes sin clínica de ERAS. La prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 fue de 3.7% (n=8). 7/109 (6.4%) muestras pertenecían a pacientes sin ERAS y 1/102 (0.98 %) a los pacientes con ERAS. La prevalencia de anti-DFS70 fue significativamente mayor en pacientes sin ERAS en comparación con pacientes con ERAS. La prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 en los diferentes patrones ANA-IFI fue del 50 % (n=4) para el patrón homogéneo, 25% (n=2) para el patrón centrómero, 12.5% (n=1) para el patrón moteado y 12.5 % (n=1) para el patrón mixto homogéneo / centrómero. La prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 aislado fue de 62.5 % (n=5). Otros ANA específicos detectados fueron anticuerpos contra Scl-70, SSA, entre otros; sin embargo, ninguno de estos pacientes presentó una condición clínica de ERAS. Por lo tanto, la presencia aislada de anticuerpos anti-DFS70 en pacientes con ANA-positivo hace que el diagnóstico de ERAS sea altamente improbable, particularmente cuando tampoco se encuentran autoanticuerpos concomitantes en la prueba de ENA.

Fabián & Fernández (2017) determinaron la prevalencia de anticuerpos antinucleares en individuos aparentemente sanos. Incluyeron 150 donantes de sangre del Servicio de Banco de Sangre del Hospital Nacional Dos de Mayo en la ciudad de Lima-Perú. La detección de anticuerpos antinucleares se realizó mediante inmunofluorescencia indirecta en células HEp-2. La prevalencia de anticuerpos antinucleares fue de 10.7% (n=16%). La frecuencia aumentó con la edad y fue mayor en mujeres que en hombres (12.3% frente a 9% respectivamente). Los patrones más prevalentes fueron el moteado fino 31.3% (n=5) y moteado fino denso 25% (n=4). La prevalencia de anticuerpos anti- DFS70 fue del 2.6% del 25% para los resultados positivos a para ANA. Los patrones DFS y moteado fino son los que se hallan de manera predominante en personas sin ninguna evidencia de enfermedad autoinmune. Adicionalmente cuando se combina la información del patrón de fluorescencia y el título, se observa que para el patrón moteado fino la asociación a la ausencia de enfermedades autoinmunes fue para títulos bajos, lo que no ocurre para el patrón moteado fino denso, que mostró títulos bajos medios y altos. Por lo tanto, el patrón DFS70 cobra especial relevancia, ya que puede encontrarse en títulos altos en personas sin evidencia de enfermedad autoinmune, lo que podría inducir a una inadecuada interpretación en médicos que no estén familiarizados con este patrón.

1.3 Objetivos

1.3.1 Objetivo General

- Determinar la prevalencia de anticuerpos anti – DFS70 en pacientes ANA positivo en un laboratorio privado – Lima 2020.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Determinar la prevalencia de anticuerpos anti – DFS70 con respecto al sexo y el grupo etario.
- Establecer la frecuencia de los anticuerpos anti – DFS70 en los diferentes patrones ANA-IFI, distintos al DFS.
- Delimitar la prevalencia de los anticuerpos anti – DFS70 aislado.
- Definir la prevalencia de los anticuerpos anti- DFS70 concomitantes a otros autoanticuerpos.

1.4 Justificación

La cuidadosa interpretación de los patrones ANA desempeña un papel clave en la valorización de los resultados. Diversos estudios informan que existen hasta un 20% de resultados positivos para ANA IFI en muestras séricas y la mayoría de ellos se debe a la presencia de anticuerpos anti-DFS70.

En la actualidad, el reconocimiento adecuado del patrón de tinción DFS y, por lo tanto, de los anticuerpos anti-DFS70, continua siendo un gran desafío dentro de los laboratorios clínicos y su confirmación cobra especial relevancia, ya que se puede encontrarse en mayor proporción en individuos aparentemente sanos en comparación con pacientes con enfermedad autoinmune, más aún cuando se encuentran de manera monoespecífica. Por lo tanto, ratificar la presencia de estos autoanticuerpos dentro de las pruebas ANA-IFI de rutina, contribuiría a mejorar el enfoque diagnóstico de los pacientes con sospecha clínica de enfermedad autoinmune.

La información sobre la prevalencia de estos autoanticuerpos en pacientes sospechosos de enfermedad autoinmune sigue siendo limitada, por lo tanto, convalidar la presencia de los anticuerpos anti -DFS70 dentro de las pruebas ANA de rutina, mejoraría ampliar el panorama sobre

la búsqueda de autoanticuerpos y contribuiría a resolver los posibles casos positivos inexplicables para ANA, así se evitaría los errores constantes en la interpretación clínica, que conllevan a diagnósticos erróneos, exámenes innecesarios e inapropiados tratamientos prolongados.

1.5 Hipótesis

Estimamos una prevalencia de 10 % para la detección de anticuerpos anti – DFS70 en pacientes sometidos ANA positivo.

II. Marco teórico

2.1 Bases teóricas sobre el tema de investigación

2.1.1 Sistema inmune

El sistema inmune tiene la capacidad de producir una gran cantidad de proteínas llamadas anticuerpos. Estos anticuerpos forman parte de los leucocitos (glóbulos blancos) y tienen la capacidad de vigilar y combatir los agentes infecciosos (gérmenes) que hay en nuestro organismo. Al momento que un anticuerpo examina proteínas extrañas de un espécimen infeccioso, incorpora a otras inmunoglobulinas y permiten rectificar la infección. Esta cascada de defensa es conocida como inflamación. Cuando estos anticuerpos fallan e identifican como extrañas a proteínas propias (o de origen natural), se les denomina autoanticuerpos. Estos autoanticuerpos comienzan la cascada de la inflamación y hacen que el cuerpo se agreda a sí mismo. A menudo, reaccionan contra proteínas “normales” del núcleo y, por ende, lleva el nombre de anticuerpos antinucleares (ANA, por sus siglas en inglés). La mayoría de los individuos tenemos estos autoanticuerpos en bajas cantidades, pero cuando éste excede en su número, puede desencadenar algún tipo de enfermedad autoinmune. (Suleman Bhana, MD, 2019)

2.1.2 Anticuerpos Antinucleares (ANA)

2.1.2.1 Definición e Historia:

Los anticuerpos antinucleares son inmunoglobulinas que poseen reactividad contra antígenos del núcleo de las células de muchos tejidos y órganos y, por ende, se asocian más frecuentemente con enfermedades de carácter sistémico. En el núcleo celular, se encuentran los ácidos nucleicos asociados a proteínas formando un complejo llamado cromatina. Estos representan uno de los principales blancos de la respuesta autoinmune en diversas enfermedades sistémicas. Entre la

variedad de anticuerpos que reaccionan contra diferentes componentes de esta estructura tenemos; el anti-DNA, anti-centrómero, anti-histonas, anti RNP, anti-Sm, anti-SS-B/La, anti-SS-A/Ro y anti Scl-70. Por otro lado, los nucleolos representan las estructuras más grandes y complejas de ribonucleoproteínas dentro del núcleo celular, en ellos se encuentran cientos de polipéptidos y pequeñas proteínas acopladas al RNA, especialmente los de la denominada serie U y el antígeno Ro, que también son blanco de estos autoanticuerpos. En conjunto a estas partículas se les llama ribonucleoproteínas nucleares pequeñas (snRNPs) y cuando están en el citoplasma, ribonucleoproteínas citoplásmicas pequeñas (scRNPs). Algunos antígenos que reaccionan con los anticuerpos antinucleares pueden extraerse de las células usando solución salina, a éstos se les llama antígenos extractables del núcleo o ENA y a los anticuerpos correspondientes, anti-ENA. Dentro de las principales se observan los anti RNP, anti Sm, anti SS-A/Ro, anti SS-B/La y anti Scl-70, los cuales se pueden detectar en conjunto o individualmente. (Javier-Zepeda, 2002)

En 1948, Hargraves y colaboradores, evidenciaron una célula desconocida y después denominada célula LE (de lupus eritematoso) en la médula ósea de una paciente con lupus eritematoso sistémico. La detección de las células LE fue durante mucho tiempo una prueba utilizada para confirmar el diagnóstico de LES. Sin embargo, años después se demostró su baja especificidad, ya que pueden estar presentes en pacientes con síndrome de Sjogren (15–20%), cirrosis pancreática (33%), artritis reumatoide (25%), hepatitis crónica activa (50–70%) y en otras enfermedades (1–2% púrpura trombocitopenia idiopática y miastenia gravis). En 1959, Holman reveló que el fenómeno de las células LE se debía a la presencia de anticuerpos que reconocen antígenos nucleares. Lo anterior llevó al desarrollo de nuevos procedimientos como la hemoaglutinación, la fijación de complemento, la inmunodifusión (doble difusión radial y contrainmunolectroforesis), etc. y de técnicas de microscopía, empleando anticuerpos conjugados

con moléculas fluorescentes (inmunofluorescencia indirecta [IFI]) que aumentaron la sensibilidad y especificidad para la detección. Actualmente, la técnica más utilizada para la detección de los ANA es la IFI, la cual fue desarrollada por Conns en 1950 y, posteriormente, modificada por Tan en 1966, que empleaba como sustratos cortes de riñón o hígado de ratón. Diez años más tarde, se publicaría los resultados de la estandarización del IFI para la detección de los ANA en pacientes con padecimientos reumáticos. (Cabiedes & Núñez-Álvarez, 2010)

2.1.2.2 Clasificación

Los ANA constituyen un extenso grupo de autoanticuerpos conformados por inmunoglobulinas capaces de interactuar con moléculas gigantes integradas en el núcleo, así como algunos componentes citoplasmáticos. Dentro de su clasificación, encontramos 3 subtipos presentes en circulación sistémica a distintos títulos. En la población general, se encuentran los ANA naturales con títulos bajos (producidos principalmente por linfocitos B), sin conocerse hasta el momento el estímulo antigénico específico que origina su síntesis, se caracterizan por su polirreactividad, baja avidéz y su falta de asociación directa con manifestaciones clínicas de enfermedad autoinmune. Un segundo grupo de ANA, los cuales se relacionan básicamente con procesos infecciosos, presenta alta avidéz, títulos bajos cuando desaparece el estímulo antigénico externo y una nula relación con manifestaciones clínicas de enfermedad autoinmune. Por último, está el grupo de los ANA presentes en patologías autoinmunes, que son de origen multifactorial y se pueden ligar a pérdida de la tolerancia inmune, predisposición genética, cambios epigenéticos, a cambios hormonales, interacción con el medio ambiente, entre otros factores. Estos últimos se caracterizan por alta avidéz al antígeno usado como sustrato, títulos que fluctúan a lo largo del curso de la enfermedad y pueden asociarse a manifestaciones clínicas autoinmunes. (Aragón et al., 2018)

2.1.2.3 Métodos de Detección

2.1.2.3.1 Inmunofluorescencia (IFI)

En 1957, es anunciado el método de la inmunofluorescencia indirecta (IFI) como el método selectivo para el rastreo inicial de anticuerpos antinucleares en pacientes con lupus eritromatoso sistémico (LES) y otras enfermedades del tejido conectivo. La técnica de IFI, consiste en la asociación de los anticuerpos antinucleares presentes en el suero del paciente, con varios sustratos celulares fijados en láminas que contienen los antígenos nucleares y citoplasmáticos. Estos anticuerpos reconocen antígenos localizados en el núcleo, en el citoplasma o en las membranas celulares, además de proteínas nucleares no histonas y anticuerpos órgano-específicos. Actualmente, los sustratos utilizados para la detección de posibles autoanticuerpos presentes en el suero pertenecen a líneas celulares provenientes de tumores humanos como la Hep-2 (carcinoma de laringe humano). La tinción fluorescente de los cromosomas en estas células indica la presencia fiable de autoanticuerpos con afinidad a diversos antígenos y explican los diversos patrones de inmunofluorescencia presentes en el núcleo. Este método posee una elevada sensibilidad y es considerada la prueba “*gold estándar*” para el diagnóstico inmunológico de enfermedades autoinmunes, sin embargo, es importante confirmar la especificidad de los autoanticuerpos detectados mediante pruebas de ELISA, Inmunoblot u otras técnicas con sensibilidad y especificidad similares o mayores. (Carpinelli et al., 2010)

2.1.2.3.2 ELISA

Actualmente, existe un par de métodos ELISA utilizados para la determinación de ANA. Uno se llama ensayo genérico, que detecta todos los ANA de gran especificidad similar al ANA - IFI y el otro, un ensayo específico de antígeno que detecta solo un autoantígeno de ANA, es decir, dsDNA, Sm, SS-B / La, Sm / RNP, SS-A / Ro, Scl-70, etc. En el ensayo específico de antígeno,

las placas de microtitulación se recubren con diversos antígenos, generalmente una mezcla de SSB / La, U1-RNP, SSA / Ro y Sm, con muchos otros que incluyen al Jo-1 y el Scl-70. Esta nueva prueba es altamente sensible y específica, y disminuye sustancialmente el tiempo cuando involucra grandes cantidades de muestras de pacientes. La prueba es sencilla de realizar, puede automatizarse y no requiere de operadores altamente capacitados para el reconocimiento de patrones. Por esta razón, ELISA se está convirtiendo en el método más utilizado, no solo para tamizaje, sino también para la detección de ANA específicos. En un estudio reciente, el desempeño de la prueba ELISA se comparó con la prueba "*gold standar*" ANA-IFI. La coincidencia de los resultados entre las pruebas ELISA y ANA – IFI para un suero positivo para ANA fue del 87% al 95%. Sin embargo, el problema de los resultados falsos positivos en ELISA todavía está muy extendido. Probablemente sea el resultado de la preparación exhaustosa de los antígenos. Del mismo modo, se ha descubierto que las técnicas ELISA pierden un ANA positivo de bajo título, por lo tanto, es sugerible utilizar estas pruebas en caso de sueros con títulos intermedios o altos. (Kumar et.al, 2009)

2.1.2.3.3 *Western Blot*

La inmunotransferencia (*western blot*) es un método sensible y rápido que se introdujo en la década de 1980 y ha sido útil para refinar nuestra comprensión del espectro de ANA. En este método, primero los antígenos nucleares y citoplasmáticos se separan de acuerdo a su peso molecular mediante electroforesis en gel de poliacrilamida y luego se transfieren a una membrana o tiras. Las tiras que contienen los antígenos se incuban con muestras de suero pre-diluidas. Si los autoanticuerpos están presentes en la muestra, se unirán a los antígenos trazados por anticuerpos anti-IgG-humanos conjugados con fosfatasa alcalina y aparecerán como bandas teñidas de azul.

Esta técnica es fácil de usar, requiere menos tiempo de procesamiento y es comparable a ELISA en sensibilidad y especificidad. (Kumar et al., 2009)

2.1.2.4 Patrones de Inmunofluorescencia

Una de las características principales de la inmunofluorescencia es que permite identificar múltiples patrones convencionales dentro de sus células, permitiendo evaluar el comportamiento de los autoanticuerpos y asociarlos a la interpretación clínica. Existen aproximadamente más de 35 patrones inmunológicos fluorescentes y dentro los patrones más comunes tenemos: 1) el patrón homogéneo o difuso, en el que se aprecia una tinción homogénea en el núcleo de la célula; cuando este patrón se manifiesta, se debe a la presencia global de anticuerpos contra histonas o las desoxiribonucleoproteínas; 2) el patrón periférico, se caracteriza por una tinción regular alrededor del núcleo y el centro es menos teñido en comparación con la periferia; este patrón indica, por lo general, la presencia de anticuerpos anti-DNA de doble cadena, presente básicamente en pacientes con enfermedad de LES; 3) el patrón moteado es el más común y existen 2 tipos, el patrón moteado grueso y el patrón moteado fino, su presencia refleja la existencia de anticuerpos contra antígenos extractables del núcleo (anti-ENA); 4) el patrón nucleolar, tiñe profundamente los nucléolos celulares y evidencia la presencia de anticuerpos contra los componentes del nucléolo; los posibles antígenos a tener en cuenta son: las ARN polimerasa I.II.III y los Scl-70. Este patrón tiene relevancia clínica ya que se encuentran frecuentemente en formas difusas de escleroderma y pacientes con compromiso pulmonar - renal; 5) el patrón citoplasmático, que indica la presencia de anticuerpos contra componentes del citoplasma como lo son las mitocondrias, los ribosomas y las proteínas del citoesqueleto. Y, por último, 6) el patrón centromérico que se asocia principalmente a la forma de esclerodermia limitada conocida como enfermedad de Crohn. (Mendez-Rayó et al., 2018)

2.1.2.5 Interpretación y relevancia clínica

Los ANA son autoanticuerpos que pueden estar presentes en la circulación de todos los individuos, pero sólo se detectan mediante técnicas disponibles, cuando su concentración sobrepasa el valor sérico normal. Puede que incluso sean fisiológicos e intervengan en un mecanismo normal del organismo para eliminar detritus celulares. Por lo tanto, es necesario advertir que la presencia aislada de ANA, sin manifestaciones clínicas acompañantes, no puede utilizarse como prueba diagnóstica: sólo indica que debe realizarse un seguimiento clínico a los pacientes. La técnica ANA por IFI tiene una valoración importante dentro de su interpretación, ya que se examina el patrón de fluorescencia y el título de la última dilución obtenida. La magnitud del título es notable, ya que los ANA pueden ser positivos en muchas enfermedades y, como ya es mencionado, puede hasta estar presente en individuos sanos. Los pacientes con enfermedades del tejido conjuntivo tienen, constantemente, títulos altos, mientras que en los individuos sanos los títulos son relativamente bajos; las cantidades intermedias pueden detectarse en ancianos, embarazadas, pacientes con conectivopatías, infecciones crónicas, neoplasias, e incluso, individuos sanos. El umbral a partir del cual se considera que la reacción es positiva no está predeterminado, pero se considera significativo títulos de 1:80 o mayores (o menores si se determina una especificidad por técnicas más sensibles). La prevalencia de ANA positivos en personas sanas depende de la edad y el sexo: mujeres por encima de los 65 años tienen con mayor frecuencia ANA positivos; en este grupo también es importante el título: en el 20 % de las personas sanas alcanza 1:40 y en un 5 % puede ser de 1:160 o más. En cualquier caso, cifras por encima de 1:160 o 1:320 apuntan a enfermedad del tejido conjuntivo, sin embargo, la presencia de estos títulos, o incluso superiores, pueden observarse en alguna ocasión en individuos sanos. En esta circunstancia, y en múltiples enfermedades, la interpretación de los ANA positivos, debe llevarse

a cabo con prudencia y siempre considerarlo como un parámetro más del cuadro clínico. La solicitud de la prueba ANA se debe sustentar en una razonable sospecha clínica basada en la sintomatología y los datos clínicos del laboratorio. Los ANA no pueden usarse como prueba de tamizaje de conectivopatías en pacientes con poca sintomatología, ya que no constituyen un elemento decisivo para el diagnóstico, sin embargo, si las manifestaciones clínicas apuntan a una determinada enfermedad autoinmune del tejido conjuntivo, los ANA acreditan la probabilidad de tenerla. (Fernández Mesa et al., 2016)

Independientemente de la prueba utilizada, se deben conocer dos aspectos importantes en la interpretación de los ANA. En primer lugar, una prueba positiva, no específica un tipo característico de enfermedad autoinmune debido a que la gran mayoría presenta títulos altos. Tal es el caso de pacientes con LES donde se han encontrado ANA positivos entre 90 a 100%, en pacientes con artritis reumatoidea 45%, en esclerosis sistémica progresiva entre 50 a 75%, en síndrome de Sjögren hasta un 55%, en miopatías inflamatorias de 25 a 75%, en enfermedad mixta del tejido conectivo entre 95 a 100% y en lupus inducido por drogas alrededor del 100%. Un segundo aspecto relevante en la práctica clínica es la frecuencia de positividad en individuos aparentemente sanos, especialmente en pacientes geriátricos. Dependiendo del sustrato tisular utilizado se encontrarán títulos positivos, en mayor o menor grado, en la población normal: con los cortes de hígado o riñón de ratón los títulos positivos en individuos sanos varían entre 5 a 10% a una dilución de 1/20; con cultivos de líneas celulares (HEp-2) son positivos de 10 a 15% a una dilución 1/40, donde solamente el 1% de éstos serán del orden de 1/320. Cerca de un 5% de individuos normales tendrán ANA positivos a títulos bajos. En tales casos los títulos son hasta de 1/320 y el patrón de fluorescencia usualmente homogéneo. (Chalem & Chalem, 1995)

2.1.3. Anticuerpos anti-DFS70

2.1.3.1 Definición e Historia:

El autoantígeno DFS70, también denominado puntos finos y densos 70 kDa / coactivador de la transcripción p75 / factor de crecimiento derivado del epitelio de la lente (LEDGF) es una proteína que ejerce diversas funciones fisiológicas, que incluyen promover la proliferación celular, servir como cofactor de activación transcripcional y proporcionar resistencia al estrés celular. Esta proteína está presente en varias líneas y tejidos humanos, y suele sobre-expresarse durante la inflamación, estimulando así la producción de autoanticuerpos. (Okamoto, 2004)

Estos anticuerpos generan un patrón típico de tinción por inmunofluorescencia indirecta (IFI), denominado DFS, que se define como una fina fluorescencia de motas finas distribuido uniformemente en todo el núcleo interfásico y en la placa metafásica cromosómica. Con frecuencia, estos autoanticuerpos pueden encontrarse en diferentes condiciones inflamatorias, en individuos con ANA positivo sin evidencia de enfermedad reumática autoinmune e individuos aparentemente sanos. (Fabris et al., 2014)

Este patrón es observado con frecuencia en los diagnósticos de rutina, pero hasta 1994 se describió como un patrón separado asociado a un anticuerpo relacionado con la cistitis intersticial. Posteriormente se habría asociado con otras enfermedades, como eczema atópico, enfermedades oculares, tiroiditis, cáncer de próstata, etc. Sin embargo, el hallazgo más importante de este autoanticuerpo es su presencia significativa en individuos sanos, donde se han obtenido prevalencias que varían desde el 2% al 21% dependiendo de la población estudiada. Además, su presencia se encuentra en menor frecuencia en pacientes con ERAS, incluido LES, esclerodermia y hepatitis autoinmune, lo que lleva a sugerir su presencia como un marcador predictivo negativo. En un estudio con pacientes DFS70 positivos que fueron seguidos durante 4 años, confirmaron su

relación con la ausencia de enfermedad autoinmune. La importancia clínica de este autoanticuerpo al descartar pacientes con ERAS condujo a realizar un consenso ANA en Brasil del 2014, describiendo tres patrones homogéneos separados que necesitaban ser reconocido por los laboratorios que informan ANA por inmunofluorescencia indirecta. Además del ANA clásico, que se ve como una tinción difusa en los núcleos interfásicos y una tinción homogénea de la banda cromática en las células mitóticas, también se describieron otros dos patrones, el patrón cuasi homogéneo que muestra un patrón moteado fino en las células interfásicas pero una tinción homogénea de cromatina en las células en división, y un patrón DFS, que es una mancha fina densa moteada observada en tanto las células de interfase como la cromatina en las células metafásicas. Sin embargo, se hizo evidente que el informe del anticuerpo anti- DFS70 por inmunofluorescencia indirecta no es lo suficiente robusto y, por lo tanto, debe realizarse una segunda prueba de fase sólida para su confirmación, como es la norma para todos los otros autoanticuerpos específicos de la enfermedad. La principal implicancia de su recomendación es que el clínico solicitante necesita ser consciente de que puede haber más de un patrón de tinción homogénea. Por lo tanto, cuando se observó un informe de ANA homogéneo o patrón moteado con títulos moderados o altos y anticuerpos anti- ENA y anti- dsDNA negativos, valdría la pena solicitar un anticuerpo anti-DFS70 específico, utilizando un ensayo de inmunoabsorción u otro método de fase sólida para su confirmación. (Hissaria et al., 2019)

2.1.3.2 Métodos de Detección de anti-DFS70

Los anticuerpos anti-DFS70 pueden detectarse mediante diferentes técnicas en las que se destacan la inmunofluorescencia indirecta (IFI), el inmunoblot, el análisis por inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), y la quimioluminiscencia (CLIA). En los últimos años se ha implementado una nueva técnica de inmunoabsorción, en la cual las muestras séricas de los

pacientes se diluyen con un tampón que contiene el antígeno DFS70 recombinante, de modo que los posibles anticuerpos son inmuoadsorbidos antes de que las muestras se depositen en los pocillos de células Hep-2, generando una fluorescencia negativa en presencia de anti-DFS70 y, por lo tanto, no afecten el patrón resultante. (Shovman et al., 2018)

Actualmente, el Consenso Internacional sobre patrones ANA (ICAP) ha incorporado al patrón DFS dentro del algoritmo de clasificación como el patrón AC-2. Una característica sorprendente del patrón AC-2 es la potente tinción de la placa metafásica cromosómica. Esto contrasta con los patrones moteados nucleares tradicionales (AC-4 y AC-5) que muestran una tinción muy débil o nula de la placa de metafase. No obstante, no todos los patrones moteados nucleares con tinción positiva de la placa de metafase son AC-2. El patrón típico de AC-2 se compone de motas finas con una heterogeneidad peculiar en tamaño y brillo. Esto se aplica a la placa metafásica cromosómica y la distribución espacial de las motas dentro del núcleo. Sin embargo, la correcta identificación del patrón AC-2 en la prueba IFI - HEp-2 puede ser un desafío, por lo que se recomienda la aplicación de pruebas específicas para la determinación de anticuerpos anti-DFS70. (Mahler et al., 2019)

2.1.3.3 Importancia clínica del anticuerpo anti-DFS70

Hasta la fecha, los anticuerpos anti-DFS70 y sus asociaciones clínicas siguen siendo una paradoja inmunológica. Existen numerosos estudios que hablan de la posible relevancia clínica de este anticuerpo en diferentes enfermedades como la cistitis intersticial, el síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada, la dermatitis atópica, el cáncer de próstata, entre otras. Sin embargo, estas asociaciones no son concluyentes para incorporar a este anticuerpo como parte del diagnóstico de rutina de estas enfermedades. Las investigaciones que evalúan las características clínicas de grandes cantidades de muestras con anticuerpos anti-DFS70 identificados por IFI y confirmados

por inmuno-blot, informan que entre los pacientes autoinmunes que portan la mayor cantidad este autoanticuerpo evidencian tiroiditis autoinmune y que la falta de asociación entre los anticuerpos anti-DFS70 y ERAS proviene de la observación de que aproximadamente el 30% de las muestras positivas para ANA provienen de individuos aparentemente sanos, en comparación con el 0% de individuos con ERAS positivos para ANA. Dentro del aspecto pronóstico de las personas que solo presentan anticuerpos anti-DFS70, se informó que ninguno de estos individuos desarrolló ERAS dentro de un seguimiento promedio de 4 años. Por lo tanto, la presencia aislada de anticuerpos anti-DFS70 podría ser un marcador valioso de exclusión para descartar un diagnóstico de ERAS que incluye el lupus eritematoso sistémico (LES), las miopatías idiopáticas inflamatorias (IIM), el síndrome de Sjögren (SjS), la esclerosis sistémica (SSc), y la enfermedad mixta del tejido conectivo (MCTD). (Mahler et al., 2016)

2.1.3.3.1 Anticuerpos anti-DFS70 en afecciones inflamatorias

Actualmente existen indicios de un posible rol patológico de los anticuerpos anti-DFS70 en varias afecciones cutáneas y oculares. Por ejemplo, se han descrito un efecto citotóxico de los anticuerpos anti-DFS70 en las células epiteliales del cristalino de pacientes con dermatitis atópica, lo que podría ser significativo para el desarrollo de cataratas en estos pacientes. Así mismo, se han descrito una alta prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 en múltiples afecciones oculares (cataratas, degeneración retiniana atípica, oftalmia simpática) o enfermedades con manifestación ocular (La enfermedad de Behçet el síndrome de Vogt-Koyanagi-Harada, o la sarcoidosis) sin embargo, estas asociaciones no son definitivas y necesitan de más estudios para su uso clínico. (Conrad et al., 2017)

Una publicación donde se informó la presencia de anticuerpos anti-DFS70 en una variedad de afecciones inflamatorias por inmunotransferencias; reveló una prevalencia del 30% de anticuerpos

anti-DFS70 en pacientes con dermatitis atópica, 6% en pacientes con asma y 9% en pacientes con cistitis intersticial. Esta presencia en común de autoanticuerpos anti- DFS70 sugiere ser un posible marcador serológico para un subconjunto de pacientes con dermatitis atópica, asma, cistitis intersticial y otras afecciones inflamatorias. Sin embargo, aún queda por demostrar el papel de este sistema antígeno-anticuerpo en la patogénesis de estas enfermedades. (R. L. Ochs et al., 2000)

En otro estudio, se detectó la prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 en pacientes japoneses con una variedad de afecciones inflamatorias crónicas. Dentro de sus resultados, se evidenció una prevalencia de 66.7% en pacientes con síndrome de Vogt-Harada; un trastorno inflamatorio, inmunitario y sistémico caracterizado por alopecia, vitíligo, panuveitis bilateral, meningitis y pérdida de audición. Por otro lado, en pacientes con oftalmia simpática, sarcoidosis, enfermedad de Behcet y controles sanos lograron detectar prevalencias de anticuerpos anti-DFS70 de 71.4% (5/7), 25.0% (4/16), 34.4% (11/32) y 21,6% respectivamente. Tomando en cuenta estos resultados, se denota que los anticuerpos anti-DFS70 pueden presentarse en una variedad de condiciones inflamatorias y en pacientes aparentemente sanos. Estos efectos revelan la importancia de realizar más estudios en poblaciones más grandes para validar su asociación clínica con dichas enfermedades. (Yamada et al., 2001)

2.1.3.3.2 Anticuerpos anti-DFS70 asociado a neoplasias

Múltiples investigaciones han confirmado la presencia de autoanticuerpos anti- DFS70 en pacientes oncológicos, principalmente en pacientes con cáncer de próstata en comparación con otros cánceres. Un estudio que investiga la presencia de autoanticuerpos contra antígenos asociados a tumores en sueros de pacientes con cáncer de próstata por inmunofluorescencia evidenció que el patrón DFS-IFI era más predominante en estos sueros en comparación con los sueros controles. Así mismo, al ser analizados por inmunotransferencia, se logró presenciar la

formación de una banda proteica de 70 kD en la mayoría de ellos. Por último, al ser analizados por el método de ELISA para su especificidad, los anticuerpos anti-DFS70 fueron positivos en el 18 % de los pacientes con cáncer de próstata, en comparación con el 5 % de los sueros controles. En general, el 22 % de los sueros con cáncer de próstata reaccionaron contra el antígeno DFS70 por ambos métodos en comparación con el 7% de sus controles emparejados. Estos hallazgos llevaron a la hipótesis de que el antígeno DFS70 podría expresarse de manera anormal y funcionalmente hiperactivo en varias células cancerosas humanas vinculándolos a las propiedades agresivas del tumor. (Daniels et al., 2005)

Esta sobreexpresión de autoanticuerpos anti-DFS70 en tejidos malignos podría ser inducida por el estrés oxidativo y una elevada inflamación del microambiente del tejido afectado. Una gran variedad de estudios realizados durante la última década por múltiples laboratorios, han proporcionado evidencia concluyente de que cuando se manifiesta en células cancerosas, este autoantígeno contribuye a la regulación positiva y la activación de una vía de protección contra el estrés que promueve propiedades agresivas del tumor, como el aumento de la proliferación celular y la supervivencia, clonogenicidad, angiogénesis, volumen tumoral y resistencia selectiva a la muerte celular inducida por quimioterapia. Por lo tanto, DFS70 se está considerando como un antígeno emergente asociado al tumor y una oncoproteína de estrés que es relevante para múltiples tipos de cáncer. (Basu et al., 2015)

2.1.3.3.3 Anticuerpos anti-DFS70 en individuos HIV -1 positivos

Una homología que comparten la proteína DFS70 y el HIV es que presentan el mismo sitio de unión. La región del auto-epítopo DFS70 (residuos 349–435) es esencialmente la misma región comprendida por la del HIV (residuos 347–429). Esta interacción promueve la transferencia del HIV-1 al núcleo y su unión a la cromatina para promover la integración viral en sitios

transcripcionalmente activos. Si bien estos hallazgos "coincidentes" aún no están determinados, abre una gama de cuestionamientos sobre el rol biológico de estos autoanticuerpos en individuos infectados con el virus. Actualmente, no existen muchas investigaciones sobre la relación entre los individuos infectados por HIV-1 y los autoanticuerpos anti-DFS70. Sin embargo, se infiere que la presencia de autoanticuerpos anti-DFS70 podrían absorber el autoantígeno DFS70 / LEDGFp75 de su liberación extracelular evitando la incorporación del virus a las células huésped y su replicación, ofreciendo un rol protector contra la infección por HIV-1. Por lo tanto, la supresión de la unión de la proteína con anticuerpos anti-DFS70 podría ser un objetivo terapéutico eficaz para disminuir o prevenir la infección por HIV-1. (Pérez & Azoulay, 2018)

Últimamente, un primer estudio que evaluó la prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 en 100 pacientes con HIV, con 92 sujetos sin HIV escogidos al azar y comparados como controles. Reveló que ninguno de los individuos con HIV tuvo un resultado positivo para anticuerpos anti-DFS70 (0%) en comparación con 10 de los 92 individuos no VIH (10.9%). Esto sugiere que la ausencia de anticuerpos anti-DFS70 en pacientes VIH positivos podría implicar mayor susceptibilidad a la infección, en comparación con las personas que adolecen de estos anticuerpos. Sin embargo, se necesitarían de más estudios con poblaciones más grandes para confirmar dicha hipótesis. (Mahroum et al., 2018)

2.1.3.3.4 Anticuerpos anti-DFS70 en enfermedades del tejido conectivo indiferenciado (UCTD)

El término clínico del tejido conectivo indiferenciado (UCTD) se utiliza para reconocer un grupo heterogéneo de enfermedades autoinmunes sistémicas que no cumplen con los criterios de clasificación para una enfermedad del tejido conectivo (CTD) definida. Además, se ha presenciado que más de dos tercios de los pacientes con UCTD eventualmente desarrollan una CTD clásico dentro de los primeros 5 años de sospecha clínica. (Infantino et al., 2018)

La positividad del anticuerpo antinuclear (ANA) sugiere CTD, pero también puede conducir a un diagnóstico de UCTD cuando un paciente no cumple con los criterios diagnósticos de CTD. Se puede observar un patrón moteado fino denso (DFS) por inmunofluorescencia (IFI) en células HEp-2, y se debe a la presencia de anticuerpos contra el antígeno nuclear DFS70 que se ha descrito en diversas afecciones inflamatorias crónicas y sujetos sanos. Los pocos estudios sobre la prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 en pacientes con UCTD han llevado a estimaciones que oscilan entre el 8 y el 40%. Una vez que se observa un patrón de tinción DFS, se debe determinar la presencia de anticuerpos anti-DFS70 mediante algún un inmunoensayo específico (inmunoensayo de quimioluminiscencia (CIA), ensayo de inmunosorbente ligado a enzimas (ELISA) o inmunotransferencia). Como los anticuerpos anti-DFS70 son más frecuentes en individuos que no tienen una CTD definida, podrían desempeñar un papel predictivo negativo en la estratificación de pacientes sobre la base de la evolución de UCTD a CTD. (Infantino et al., 2017)

2.1.3.3.5 Anticuerpos anti-DFS70 en enfermedades reumáticas autoinmunes sistémicas (ERAS)

Estudios iniciales sobre la importancia clínica de los anticuerpos anti-DFS70, revelan una baja frecuencia de estos autoanticuerpos en pacientes con clínica ERAS (2.8–4.5%). La reactividad anti-DFS70 en pacientes con ERAS suele ir acompañada de otros autoanticuerpos adicionales, mientras que la reactividad anti-DFS70 aislada asciende solo a 0.5-0.7%. En consecuencia, estos autoanticuerpos se consideran cada vez más como un biomarcador predictivo de exclusión para el diagnóstico de ERAS, particularmente en ausencia de ANA clínicamente relevante. (Carter et al., 2018)

Un estudio que examinó la frecuencia de anticuerpos anti-DFS70 y otros autoanticuerpos marcadores de enfermedad en pacientes con diversos tipos de enfermedad reumática autoinmune;

analizó un total de 500 muestras séricas por los métodos de inmunofluorescencia indirecta e inmunotransferencia. Veintidós pacientes resultaron positivos para anticuerpos anti-DFS70 (4.4%) y dieciocho de ellos presentaron otros autoanticuerpos marcadores de enfermedad, incluidos anti-DNA de doble cadena, anti-SS-A, anti-cardiolipina u otros anticuerpos. Por lo tanto, concluyeron que los pacientes que producen solo anticuerpos anti-DFS70 como único patrón ANA-IFI rara vez son diagnosticados con enfermedad reumática autoinmune y que dichos anticuerpos podrían utilizarse como biomarcadores de exclusión para ERAS en individuos con ANA positivo. (Muro et al., 2008)

Una siguiente investigación, determinó la frecuencia de anticuerpos anti-DFS70 en pacientes pediátricos con ERAS y cohortes de referencia. Se analizó un total de 1088 muestras (743 sueros de niños con ERAS y 345 sueros de niños aparentemente sanos como cohortes de referencia) para autoanticuerpos anti-DFS70 medidos por quimioluminiscencia. Los resultados evidenciaron una frecuencia de anticuerpos anti-DFS70 en 2.1% de los niños sanos y en 4.5% de los sueros pediátricos con ERAS remitidos para ANA. La mayor frecuencia de anticuerpos anti-DFS70 se presentó en pacientes con esclerodermia juvenil localizada (LS; 4/29, 13.8%), seguido de dermatomiositis juvenil (JDM; 2/11, 18.2%), lupus eritematoso sistémico infantil (cSLE; 19/331, 5.7%), esclerosis sistémica cutánea difusa (SSc ; 1/22, 4,5%), enfermedad celíaca (2/49, 4,1%) y artritis idiopática juvenil (AIJ; 5/202, 2,5%). Al comparar la frecuencia de los autoanticuerpos anti-DFS70 en individuos pediátricos sanos, se pudo observar que está dentro de los rangos más bajo que lo reportado en pacientes adultos. Y que, los niños con LS, JDM y uveítis presentaron una mayor frecuencia de estos autoanticuerpos en comparación con los niños con SSc y cSLE. Sin embargo, se requieren de más estudios longitudinales para determinar la relación entre los niveles

de anticuerpos anti-DFS70 y la actividad o el tratamiento de la enfermedad en comparación con otros autoanticuerpos típicamente encontrado en ERAS. (Schmeling et al., 2015)

Otro estudio que logró investigar la frecuencia de anticuerpos anti-DFS70 en pacientes con ERAS y en donantes de sangre; incluyó un total de 101 con lupus eritematoso sistémico (LES), 418 pacientes con artritis reumatoide (AR), 36 con esclerosis-esclerodermia sistémica (SSc), 71 con síndrome de Sjogren (SS), 2555 con enfermedad indiferenciada del tejido conectivo (UCTD), 43 con espondilitis anquilosante (AS) y 507 donantes de sangre. Durante el análisis, 43 (1.33%) muestras de pacientes con ERAS y cuatro (0.78%) muestras de donantes de sangre presentaron el patrón de tinción DFS-70. Cuando se confirmó la presencia del anticuerpo anti-DFS70 por ELISA, se detectó en 3 (0.59%) donantes de sangre, en 3 (2.97%) con LES, en 6 (1.43%) con AR, en 1 (1.40%) con SS y 25 (0.97%) en UCTD, sin embargo, no se detectaron en pacientes con SSc y AS. Claramente, la presencia de anticuerpos anti-DFS70 fue más frecuente en los subconjuntos de ERAS que en donantes de sangre. No obstante, este resultado puede estar relacionado con el estado inmunológico individual y la formación demográfica de los grupos de estudio. Más aún, se necesitan de estudios más completos para investigar la importancia del anticuerpo anti-DFS70 para ERAS. (Peker et al., 2019)

2.3.1.3.6 Anticuerpos anti-DFS70 en individuos aparentemente sanos

Debido a la naturaleza heterogénea de las poblaciones de detección, la pluralidad geográfica, las variaciones en la interpretación de IFI entre laboratorios y la precisión de la sospecha de DFS70, las tasas de positividad en individuos sanos para los autoanticuerpos DFS70 varían ampliamente entre los estudios. Una revisión exhaustiva de veinte publicaciones que informaron la frecuencia de casos sospechosos de DFS70, reveló una tasa de positividad de 0 a 5% en donantes de sangre, niños sanos y en poblaciones de detección de ANA de rutina. En contraste, las cohortes

de individuos sanos que no han sido diferenciados como adultos o pediátricos, y los casos positivos de ANA (poblaciones de detección de ANA sanas o de rutina) tuvieron una alta positividad del patrón DFS70 que varió de 0 a 37%. A partir de estos datos, se evidencia que los anticuerpos anti-DFS70 son altamente prevalentes en individuos sanos y que su estimación podría generar un gran impacto en la atención y el manejo del paciente, por lo que se sugiere que estos casos sean confirmados mediante métodos más específicos y así evaluar su impacto en la detección de ANA. (Malyavantham & Suresh, 2017)

En un análisis, donde se seleccionaron 597 sueros de trabajadores hospitalarios aparentemente sanos (455 mujeres y 142 hombres) para detectar la presencia de anticuerpos antinucleares (ANA) y anticuerpos anti-DFS70; evidenció una prevalencia del 20% (119/597) para ANA por el método de IFI. Del total, 88 sueros presentaron un patrón moteado, y 69 de estos, presentaban un patrón DFS (11.5 % de los 597 sujetos y 57.9% de los sujetos con ANA positivo). Como los sueros DFS fueron más frecuentes en el análisis IFI, se confirmó la presencia de anticuerpos anti-DFS70 en todos los sueros por inmunotransferencia. Entre los 69 sueros, 64 fueron positivos para el anticuerpo anti-DFS70. Sorprendentemente, esto representaba el 11% del total de la población y el 53.7% de la población con ANA positivo. Estos hallazgos revelan que estos autoanticuerpos pueden evidenciarse de forma natural en individuos aparentemente sanos y que su inclusión en los exámenes ANA de rutina excluiría a pacientes ANA positivos de alguna enfermedad autoinmune sistémica. Además, definiría una subpoblación de personas sanas en las cuales el seguimiento a largo plazo podría revelar implicaciones asociados con alguna enfermedad. (Watanabe et al., 2004)

Otro estudio, donde se analizó la prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 en 2628 muestras de donantes de sangre aparentemente sanos de siete países con diversos antecedentes étnicos y geográficos (EE. UU., Italia, España, Alemania, Reino Unido, Bélgica y Brasil); reveló una

prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 que varió de 4/321 (1.2%, Italia) a 42/497 (8.5%, EE. UU.). Por consiguiente, la prevalencia de los anticuerpos fue significativamente mayor en EE. UU en comparación con todos los demás países ($p < 0,05$). Además, la prevalencia en la cohorte combinada (todos los sitios) fue mayor en donantes de sangre jóvenes (<35 años; 5.0% vs. 2.7%; $p = 0.0017$) y entre las mujeres (4.5% vs. 3.0%; $p = 0.0446$). Sin embargo, cuando las cohortes de diferentes países se corrigieron por edad y sexo, no se encontraron diferencias significativas entre los países. En conclusión, estos hallazgos demuestran que los anticuerpos anti-DFS70 son más frecuentes en mujeres jóvenes entre las diferentes áreas geográficas utilizando un ensayo estandarizado. (Albesa et al., 2019)

III. MÉTODO

3.1 Tipo de investigación

El presente estudio es de tipo observacional, descriptivo, transversal y prospectivo.

3.2 Ámbito temporal y espacial

3.2.1 Ámbito temporal

La presente investigación se llevó a cabo entre los meses de enero y febrero del año 2020

3.2.2 Ámbito espacial

Laboratorio Clínico Synlab, Lima- Perú.

3.3 Variables

VARIABLES	CONCEPTO	TIPO	INDICADOR	ESCALA	CATEGORÍA
ANTICUERPOS ANTINUCLEARES (ANA)	Anticuerpos antinucleares (ANA) contra determinados antígenos ubicados en el núcleo o citoplasma celular de los distintos órganos diana	Cualitativa	Patrón de fluorescencia en los ANA	Nominal	- Patrones nucleares - Patrones citoplasmáticos - Patrones del Huso Mitótico
	Autoanticuerpo natural dirigido contra el antígeno DFS70	Cualitativa		Nominal	

ANTICUERPO S ANTI-DFS70			Subtipo de anticuerpo antinuclear		Banda azul marcada en la zona DFS70
----------------------------	--	--	---	--	---

3.4 Población y muestra

3.4.1 Población.

La población estuvo conformada por 181 muestras séricas positivas para ANA de pacientes de sexo masculino y femenino remitidas al Laboratorio Clínico Synlab entre los meses de enero y febrero del 2020.

3.4.2 Muestra.

La muestra para este estudio es de tipo probabilística y estuvo constituida por 96 muestras séricas positivas para pruebas ANA remitidas en el Laboratorio Central Synlab entre los meses de enero y febrero del 2020.

El cálculo del muestreo se calculó de la siguiente manera.

Cálculo de la muestra con población finita de tipo cualitativo

$$n = \frac{Z^2 * N * p * q}{d^2 * (N - 1) * Z^2 * P * q}$$

N = Tamaño de la población (181)

Z = intervalo de confianza en 95% (1.96)

p = probabilidad de éxito (0.843)

q = probabilidad de fracaso (0.157)

d = precisión para z 95% (0.05)

Reemplazando:

$$n = \frac{(1.96)^2 * 181 * 0.843 * 0.157}{(0.05)^2 * (181 - 1) + (1.96)^2 * 0.843 * 0.157}$$

$$n = 96.0181 \sim 96$$

Se trabajará con 96 muestras representativas con un intervalo de confianza de 95 %

3.5 Instrumentos

Para la recolección de datos, se solicitó la autorización correspondiente al Laboratorio Clínico Synlab para la ejecución del estudio. Se realizó el acoplo de información de la base de datos del sistema LabCore durante el periodo de enero y febrero del 2020 en base al sexo, la edad y el patrón de fluorescencia ANA.

3.6 Procedimiento

Las muestras de suero de pacientes con solicitud para pruebas ANA fueron remitidas al Laboratorio Clínico Synlab, al área de Inmunología Especial, para su posterior análisis por inmunofluorescencia indirecta con el kit ANA / HEp-20-10 de Euroimmun, que ofrece el espectro completo de antígenos para la detección de anticuerpos nucleares celulares. Las intensidades de señal de una muestra positiva y una negativa difieren significativamente y la evaluación microscópica permitirá una determinación exacta de cómo se diseminará el tinte indicador (generalmente fluoresceína) en las células o el tejido. Cada autoanticuerpo unido provoca un patrón típico de fluorescencia, en nuestro caso, aislamos todos los sueros positivos independientes del patrón, para posteriormente, confirmar la presencia de anticuerpos anti-DFS70 por el método de Inmunoblot automatizado con el kit ANA Profile 3 plus de Euroimmun, que proporciona un ensayo cualitativo in vitro para autoanticuerpos humanos de la clase IgG contra 16 antígenos diferentes: nRNP, Sm, SS-A (nativo), SS-B, Ro-52, Scl-70, Jo -1, PM-Scl, CENP B, dsDNA,

PCNA, nucleosomas, proteína P ribosómica, histonas, AMA M2 y DFS70. El kit contiene tiras reactivas recubiertas con líneas paralelas de antígenos altamente purificadas. En un primer paso, las muestras séricas se diluyen y se incuban con las tiras de inmunotransferencia. En caso de ser muestras positivas, los anticuerpos IgG específicos se unirán al sitio antigénico correspondiente y en una segunda incubación se unirán a una IgG antihumana marcada con una enzima (conjugado) que cataliza una reacción de color. El correcto funcionamiento de la incubación se indica mediante una tinción intensa de la banda control. Por último, las tiras reactivas son analizadas por el software EUROLinScan, que permite la interpretación de los resultados en función a la intensidad de señal de la banda.

3.7 Análisis de datos

Teniendo presente los datos adjuntos del sistema Labcore, se procedió a realizar la estadística separándolos por sexo, edad y patrón de fluorescencia.

Una vez determinado el anticuerpo anti- DFS70 por inmunoblot, se pudo realizar la evaluación de los resultados para la obtención de la prevalencia y los demás objetivos planteados a través del programa Microsoft Office Excel, alcanzando así los porcentajes esperados.

IV. RESULTADOS

Se seleccionaron un total de 96 muestras positivas para ANA-IFI y se analizaron por el método de inmunoblot automatizado.

Tabla N° 1. Prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 en pacientes ANA positivo.

	N	DFS-70 positivo	Prevalencia
Total	96	27	28.1%
Sexo			
Femenino	83	21	21.8%
Masculino	13	6	6.2%

En la Tabla N° 1 se evidencia la prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 en pacientes ANA positivo, con un valor de 28.1% (n= 27). Donde el 21.8% (n=21) corresponde al sexo femenino y el 6.2% (n=6) al sexo masculino.

La edad promedio del total de pacientes positivos para anticuerpos antinucleares (ANA) fue de 42.3 ± 18.1 años (Rango: 12 – 84 años). Representado el 86% del total, los del sexo femenino. El rango de edad promedio de los pacientes que presentaban anticuerpos anti-.DFS70 fue de 46.8 ± 18.8 años para el sexo femenino y de 37.2 ± 17.9 años para el sexo masculino.

Tabla N° 2. Distribución de anticuerpos anti-DFS70 en los diferentes patrones ANA-IFI.

Patrón	Anti- DFS70		Total	% Positivos	% Negativos
	Positivo	Negativo			
Homogéneo	17	32	49	34.7%	65.3 %
Moteado Fino	7	22	29	24.1%	75.9%
Centromérico	0	6	6	0.0%	100.0%
Mixto	1	2	3	33.3%	66.7%
Moteado	0	3	3	0.0%	100.0%
Moteado fino denso	2	0	2	100.0%	0.0%
Moteado Grueso	0	2	2	0.0%	100.0%
Nucleolar	0	1	1	0.0%	100.0%
Otros	0	1	1	0.0%	100.0%
Total	27	69	96		

En la Tabla N° 2 se observa la distribución del anticuerpo anti-DFS70 en los diferentes patrones ANA - IFI. La presencia del anticuerpo anti-DFS70 tuvo lugar en un 34.7%, 24.1 % y 100% del total de patrones homogéneos, moteado fino y DFS respectivamente. Mientras que el 100% del total de patrones centromérico presentó una ausencia para el anti-DFS70.

Tabla N° 3. Frecuencia de anticuerpos anti-DFS70 en los diferentes patrones ANA-IFI.

Patrón ANA	Anti- DFS70 positivo	Frecuencia
Homogéneo	17	63.0%
Moteado Fino	7	25.9%
Moteado fino denso	2	7.4%
Mixto	1	3.7%
Total	27	100.0 %

En la Tabla N° 3 se manifiesta la frecuencia de anticuerpos anti-DFS70 en los diferentes patrones ANA-IFI. Siendo el patrón homogéneo el más frecuente, con un valor de 63% (n=17), seguido del patrón moteado fino con un 25.9% (n=7), el patrón moteado fino denso con un 7.4% (n=2) y por último, el patrón mixto con un 3.7% (n=1).

Tabla N° 4. Prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 aislado en pacientes ANA positivo.

		N°	%
DFS-70 AISLADO	Homogéneo	8	8.4 %
	Mixto	1	1.0 %
	Moteado fino denso	1	1.0 %
	Total	10	10.4 %

En la Tabla N° 4 se revela una prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 aislado del 10.4% (n=10) para el total de muestras positivas para ANA y del 37.1 % para el total de resultados positivo para anti-DFS70, siendo más frecuente, en el patrón homogéneo (8.4%), seguido del patrón mixto (1.0%) y el patrón DFS (1.0%).

Tabla N° 5. Prevalencia de anticuerpos anti -DFS70 concomitante a otros autoanticuerpos en pacientes ANA positivo.

Anti-DFS70 concomitante	N°	%
Total	17	17.7%
Subtipos ANA		
Anti- Nucleosoma	6	6.3 %
Anti-dsDNA	4	4.2 %
Anti- SS-A	4	4.2 %
Anti- 52	4	4.2 %

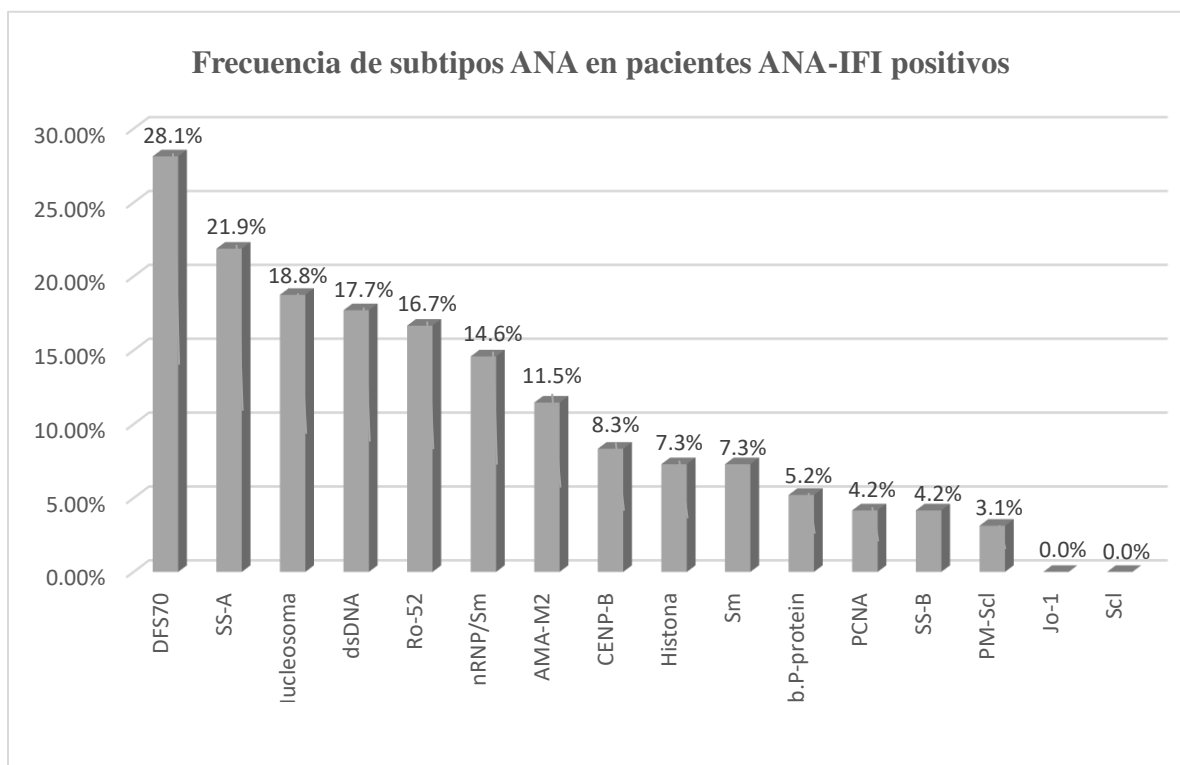
En la Tabla N° 5, se expone la prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 concomitantes a otros auto-anticuerpos ANA con un valor del 17.7% (n=17) para el total de muestras ANA positivo y del 62.9 % para el total de muestras positivas para anti-DFS70. El anticuerpo Nucleosoma fue el más frecuente, con un valor de 6.3%; seguido de los autoanticuerpos dsDNA, SS-A y Ro-52 con una frecuencia del 4.2%.

Tabla N° 6. Prevalencia de expresividad antigénica por IB en pacientes ANA-IFI positivos.

	N	IB positivo	Prevalencia
Total	96	77	80.2 %
Sexo			
Femenino	83	66	68.7 %
Masculino	13	11	11.4 %

En la Tabla N° 6 se refleja la prevalencia antigénica hallada por Inmunoblot (IB) en pacientes ANA positivos, con un valor de 80.2% (n= 77). De este resultado, el 68.7 % (n=66) correspondía al sexo femenino y el 11.4 % (n=11) al sexo masculino.

Tabla N° 7. Frecuencia de subtipos ANA en pacientes ANA-IFI positivos.



En la Tabla N° 7 se exhibe la frecuencia de los subtipos ANA en pacientes ANA-IFI positivos. La banda DFS70 presentó una frecuencia del 28.1% (n=27), seguido de la banda SS-A, con un 21.8 % (n=21), la banda Nucleosoma con un 18.7 % (n=18), la banda ds-DNA con un 17.7 % (n=17), la banda Ro-52 con un 16.6 % (n=16), la banda nRNP/Sm con un 14.6 % (n=14), la banda AMA-M2 con un 11.5 % (n=11), la banda CENP-B con un 8.3% (n=8), la banda Histona y Sm con un 7.3 % (n=7), la banda Rib.P-protein con un 5.2 % (n=5), la banda PCNA y SS-B con un 4.2 % (n=4) y la banda PM-Scl con un 3.1 % (n=3).

Tabla N° 8. Frecuencia relativa de expresividad antigénica por Inmunoblot en los diferentes patrones ANA-IFI.

Patrón (n)	Subtipo ANA (n)	Frecuencia
Homogéneo (n=49)	DFS70, Nucleosoma, ds-DNA (n=16)	32.7 %
Moteado Fino (n=29)	SS-A, Ro-52, nRNP/Sm (n=10)	34.5 %
Centromérico (n=6)	CENP-B (n=6)	100 %
Moteado Fino Denso (n=2)	DFS70 (n=2)	100 %

En la Tabla N° 8 se expone la frecuencia relativa de expresividad antigénica en los diferentes patrones ANA-IFI. Tenemos al patrón centrómero (n=6) con el 100% de expresividad para el antígeno CENP-B. Seguido del patrón homogéneo (n=49) con el 32.7 % de expresividad correspondiente a los antígenos DFS70, Nucleosoma y ds-DNA. El patrón moteado fino (n=29) con el 34.5 % de expresividad para SS-A, nRNP/Sm y Ro-52. Finalmente, el patrón moteado fino denso (n=2) con el 100 % de expresividad para DFS70.

Tabla N° 9. Prevalencia de inmunoblot negativo en los diferentes patrones ANA-IFI

	N	IB negativo	%
Total	96	19	19.8%
Patrones			
Homogéneo		15	78.8%
Otros		4	21.2%

En la Tabla N° 9 se refleja una prevalencia de inmunoblot negativo del 19.8% (n=19). Siendo el patrón homogéneo el más frecuente, con un valor de 78.9% (n=15).

V. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Es un hecho que la detección de anticuerpos anti-DFS70 sigue siendo un gran desafío en el entorno del laboratorio clínico, aunque no se conoce con exactitud su índole e importancia clínica, la literatura apoya que la presencia de estos autoanticuerpos podría desempeñar funciones protectoras, patógenas o de sensores contra el estrés oxidativo o daño celular inflamatorio.

La naturaleza enigmática de los anticuerpos anti-DFS70 enfatiza evaluar su prevalencia en las diferentes poblaciones. Los resultados obtenidos en este estudio lograron evidenciar una prevalencia de 28,1% para anticuerpos anti-DFS70 en pacientes ANA positivos, siendo este un valor concordante con el análisis realizado por Aleksandrova et al. que obtuvieron una prevalencia para anticuerpos anti-DFS70 del 21%, del mismo modo, una investigación reciente realizada en el Perú, por Fabián & Fernández revelaron una prevalencia del 25% para anticuerpos anti-DFS70 en pacientes ANA positivos. Sin embargo, existieron discrepancias con otras investigaciones, por ejemplo; Vázquez-Del Mercado et al. reportaron una prevalencia del 9.7% para anticuerpos anti-DFS70, mientras que Lucas et al. reportaron una prevalencia de 3.7% en la misma población. En vista de que existen pocas investigaciones acerca de la variabilidad de la prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 en pacientes ANA positivo, los diversos métodos de detección y la experiencia humana serían las posibles variantes de la diferencia porcentual entre los estudios, además de otras posibles variantes como el género, el origen étnico, la ubicación geográfica y la exposición ambiental a la que se enfrentan las distintas poblaciones de estudio para la detección de estos autoanticuerpos.

Hasta ahora, las asociaciones más fuertes encontradas para estos anticuerpos son el sexo femenino y la edad joven; estos reportes suelen coincidir mucho con los resultados obtenidos, ya

que la mayor prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 fue encontrada en mujeres con una edad promedio de 46 años, sin embargo, varios factores pueden ser la base de esta diferencia de género y edad, por lo que se necesitan de más estudios para comprender mejor estos hallazgos.

En todos los casos de patrón de tinción DFS, se pudo detectar la presencia de anticuerpos anti-DFS70. Aunque en el presente estudio se obtuvieron pocos casos, muchos investigadores apoyan la confirmación de anticuerpos anti-DFS70 en este tipo de patrón, dado que estos autoanticuerpos se encuentran con mayor frecuencia en pacientes aparentemente sanos en comparación con pacientes con enfermedad autoinmune sistémica. Por ejemplo, estudios realizados por Mahler et al., Miyara et al., Mutlu et al., Carter et al., y Koo et al. revelan una prevalencia de entre 60% y 95% para anticuerpos anti-DFS70 en todos los casos en que la inmunofluorescencia presentó el patrón de tinción DFS. Por lo tanto, el uso conjunto de una prueba adicional confirmatoria para anticuerpos anti-DFS70 en los casos que se presentan patrones de tinción DFS, mejoraría interpretar algunos casos sospechosos de enfermedad autoinmune.

Por otro lado, entre los múltiples patrones ANA presentes en el estudio, la presencia del anticuerpo anti-DFS70 fue más prevalente en el patrón homogéneo, siendo concordante con el estudio realizado por Lucas et al. donde el patrón homogéneo dio lugar a un 50 % de los casos en los que se evidenciaba la presencia del anticuerpo anti-DFS70. Del mismo modo, Bonroy et al. analizaron la prevalencia del anticuerpo anti-DFS70 en muestras ANA-IFI homogéneas, encontrando un porcentaje de 19.2 %. Dado que la detección del anticuerpo anti-DFS70 por inmunofluorescencia suele ser complejo y tiende confundirse con patrones similares ocasionado por otros autoanticuerpos presentes en el suero, estos resultados sugieren incorporar los ensayos anti-DFS70 dentro de las pruebas ANA de rutina, particularmente cuando se visualizan patrones

homogéneos, moteados o similares, pues permitiría contribuir a una mejor aclaración de los posibles resultados positivos inexplicables para ANA.

Con respecto a su detección aislada, se reportó una prevalencia del 37.0 % para el total de muestras positivas para anti-DFS70. Los autores citados anteriormente evidencian que la presencia de anticuerpos anti-DFS70 mono-específicos en pacientes ANA positivo tiende a encontrarse mayormente en individuos aparentemente sanos y pacientes con otras afecciones no inmunes, en comparación de si se encuentra concomitante a otros autoanticuerpos. Por lo tanto, estos autoanticuerpos son considerados cada vez más como candidatos potenciales para discriminar la ausencia de enfermedad autoinmune sistémica.

En cuanto a su detección concomitante a otros autoanticuerpos, se obtuvo una prevalencia del 62.9 %. Siendo el autoanticuerpo Nucleosoma el más prevalente, seguido del anticuerpo ds-DNA, SS-A y Ro-52. Este resultado tiene cierta concordancia con el estudio realizado por Muro et al. que evaluaron la presencia de otros autoanticuerpos asociados en pacientes anti-DFS70 positivos con enfermedad autoinmune sistémica, obteniendo una prevalencia del 81.8 % (n=18). Siendo los autoanticuerpos anti-SS-A y anti ds-DNA los más prevalentes. Dentro de su historial clínico, se evidenció que dichos autoanticuerpos pertenecían a pacientes con Síndrome de Sjogren y Lupus eritromatoso sistémico, respectivamente. Así mismo, otro estudio realizado por Mahler et al. evidenció una baja prevalencia de 2.8% (n=7) para anticuerpos anti-DFS70 en pacientes con Lupus eritromatoso sistémico. Donde el 85.7 % (n=6) presentó autoanticuerpos concomitantes, siendo los más prevalentes, los anticuerpos anti- dsDNA, anti-U1RNP y anti-SS-A. Estos hallazgos destacan que la presencia del anticuerpo anti-DFS70 suele ir acompañado de otros autoanticuerpos ANA en pacientes con enfermedad autoinmune sistémica, por lo que su presencia aislada se compromete cada vez más como un posible marcador clínico para excluir dicho diagnóstico.

Con relación a la expresividad antigénica hallada por Inmunoblot, se reportó una prevalencia del 80.2%. Siendo el antígeno DFS70 el que presentó la mayor expresividad con 27 casos positivos. Si bien estos autoanticuerpos son considerados de tipo natural, en el campo de la autoinmunidad han sido vistos de gran importancia, dado que estos anticuerpos se relacionan cada vez más en individuos sanos que en pacientes con enfermedad autoinmune sistémica, por lo tanto, su utilidad radica como una herramienta de apoyo en la interpretación de resultados positivos para ANA con sintomatología inespecífica.

Así mismo, después del antígeno DFS-70, quien presentó mayor expresividad, fue el SS-A, con 21 casos positivos. Este anticuerpo se asocia principalmente en pacientes con Síndrome de Sjögren. Una revisión realizada por Fayyaz et al. evidenciaron la presencia de este anticuerpo entre un 50% a 70% de los sueros positivos en pacientes con Síndrome de Sjögren, acompañado del antígeno SS-B. Por lo tanto, su detección conjunta permitiría ser un indicador específico para el diagnóstico del Síndrome de Sjögren.

La presencia del anticuerpo NUC con 18 casos y el anticuerpo anti-dsDNA (de doble cadena o nativo) con 17 casos, es de suma importancia, ya que estos se presentan como marcadores específicos de lupus eritematosos sistémico (LES). Un estudio realizado por Pradhan et al. evaluaron la incidencia del anticuerpo NUC y su asociación con otros autoanticuerpos ANA en pacientes con LES. Sus resultados revelaron la presencia del anticuerpo NUC en el 88% de los casos y su asociación con el anticuerpo ds-DNA en el 80% de los mismos. Por lo tanto, la detección de dichos autoanticuerpos contribuiría como herramienta diagnóstica en pacientes con LES.

VI. CONCLUSIONES

1. La prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 en pacientes ANA positivo fue del 28.1 %, siendo un porcentaje elevado a lo esperado al inicio de la investigación.
2. La prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 fue mayor en pacientes de sexo femenino con un 21.8% en comparación con el sexo masculino que obtuvo un 6.2%.
3. Entre los diferentes patrones ANA distintos al DFS, la presencia del anticuerpo anti-DFS70 fue más prevalente en el patrón homogéneo con un 63.0%.
4. La prevalencia de los anticuerpos anti-DF70 aislado fue del 10.4%.
5. La prevalencia de los anticuerpos anti-DFS70 concomitantes a otros autoanticuerpos ANA fue del 17.7 %. Siendo el anticuerpo Nucleosoma el más frecuente, seguido del anti ds-DNA, SS-A y Ro-52 respectivamente.

VII. RECOMENDACIONES

1. Se sugiere que para una siguiente investigación los resultados obtenidos se asocien con la historia clínica, ya que podría mejorar el panorama de los pacientes sospechosos de enfermedad autoinmune.
2. Que este estudio sirva como base para seguir realizando investigaciones con poblaciones de mayor número, así se podrá obtener un resultado más generalizado sobre la prevalencia de estos anticuerpos.
3. Se sugiere realizar estudios similares, donde se asocie la prevalencia del anticuerpo anti-DFS-70 con la condición genética, la ubicación geográfica, el origen étnico y/o exposición ambiental a la que se encuentra las diferentes poblaciones.
4. Se recomienda a los profesionales de la salud que se capaciten, de acuerdo a su metodología, al reconocimiento e identificación de los anticuerpos anti-DFS70 para contribuir a un mejor diagnóstico clínico de los pacientes sospechosos de enfermedad autoinmune.
5. Se recomienda implementar algoritmos diagnósticos que incluya a los anticuerpos anti-DFS70 en las pruebas ANA de rutina, ya que permitiría ampliar la búsqueda de autoanticuerpos y dar conocimientos de los posibles ANA positivos inexplicables.

VIII. REFERENCIAS

- Albesa, R., Sachs, U., Infantino, M., Manfredi, M., Benucci, M., Baus, Y., Lutterbeck, S., Andrade, L., Morris, K., Friedenber, A., Casas, S., Bossuyt, X., & Mahler, M. (2019). Increased prevalence of anti-DFS70 antibodies in young females: Experience from a large international multi-center study on blood donors. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 57(7), 999-1005. <https://doi.org/10.1515/cclm-2018-1233>
- Aleksandrova, E., Verizhnikova, Z., Novikov, A., Panafidina, T., & Popkova, T. (2017). AB1018 Detection of ANTI-DFS70 antibodies by indirect immunofluorescence (IIF) on novel HEP-2/DFS70-KO substrate for discriminating antinuclear antibodies (ANA) – positive healthy individuals (HI) and patients with systemic lupus erythematosus (SLE). *Annals of the Rheumatic Diseases*, 76(Suppl 2), 1411-1411. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2017-eular.4008>
- Aragón, C.-C., González, J. D., Posso-Osorio, I., Naranjo-Escobar, J., Puerta, G., Echeverri, A., Ortiz, E., & Tobón, G. J. (2018). Anticuerpos anti-DFS70: Un nuevo autoanticuerpo útil en la exclusión de patologías autoinmunes. *Revista Colombiana de Reumatología*, 25(2), 104-111. <https://doi.org/10.1016/j.rcreu.2018.01.003>
- Basu, A., Sanchez, T. W., & Casiano, C. A. (2015). DFS70/LEDGFp75: An Enigmatic Autoantigen at the Interface between Autoimmunity, AIDS, and Cancer. *Frontiers in Immunology*, 6. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00116>
- Bizzaro, N., Pesente, F., Cucchiario, F., Infantino, M., Tampoia, M., Villalta, D., Fabris, M., & Tonutti, E. (2016). Anti-DFS70 antibodies detected by immunoblot methods: A reliable

- tool to confirm the dense fine speckles ANA pattern. *Journal of Immunological Methods*, 436, 50-53. <https://doi.org/10.1016/j.jim.2016.06.008>
- Bonroy, C., Schouwers, S., Berth, M., Stubbe, M., Piette, Y., Hoffman, I., Devreese, K., & Van Hoovels, L. (2018). The importance of detecting anti-DFS70 in routine clinical practice: Comparison of different care settings. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 56(7), 1090-1099. <https://doi.org/10.1515/cclm-2017-0541>
- Cabiedes, J., & Núñez-Álvarez, C. A. (2010). Anticuerpos antinucleares. *Reumatología Clínica*, 6(4), 224-230. <https://doi.org/10.1016/j.reuma.2009.10.004>
- Carpinelli, M. M., Giménez, V., Ferreira, L., Rovira, C., Picaguá, E., & Granados, E. (2010). Frecuencia de los patrones de anticuerpos anti-nucleares en pacientes con sospecha clínica de LES. *Memorias del Instituto de Investigaciones en Ciencias de la Salud*, 8(2). <http://revistascientificas.una.py/index.php/RIIC/article/view/206>
- Carter, J. B., Carter, S., Saschenbrecker, S., & Goeckeritz, B. E. (2018). Recognition and Relevance of Anti-DFS70 Autoantibodies in Routine Antinuclear Autoantibodies Testing at a Community Hospital. *Frontiers in Medicine*, 5. <https://doi.org/10.3389/fmed.2018.00088>
- Chalem, M., & Chalem, F. (1995). *Anticuerpos antinucleares*. <https://studylib.es/doc/6658610/anticuerpos-antinucleares>
- Conrad, K., Röber, N., Andrade, L. E. C., & Mahler, M. (2017). The Clinical Relevance of Anti-DFS70 Autoantibodies. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*, 52(2), 202-216. <https://doi.org/10.1007/s12016-016-8564-5>
- Daniels, T., Zhang, J., Gutierrez, I., Elliot, M. L., Yamada, B., Heeb, M. J., Sheets, S. M., Wu, X., & Casiano, C. A. (2005). Antinuclear autoantibodies in prostate cancer: Immunity to

- LEDGF/p75, a survival protein highly expressed in prostate tumors and cleaved during apoptosis. *The Prostate*, 62(1), 14-26. <https://doi.org/10.1002/pros.20112>
- Fabián, C. B. L. R., & Fernández, V. S. L. (2017). Prevalencia de anticuerpos antinucleares en personas aparentemente sanas. Lima-Perú. *Revista Mexicana de Patología Clínica y Medicina de Laboratorio*, 64(1), 8-13.
- Fabris, M., Zago, S., Tosolini, R., Melli, P., Bizzaro, N., & Tonutti, E. (2014). Anti-DFS70 antibodies: A useful biomarker in a pediatric case with suspected autoimmune disease. *Pediatrics*, 134(6), e1706-1708. <https://doi.org/10.1542/peds.2013-3914>
- Fayyaz, A., Kurien, B. T., & Scofield, H. (2016). Autoantibodies in Sjögren's Syndrome. *Rheumatic diseases clinics of North America*, 42(3), 419-434. <https://doi.org/10.1016/j.rdc.2016.03.002>
- Fernández Mesa, T. de los Á., Sánchez Martínez, C., Junco-Calzadilla, R., González González, G. D., & Iglesias-González, I. M. (2016). Importancia diagnóstica de los anticuerpos antinucleares. *Revista Cubana de Reumatología*, 18, 0-0.
- Hissaria, P., Broadfoot, A., & Baumgart, K. W. (2019). Revisiting the antinuclear antibody test with emphasis on a new pattern: Anti- DFS 70 antibody. *Medical Journal of Australia*, 210(2), 69-71. <https://doi.org/10.5694/mja2.12103>
- Infantino, M., Meacci, F., Grossi, V., Manfredi, M., Li Gobbi, F., Sarzi-Puttini, P., Atzeni, F., & Benucci, M. (2017). The clinical impact of Anti-DFS70 antibodies in undifferentiated connective tissue disease: Case reports and a review of the literature. *Immunologic Research*, 65(1), 293-295. <https://doi.org/10.1007/s12026-016-8836-4>

- Infantino, Maria, Carbone, T., Manfredi, M., Grossi, V., Benucci, M., Blank, M., Shoenfeld, Y., & Bizzaro, N. (2019). Are Anti-DFS70 Autoantibodies Protective? *The Israel Medical Association Journal: IMAJ*, 21(8), 509-511.
- Infantino, Maria, Pregnotato, F., Bentow, C., Mahler, M., Benucci, M., Li Gobbi, F., Damiani, A., Grossi, V., Franceschini, F., Bodio, C., Borghi, M. O., & Manfredi, M. (2019). Only monospecific anti-DFS70 antibodies aid in the exclusion of antinuclear antibody associated rheumatic diseases: An Italian experience. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*. <https://doi.org/10.1515/cclm-2019-0454>
- Infantino, Maria, Shovman, O., Pérez, D., Manfredi, M., Grossi, V., Benucci, M., Gobbi, F. L., Bandinelli, F., Damiani, A., Moscato, P., Azoulay, D., Gilburd, B., & Shoenfeld, Y. (2018). Anti-DFS70 autoantibodies in undifferentiated connective tissue diseases subjects: What's on the horizon? *Rheumatology (Oxford, England)*. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/key012>
- Javier-Zepeda, C. A. (2002). *Anticuerpos anti-nucleares*. 70(4), 5.
- Kang, S. Y., Lee, W. I., Kim, M. H., & La Jeon, Y. (2019). Clinical use of anti-DFS70 autoantibodies. *Rheumatology International*, 39(8), 1423-1429. <https://doi.org/10.1007/s00296-019-04299-4>
- Koo, S. H., Kim, J., Kim, S. Y., & Kwon, G. C. (2019). Clinical significance of anti-DFS70 antibody in antinuclear antibody-positive samples with a dense fine speckled pattern. *Journal of Laboratory Medicine*, 43(3), 149-155. <https://doi.org/10.1515/labmed-2019-0036>

- Kumar, Y., Bhatia, A., & Minz, R. (2009). Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: A journey revisited. *Diagnostic Pathology*, 4(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1746-1596-4-1>
- López Sañudo, S., Fernández Alonso, I., & López Hoyos, M. (2015). Importancia del patrón moteado fino denso y de los anticuerpos anti-DFS70 en el diagnóstico de enfermedades autoinmunitarias del tejido conectivo. *Medicina Clínica*, 145(5), 218-223. <https://doi.org/10.1016/j.medcli.2015.03.009>
- Lucas, S., Chang, W. L., & Merien, F. (2018). Prevalence and Clinical Significance of Anti-DFS70 in Antinuclear Antibody (ANA)-positive Patients Undergoing Routine ANA Testing in a New Zealand Public Hospital. *The Journal of Rheumatology*, 45(2), 289-291. <https://doi.org/10.3899/jrheum.170849>
- Mahler, M., Andrade, L. E., Casiano, C. A., Malyavantham, K., & Fritzler, M. J. (2019). Anti-DFS70 antibodies: An update on our current understanding and their clinical usefulness. *Expert Review of Clinical Immunology*, 15(3), 241-250. <https://doi.org/10.1080/1744666X.2019.1562903>
- Mahler, M., Meroni, P. L., Andrade, L. E., Khamashta, M., Bizzaro, N., Casiano, C. A., & Fritzler, M. J. (2016). Towards a better understanding of the clinical association of anti-DFS70 autoantibodies. *Autoimmunity Reviews*, 15(2), 198-201. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2015.11.006>
- Mahler, M., Parker, T., Peebles, C. L., Andrade, L. E., Swart, A., Carbone, Y., Ferguson, D. J., Villalta, D., Bizzaro, N., Hanly, J. G., & Fritzler, M. J. (2012). Anti-DFS70/LEDGF Antibodies Are More Prevalent in Healthy Individuals Compared to Patients with Systemic

- Autoimmune Rheumatic Diseases. *The Journal of Rheumatology*.
<https://doi.org/10.3899/jrheum.120598>
- Mahroum, N., Perez, D., Shovman, O., Watad, A., Gilburd, B., Amital, H., Levy, I., & Shoenfeld, Y. (2018). Anti-DFS70 among HIV-positive individuals—A prospective study. *Best Practice & Research. Clinical Rheumatology*, 32(4), 605-609.
<https://doi.org/10.1016/j.berh.2019.01.009>
- Malyavantham, K., & Suresh, L. (2017). Analysis of DFS70 pattern and impact on ANA screening using a novel HEp-2 ELITE/DFS70 knockout substrate. *Auto-Immunity Highlights*, 8(1), 3. <https://doi.org/10.1007/s13317-017-0091-8>
- Mendez-Rayó, T., Ochoa-Zárate, L., Posso-Osorio, I., Ortiz, E., Naranjo-Escobar, J., & Tobón, G. J. (2018). Interpretación de los autoanticuerpos en enfermedades reumatológicas. *Revista Colombiana de Reumatología*, 25(2), 112-125. <https://doi.org/10.1016/j.rcreu.2018.02.004>
- Miyara, M., Albesa, R., Charuel, J.-L., El Amri, M., Fritzler, M. J., Ghillani-Dalbin, P., Amoura, Z., Musset, L., & Mahler, M. (2013). Clinical Phenotypes of Patients with Anti-DFS70/LEDGF Antibodies in a Routine ANA Referral Cohort. *Clinical and Developmental Immunology*, 2013. <https://doi.org/10.1155/2013/703759>
- Muro, Y., Sugiura, K., Morita, Y., & Tomita, Y. (2008). High concomitance of disease marker autoantibodies in anti-DFS70/LEDGF autoantibody-positive patients with autoimmune rheumatic disease. *Lupus*, 17(3), 171-176. <https://doi.org/10.1177/0961203307086311>
- Mutlu, E., Eyigör, M., Mutlu, D., & Gültekin, M. (2016). Confirmation of anti-DFS70 antibodies is needed in routine clinical samples with DFS staining pattern. *Central-European Journal of Immunology*, 41(1), 6-11. <https://doi.org/10.5114/ceji.2016.58812>

- Ochs, R. L., Muro, Y., Si, Y., Ge, H., Chan, E. K., & Tan, E. M. (2000). Autoantibodies to DFS 70 kd/transcription coactivator p75 in atopic dermatitis and other conditions. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 105(6 Pt 1), 1211-1220. <https://doi.org/10.1067/mai.2000.107039>
- Ochs, Robert L., Mahler, M., Basu, A., Rios-Colon, L., Sanchez, T. W., Andrade, L. E., Fritzler, M. J., & Casiano, C. A. (2016). The significance of autoantibodies to DFS70/LEDGFp75 in health and disease: Integrating basic science with clinical understanding. *Clinical and Experimental Medicine*, 16, 273-293. <https://doi.org/10.1007/s10238-015-0367-0>
- Okamoto, M., Ogawa, Y., Watanabe, A., Sugiura, K., Shimomura, Y., Aoki, N., Nagasaka, T., Tomita, Y., & Muro, Y. (2004). Autoantibodies to DFS70/LEDGF are increased in alopecia areata patients. *Journal of Autoimmunity*, 23(3), 257-266. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2004.07.004>
- Peker, B. O., Şener, A. G., Tarhan, E. F., & Kaya, S. (2019). Investigation of anti-DFS70 antibody in patients with systemic autoimmune rheumatic diseases. *Clinical Rheumatology*, 38(12), 3627-3633. <https://doi.org/10.1007/s10067-019-04730-y>
- Pérez, D., & Azoulay, D. (2018). Anti-DFS70 autoantibodies in HIV-1-positive individuals. *Current Opinion in Rheumatology*, 30(4), 361-364. <https://doi.org/10.1097/BOR.0000000000000495>
- Pradhan, V. D., Patwardhan, M. M., & Ghosh, K. (2010). Anti-nucleosome antibodies as a disease marker in systemic lupus erythematosus and its correlation with disease activity and other autoantibodies. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, 76(2), 145-149. <https://doi.org/10.4103/0378-6323.60558>

- Schmeling, H., Mahler, M., Levy, D. M., Moore, K., Stevens, A. M., Wick, J., McMillan, J. D., Horneff, G., Assassi, S., Charles, J., Salazar, G., Mayes, M. D., Silverman, E. D., Klien-Gitelman, M., Lee, T., Brunner, H. I., Reed, A. M., & Fritzler, M. J. (2015). Autoantibodies to Dense Fine Speckles in Pediatric Diseases and Controls. *The Journal of Rheumatology*, 42(12), 2419-2426. <https://doi.org/10.3899/jrheum.150567>
- Şener, A. G., & Afşar, İ. (2015). Frequency of dense fine speckled pattern in immunofluorescence screening test. *European Journal of Rheumatology*, 2(3), 103-105. <https://doi.org/10.5152/eurjrheum.2015.0003>
- Shovman, O., Gilburd, B., Chayat, C., Amital, H., Langevitz, P., Watad, A., Guy, A., Perez, D., Azoulay, D., Blank, M., Segal, Y., Bentow, C., Mahler, M., & Shoenfeld, Y. (2018). Prevalence of anti-DFS70 antibodies in patients with and without systemic autoimmune rheumatic diseases. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 36(1), 121-126.
- Suleman Bhana, MD. (2019). *Anticuerpos Antinucleares (ANA)*. American College of Rheumatology. <https://www.rheumatology.org/I-Am-A/Patient-Caregiver/Enfermedades-y-Condiciones/Anticuerpos-Antinucleares-ANA>
- Vázquez-Del Mercado, M., Gómez-Bañuelos, E., Navarro-Hernández, R. E., Pizano-Martinez, O., Saldaña-Millán, A., Chavarria-Avila, E., Gonzalez-Rosas, L., Andrade-Ortega, L., Saavedra, M. A., Vera-Lastra, O. L., Jara, L. J., Medrano-Ramírez, G., Cruz-Reyes, C., García-De la Torre, I., Escarra-Senmarti, M., Anjos, L. M. E.-D., Basu, A., Albesa, R., Mahler, M., & Casiano, C. A. (2017). Detection of autoantibodies to DSF70/LEDGFp75 in Mexican Hispanics using multiple complementary assay platforms. *Auto-Immunity Highlights*, 8(1), 1. <https://doi.org/10.1007/s13317-016-0089-7>

- Watanabe, A., Koderu, M., Sugiura, K., Usuda, T., Tan, E. M., Takasaki, Y., Tomita, Y., & Muro, Y. (2004). Anti-DFS70 antibodies in 597 healthy hospital workers. *Arthritis and Rheumatism*, 50(3), 892-900. <https://doi.org/10.1002/art.20096>
- Yamada, K., Senju, S., Shinohara, T., Nakatsura, T., Murata, Y., Ishihara, M., Nakamura, S., Ohno, S., Negi, A., & Nishimura, Y. (2001). Humoral immune response directed against LEDGF in patients with VKH. *Immunology Letters*, 78(3), 161-168. [https://doi.org/10.1016/s0165-2478\(01\)00243-7](https://doi.org/10.1016/s0165-2478(01)00243-7)

IX. ANEXOS

Anexo N° 1.

MATRIZ DE CONSISTENCIA

TEMA	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	OBJETIVOS DE ESTUDIO	HIPÒTESIS	VARIABLES DE ESTUDIO	INDICADORES	METODOLOGIA
PREVALENCIA DE ANTICUERPOS ANTI-DFS70 EN PACIENTES ANA POSITIVO	PREGUNTA GENERAL: ¿Cuál es la prevalencia de anticuerpos anti – DFS70 en pacientes ANA positivo?	OBJETIVO GENERAL: Determinar la prevalencia de anticuerpos anti – DFS70 en pacientes ANA positivo.	Estimamos una prevalencia de 20% para la detección de anticuerpos anti – DFS70 en pacientes sometidos ANA positivo.	1) Anticuerpos antinucleares (ANA) 2) Anticuerpos anti-DFS70	1) Patrón de fluorescencia en los ANA 2) Subtipo de anticuerpo antinuclear	NIVELES DE ESTUDIO: Descriptivo DISEÑO DE ESTUDIO: Observacional Muestra

	<p>PREGUNTAS ESPECIFICAS:</p> <p>1. ¿Cuál es la prevalencia de anticuerpos anti – DFS70 con respecto al sexo y grupo etario?</p> <p>2. ¿Cuál es la prevalencia de anticuerpos anti – DFS70 en los diferentes patrones ANA-IFI, distintos al DFS?</p>	<p>OBJETIVOS ESPECIFICOS:</p> <p>1. Determinar la prevalencia de anticuerpos anti – DFS70 con respecto al sexo y el grupo etario.</p> <p>2. Identificar la presencia de anticuerpos anti – DFS70 en los diferentes patrones ANA-IFI, distintos al DFS.</p>				<p>96 muestras séricas positivas para ANA</p> <p>Unidades de análisis</p> <p>Muestra sérica</p>
--	---	---	--	--	--	--

	<p>3. ¿Qué porcentaje de anticuerpos anti – DFS70 pueden encontrarse de manera aislada?</p> <p>4. ¿Cuál es el porcentaje y los autoanticuerpos concomitantes más frecuentes al anticuerpo anti – DFS70?</p>	<p>3. Delimitar que porcentaje de anticuerpos anti – DFS70 pueden encontrarse de manera aislada.</p> <p>4. Definir el porcentaje y los autoanticuerpos concomitantes más frecuentes al anticuerpo anti – DFS70.</p>				
--	---	---	--	--	--	--

Anexo N° 2.

Consentimiento Informado

"Año de la Universalización de la Salud"

Lima, 24 de Agosto del 2020

Sr.
Culqui Bermudez, Ismael Raúl
 Investigador Principal
 Presente.-

De nuestra consideración:

Es grato dirigirnos a usted para saludarla cordialmente e informarle que el Comité Revisor de Proyectos de Synlab, ha revisado y aprueba el trabajo de investigación titulado: **Prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 en pacientes ANA positivo en el Laboratorio Synlab - Sede Central, Lima 2020**. Así mismo nos comprometemos a brindar las facilidades del caso para la realización del mismo.

De acuerdo a la normativa deberá presentar un informe sobre los avances de dicho proyecto, así como las conclusiones del mismo a su despacho respectivo.

Atentamente

A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Marcel Machado".

Marcel Machado
 Director de Operaciones
 SYNLAB PERÚ S.A.C



A handwritten signature in blue ink, appearing to read "Ángel Rodríguez Stuart".

Ángel Rodríguez Stuart
 Líder de Producción
 SYNLAB PERÚ S.A.C

Anexo N° 4.

DESCRIPCIÓN GRÁFICA DEL EUROLIneScan

EurolIneScan - Evaluación

Protocolo: ENA PLUS 28/02
 Realizado por: EUROBlotOne

Fecha: 28/02/2020
 Impreso: 28/02/2020

ID paciente Nº. Nombre paciente Número de laboratorio Número de tira Prueba	EUROLIne / Allergy / EUROASSAY													Westernblot				
	Abreviatura													Resultados				
	Intensidad													Abreviatura				
	Char													Char				
1 091427011 Ana_DFS	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUONA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm		
	ADFS/ 243-88																	
	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUC	DNA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm	
	-1	169	0	1	2	0	0	3	11	1	0	3	1	2	10	3	3	0
	0	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 092120891 Ana_DFS	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUONA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm		
	ADFS/ 243-88																	
	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUC	DNA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm	
	-1	136	15	2	1	55	109	0	0	2	1	1	2	3	2	0	0	
	0	+++	+	0	0	++	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
3 091812061 Ana_DFS	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUONA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm		
	ADFS/ 243-88																	
	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUC	DNA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm	
	-1	160	1	2	1	0	2	0	1	1	4	1	3	2	2	1	0	
	0	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
4 092124071 Ana_DFS	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUONA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm		
	ADFS/ 243-81																	
	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUC	DNA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm	
	-1	160	2	2	1	2	2	2	3	3	1	2	2	1	3	14	1	
	0	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
5 091789541 Ana_DFS	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUONA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm		
	ADFS/ 243-88																	
	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUC	DNA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm	
	-1	143	1	2	0	2	31	0	18	1	0	2	1	1	1	0	0	
	0	+++	0	0	0	0	+	0	+	0	0	0	0	0	0	0	0	
6 0924899328 Ana_DFS	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUONA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm		
	ADFS/ 243-83																	
	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUC	DNA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm	
	-1	159	129	2	0	0	4	1	2	0	20	2	2	3	2	5	0	
	0	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	
7 092523541 Ana_DFS	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUONA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm		
	ADFS/ 243-84																	
	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUC	DNA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm	
	-1	166	1	1	2	0	2	26	1	4	8	2	1	9	1	30	76	
	0	+++	0	0	0	0	0	+	0	0	0	0	0	0	+	+++		
8 091793311 Ana_DFS	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUONA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm		
	ADFS/ 243-86																	
	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUC	DNA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm	
	-1	161	4	1	0	14	1	4	2	1	0	3	2	1	2	2	4	
	0	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
9 091809861 Ana_DFS	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUONA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm		
	ADFS/ 243-86																	
	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUC	DNA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm	
	-1	161	2	1	1	1	3	1	1	1	4	0	0	2	1	0	0	
	0	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
10 092068801 Ana_DFS	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUONA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm		
	ADFS/ 243-87																	
	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUC	DNA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm	
	-1	163	0	2	3	1	2	2	2	1	3	1	3	2	3	2	4	
	0	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
11 092231931 Ana_DFS	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUONA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm		
	ADFS/ 243-88																	
	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUC	DNA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm	
	-1	126	2	79	0	98	67	0	2	2	1	1	4	0	41	4	139	
	0	+++	0	+++	0	+++	++	0	0	0	0	0	0	++	0	+++	+++	
12 091403241 Ana_DFS	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUONA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm		
	ADFS/ 243-88																	
	ET	Ko	DFS70	M2	RIB	HI	NUC	DNA	PCNA	CB	Jo	PM100	Sci	SSB	SSA	Sm	RNP/Sm	
	-1	168	144	2	4	5	12	0	3	1	2	12	1	7	5	717	3	
	0	+++	+++	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	+++	0	0	