



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MÉDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE PEDIATRÍA
CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI

**TITULO DE LA TESIS:
ESTANDARIZACIÓN DE LOS ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN PACIENTES CON
LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO JUVENIL EN EL HOSPITAL DE PEDIATRIA DEL
CMN SXXI**

MODALIDAD TITULACIÓN POR TESIS O TESINA

**QUE OPTA PARA OBTENER EL GRADO EN:
REUMATOLOGÍA PEDIÁTRICA**

**PRESENTA:
ADÁN CUATECONTZI ROMERO**

**TUTORES PRINCIPALES:
Dra. Patricia Yáñez Sánchez
Médico especialista en Reumatología
Servicio de Reumatología Pediátrica del Hospital de Pediatría CMN SXXI del IMSS
Dr. Rodolfo Rivas Ruiz
Médico especialista en Neonatología-Maestro en investigación
Coordinación de Investigación en Salud del Instituto Mexicano del Seguro Social. CMN SXXI**

**FECHA Y LUGAR DE EXAMEN
IMSS HOSPITAL DE PEDIATRIA CMN SIGLO XXI EL DÍA 11 DE NOVIEMBRE DEL 2016**

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX.



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Tabla de contenido

ABREVIATURAS	3
RESUMEN.....	4
MARCO TEÓRICO	5
INTRODUCCIÓN.....	5
Definición de ANA y ENA.	6
Clasificación de los ANA.....	6
Pruebas para ANA por IFI.....	7
Los ANA como screening en enfermedades reumatológicas.....	7
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	9
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	9
JUSTIFICACIÓN	10
Magnitud	10
Trascendencia.....	10
Vulnerabilidad.....	10
Factibilidad.....	10
OBJETIVOS	11
General	11
Específicos	11
MATERIAL Y MÉTODOS	11
Tipo de estudio	11
Métodos.....	11
Grupo del estudio	11
Variables.....	11
OPERACIONALIZACION DE VARIABLES.....	12
Cálculo del tamaño de la muestra	13
Criterios de selección.....	13
Sedes del estudio.....	14
Recursos	14
Análisis de los datos	15
ASPECTOS ÉTICOS.....	16
RESULTADOS	17
DISCUSIÓN	20
CONCLUSIONES	20
CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	21

ANEXO I: Criterios de Clasificación del ACR 1997 para LES.....	22
ANEXO II: Hoja de recolección de datos.....	23
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	24

ABREVIATURAS

LES= Lupus eritematoso sistémico

LESJ = Lupus eritematoso sistémico juvenil

ANA= Anticuerpos antinucleares

ENAS = Del inglés, extractable nuclear antigens

RIA = Radioinmunoanálisis

ELISA = Inmunoensayo ligado a enzimas

EIT = Electroinmunotransferencia

IFI: Inmunofluorescencia indirecta

WHO = World Health Organization

ACR = American College of Rheumatology

NCCLS = National Committee for Clinical Laboratory Standards

ROC = Receiver operator characteristic

DN = Distribución normal

LD = Libre distribución

RIQ = Rangos intercuartiles

MTC = Medidas de tendencia central

UMAE = Unidad médica de alta especialidad

HP = Hospital de Pediatría

CMN SXXI = Centro Médico Nacional Siglo XXI

RESUMEN

ESTANDARIZACIÓN DE LOS ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO JUVENIL EN EL HOSPITAL DE PEDIATRÍA DEL CMN SXXI

INTRODUCCIÓN. El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune multisistémica caracterizada por alteraciones en la respuesta inmune, producción de autoanticuerpos y formación de depósitos de complejos inmunes. El estudio de los anticuerpos antinucleares (ANA) se inició con la identificación en pacientes con LES de las células LE en 1948, posteriormente se mostró que el fenómeno de las células LE se debía a la presencia de anticuerpos que reconocen antígenos nucleares, lo que llevó al desarrollo de técnicas empleando anticuerpos conjugados con moléculas fluorescentes (inmunofluorescencia indirecta [IFI]) para su identificación, lo que es hoy en día la técnica más utilizada

Los títulos de ANA de 1:40 pueden existir en el 20-30% de la población sana, o un 10 a 20% con títulos de 1:80, pero sabemos que estos títulos pueden presentarse en pacientes con otros diagnósticos bien definidos de autoinmunidad y en condiciones de gravedad, lo cual demuestra la importancia de establecer los valores normales de ANA tomando en cuenta el grupo étnico y el patrón observado, así como los valores con mayor sensibilidad y especificidad en lupus eritematoso sistémico juvenil.

OBJETIVOS. *General:* Determinar el punto de corte óptimo para los ANA en pacientes con diagnóstico de LESJ.

Específicos: a) Evaluar si existe variación en los puntos de corte de los ANA en hombre y mujeres con LESJ. b)

Determinar el tipo de patrón prevalente en los pacientes con LESJ. **MATERIAL Y MÉTODOS:** Estudio transversal, retrospectivo, observacional, analítico tipo prueba diagnóstica; se incluyeron todos los pacientes que ingresaron a la UMAE HP CMN SXXI de forma consecutiva y en protocolo de estudio se solicitó determinación de ANA.

RESULTADOS: Se analizaron 539 niños, de los cuales 12.8% se encontró con LESJ, con predominio en el sexo femenino, el patrón de tinción de mayor prevalencia fue el homogéneo. Y mediante curva ROC se obtuvo un título de 1:320 con sensibilidad del 57.97% y una especificidad del 94.68%, no se encontró diferencia estadística significativa en ambos sexos.

CONCLUSIÓN: El patrón de tinción homogéneo a título de 1:320 es el que mejor representa a la población pediátrica con lupus eritematoso sistémico juvenil del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI. Y en el cual a partir de este valor o títulos superiores debe hacer sospechar al clínico la existencia de enfermedad autoinmune.

MARCO TEÓRICO

INTRODUCCIÓN

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune multisistémica caracterizada por alteraciones en la respuesta inmune, producción de autoanticuerpos, y formación de depósitos de complejos inmunes, los cuales causan daño tisular en órganos vitales¹.

El LES de inicio en la niñez representa el 10-20% de todos los casos de LES². La incidencia varía ampliamente de 0.36-30/100 000 por año, dependiendo de etnicidad, y con predominio en el sexo femenino³.

El estudio de los anticuerpos antinucleares (ANA) se inició con la identificación en pacientes con LES de las células LE, descrito por Hargraves en 1948⁴. La detección de las células LE fue durante mucho tiempo una prueba utilizada para confirmar el diagnóstico de LES. Años después se demostró que pueden estar presentes en pacientes con artritis reumatoide (25%), síndrome de Sjögren (15–20%), cirrosis pancreática (33%), hepatitis crónica activa (50–70%), miastenia gravis y púrpura trombocitopénica idiopática (1–2%). En 1959, Holman mostró que el fenómeno de las células LE se debía a la presencia de anticuerpos que reconocen antígenos nucleares⁵. Lo anterior llevó al desarrollo de técnicas como la inmunodifusión (doble difusión radial u Ouchterlony y contraelectroforesis), hemaglutinación, fijación de complemento, etc. y de técnicas de microscopía, empleando anticuerpos conjugados con moléculas fluorescentes (inmunofluorescencia indirecta [IFI]) que aumentaron la especificidad y sensibilidad para la detección⁶. Actualmente, la técnica más utilizada para la detección de los ANA es la IFI, la cual fue desarrollada en 1950 por Conns et al⁷, que posteriormente fue modificada por Tan⁸ en 1966, la cual empleaba como sustratos cortes de hígado o riñón de ratón. En 1977 se publicaron resultados de la estandarización para la detección de los ANA en pacientes con padecimientos reumáticos⁹. Actualmente la detección de los ANA se hace empleando como sustratos las líneas celulares HEp-2 y HeLa, siendo la primera por su facilidad de crecimiento la más utilizada. La detección de ANA mediante IFI en líneas celulares se considera la prueba inicial de laboratorio que apoya al diagnóstico de las enfermedades autoinmunes debido a su alta

sensibilidad (96.5%). Sin embargo, dada baja especificidad (45.2%)¹⁰, es necesario emplear técnicas más sensibles y específicas como: radioinmunoanálisis (RIA), ELISA, electroinmunotransferencia (EIT) o Western blot, etc. para aumentar la sensibilidad y especificidad de los ANA para el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes.

Definición de ANA y ENA.

Los ANA son inmunoglobulinas que reaccionan contra diferentes componentes autólogos nucleares (ej. ADNcd, SSA/Ro, proteínas del centrómero, etc.) y citoplásmicos (ej. aminoacil tRNA sintetasa o Jo-1, mitocondrias, etc.). La identificación de los antígenos reconocidos por los ANA fue originalmente estudiada purificando proteínas nucleares mediante técnicas de extracción con soluciones salinas; dando el nombre de antígenos extraíbles del núcleo o mejor conocidos como ENAS, de los cuales existen más de 100 antígenos conocidos¹¹.

Clasificación de los ANA

En la circulación pueden estar presentes tres tipos de ANA. Uno de ellos está presente en todos los individuos a títulos relativamente bajos y forman parte de los ANA naturales¹². Por ello, es importante establecer valores de referencia ajustados a las poblaciones étnicas que los van a usar como referencia¹³. Un segundo tipo de ANA son los que se producen como resultado de procesos infecciosos, cuyo origen no se asocian a manifestaciones clínicas de enfermedad autoinmune y sus títulos bajan en cuanto se resuelve el proceso infeccioso que les dio origen¹⁴. El tercer tipo son los ANA autoinmunes, los cuales reflejan la pérdida de la tolerancia inmunológica y su origen es multifactorial. Su producción depende de carga genética, medio ambiente, cambios hormonales, etc.¹⁵.

El sustrato utilizado para la detección de los ANA es importante, ya que existen antígenos cuya concentración en las células de los tejidos es baja en contraste con lo que sucede en las células HEp-2, que por ser una línea celular epitelial su concentración está aumentada. Otra característica de estas células es que tienen más de 46 cromosomas, más de dos nucléolos y, por ser células metabólicamente muy activas, tienen una gran cantidad de mitocondrias. Su núcleo es más grande que el de cualquier célula epitelial normal, por ello la observación de patrones nucleares y citoplásmicos se convierte en una tarea relativamente fácil¹⁶.

Pruebas para ANA por IFI

Las recomendaciones son adaptadas de la Approved Guideline publicada en diciembre de 1996 por la National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Este consenso documenta las direcciones generales de operación para las pruebas ANA-IFI¹⁷.

Es importante asegurar que los resultados ANA-IFI son presentados al clínico en el contexto apropiado. Estas consideraciones requieren de nomenclatura consistente y un formato de reporte, intervalos de referencia apropiados y una adecuada representación del límite de la prueba¹⁸.

Nomenclatura y formato de reporte: Los resultados de la prueba IFI-ANA incluyen una declaración que describa el resultado de la prueba es negativo (patrón no perceptible de fluorescencia nuclear) o positivo con dilución al corte (patrón específico nuclear exhibido de fluorescencia) y si es positivo, una descripción del patrón de fluorescencia observado, por ejemplo, homogéneo o moteado, incluyendo fluorescencia citoplasmática. El reporte puede incluir una descripción de la intensidad de tinción fluorescente y el título de corte (dilución) observado¹⁹.

Rango de referencia: resultados positivo débil IFI-ANA ocurren en diversos porcentajes de niños y adultos sanos, los resultados deben ser interpretados con factores de riesgo. De ahí que diversos grupos (WHO/ International Union of Immunologic Societies/Arthritis Foundation/Centers for Disease Control and Prevention/NCCLS) sugieran que cada laboratorio establezca sus intervalos de referencia.

Los ANA como screening en enfermedades reumatológicas.

Los títulos de ANA de 1:40 pueden existir en el 20-30% de la población sana, o un 10 a 20% de la misma población con títulos de 1:80¹⁸, pero sabemos que estos títulos pueden presentarse en pacientes con otros diagnósticos bien definidos de autoinmunidad y en condiciones de gravedad.

Se tiene otros reportes donde se establece que pueden presentarse los ANA hasta en el 12% a títulos 1:80 en niños sin tener evidencia de enfermedad reumatológica²⁰, en niños con dolor musculoesquelético sin enfermedad reumatológica a títulos variables desde 1:20 e incluso 1:320 correspondiente al 12.5%, sin desarrollar enfermedad autoinmune y ocasionalmente

con modificación leves de los títulos al seguimiento a 36 meses²¹. En 1997 Malleson y colaboradores al evaluar a 1 369 niños en el British Columbia's Children's Hospital, demuestra que el 41% puede presentar títulos 1:20 o mayores y en el 65% se mostró alguna enfermedad. Mediante curva ROC los títulos entre 1:160 y 1:320 parecen ser los que muestran la mayor sensibilidad y especificidad para LES/enfermedad de tejido conectivo mixto²². McGhee y colaboradores al comparar grupos con LES y otras enfermedades sugiere que los títulos mayores a 1:1 080 en niños con LES vs 1:160 de otro grupo ($p < 0.0001$) tienen un valor predictivo positivo de 1.0 y títulos $\leq 1:320$ tienen un valor predictivo negativo para lupus de 0.84²³.

En algunas publicaciones de población adulta posterior a analizar donadores sanos, los títulos de corte se encuentran en 1:200 en el registro Sueco²⁴; en México existen dos estudios, el primero realizado en el 2005 por Rosas I. y colaboradores²⁵ que obtiene títulos de 1:20 para los patrones homogéneo, periférico, laminar, centromérico, centriolar y de filamentos intermedios; mayores de 1:80 para el patrón citoplásmico y mitocondrial, en tanto que para los patrones moteado grueso, moteado fino y nucleolar, mayores de 1:160. Marín y colaboradores en 2009 obtuvieron un título de 1:160 para el patrón moteado²⁶, lo que demuestra la importancia de establecer los valores normales de ANA tomando en cuenta el grupo étnico y el patrón observado, así como los valores con mayor sensibilidad y especificidad en lupus eritematoso sistémico juvenil.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Los anticuerpos antinucleares forman parte de los once criterios de clasificación para establecer el diagnóstico de LES (ACR, 1997²⁷), su presencia o ausencia puede influir en la seguridad del diagnóstico, aunque la relación entre autoanticuerpos y las manifestaciones clínicas es en muchos casos confusa; desde su descubrimiento se ha observado que incluso en población sana se encuentran presentes a títulos variables, lo que representa el 30%.

Como se ha visto en diversas poblaciones y grupos etarios los puntos de corte son distintos, lo que genera la necesidad por diversas organizaciones a emitir recomendaciones para que cada unidad que trabaja y/o estudia los anticuerpos antinucleares establezca sus propios puntos de corte que representen la mayor sensibilidad y especificidad en lo que a lupus eritematoso sistémico se refiere.

Desafortunadamente en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI (CMN SXXI) a pesar de tener una larga experiencia en la realización de los ANA por IFI, aún no se tiene un título de referencia que pueda discriminar mejor la posibilidad de presentar una enfermedad reumatológica, ni un valor que mejor represente al lupus eritematoso sistémico juvenil.

Se mencionó anteriormente existen registros en los que incluso a títulos altos (ej: 1:320) no existe manifestación clínica de LES y a títulos bajos (ej: 1:80) franco cuadro de LES e incluso gravedad que pone en riesgo la vida de los pacientes, por lo que consideramos necesario determinar el título que muestra la mayor sensibilidad y especificidad para LESJ, siendo el primer registro en población mexicana.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el punto de corte óptimo de los anticuerpos antinucleares para el diagnóstico de lupus eritematoso sistémico juvenil?

JUSTIFICACIÓN

Magnitud

Los ANA son inmunoglobulinas susceptibles de manifestarse en diversos padecimientos de origen no autoinmune (incluyendo infecciones) ya que tienen una amplia variación en la presentación clínica e inicialmente pueden mimetizarse con otras patologías, por lo que consideramos la necesidad de determinar un valor de corte que defina nuestra población y que proporcione un mejor valor diagnóstico para lupus eritematoso sistémico juvenil.

Trascendencia

La obtención de una dilución ideal que pueda incrementar la utilidad de la prueba diagnóstica, permitirá disminuir las pruebas falsas positivas para LES y por lo tanto, disminuirá el costo, al disminuir el uso de otros estudios.

Permitirá obtener un título que representa la mayor sensibilidad y especificidad de los anticuerpos antinucleares con diagnóstico de lupus eritematoso sistémico juvenil.

El obtener un punto de corte de alta especificidad, le ayudará a los clínicos a la mejor integración del diagnóstico de LESJ.

Vulnerabilidad

Los pacientes que se incluyan a este estudio no serán vulnerados en sus valores humanos, ya que se analizarán las muestras de sangre de los pacientes a los que se les solicitó previamente. Por lo que este estudio es considerado como un estudio sin riesgo.

Factibilidad

Es posible realizar este estudio en la UMAE HP CMN Siglo XXI ya que se cuenta con un laboratorio de inmunología donde se realizan anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia con registro de más de 5 años, así como reumatológicos con larga experiencia en el área pediátrica. Se estima que contamos con más de 92 pacientes a los cuales se les solicitaron pruebas ANA.

OBJETIVOS

General

Determinar el punto de corte óptimo para los anticuerpos antinucleares en pacientes con diagnóstico de lupus eritematoso sistémico juvenil.

Específicos

- Evaluar si existe variación en los puntos de corte de los anticuerpos antinucleares en hombre y mujeres con lupus eritematoso sistémico.
- Determinar el tipo de patrón prevalente en los pacientes con lupus eritematoso sistémico juvenil.

MATERIAL Y MÉTODOS

Tipo de estudio

Transversal, retrospectivo, observacional, analítico tipo prueba diagnóstica.

Métodos

1. Se revisará la libreta de registro del laboratorio de inmunología de donde se obtendrán los datos de los pacientes a los que se les solicitó ANA.
2. Un reumatólogo experimentado definirá aquellos pacientes que cumplan los criterios de clasificación del ACR 1997 para LES.
3. Se compararán los valores de ANA entre los grupos con diagnóstico de LES y no-LES.

Grupo del estudio

Pacientes que ingresaron a la UMAE HP Centro Médico Nacional Siglo XXI de forma consecutiva a los cuales se les haya realizado determinación de ANA como parte del abordaje diagnóstico entre el 1º de mayo de 2011 y el 31 de mayo de 2016.

Variables

DEPENDIENTE

- Anticuerpos antinucleares

INDEPENDIENTE

- Rash malar
- Rash discoide
- Fotosensibilidad
- Ulceras orales
- Artritis
- Serositis
- Nefritis
- Alteración neurológica
- Alteración hematológica
- Alteración inmunológica

OPERACIONALIZACION DE VARIABLES

Variable	Tipo	Escala de medición
Patrón de tinción	Cualitativa ordinal	Homogéneo Moteado fino Moteado grueso Nucleolar Citoplásmico Laminar Centromérico De filamentos intermedios
Título de tinción	Cualitativa ordinal	1:40 1:64 1:80 1:160 1:320 1:640 1:1280 > 1:2560
Diagnóstico final	Cualitativa nominal	Lupus eritematoso sistémico: No Si
Edad	Cuantitativa continua	1, 2, 3, 4, 5 años, etc.
Sexo	Cualitativa dicotómica	Hombre, Mujer
Artritis	Cualitativa nominal	Presente, Ausente

Rash malar	Cualitativa nominal	Presente, Ausente
Rash discoide	Cualitativa nominal	Presente, Ausente
Fotosensibilidad	Cualitativa nominal	Presente, Ausente
Ulceras orales	Cualitativa nominal	Presente, Ausente
Serositis	Cualitativa nominal	Presente, Ausente
Nefritis	Cualitativa nominal	Presente, Ausente
Alteración neurológica	Cualitativa nominal	Presente, Ausente
Alteración hematológica	Cualitativa nominal	Presente, Ausente
Alteración inmunológica	Cualitativa nominal	Presente, Ausente

Cálculo del tamaño de la muestra

Estudio observacional retrospectivo, transversal tipo prueba diagnóstica, donde el estándar de oro será el diagnóstico clínico de LES. Se realizará con una muestra consecutiva con lapso de tiempo del 1 mayo de 2011 al 31 de mayo 2016. Se calculó el tamaño de muestra con la fórmula para una sola proporción, asumiendo que la sensibilidad de los ANA con un punto de corte de 1:160 es de un 85% con una precisión de 5%, asumiendo un valor de alfa de 0.05% y valor de beta o poder de un 80%, por lo que se requieren por lo menos de 84 pacientes.

Criterios de selección

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Pacientes que ingresaron a la UMAE HP CMN Siglo XXI y en abordaje diagnóstico se solicitó anticuerpos antinucleares.

CRITERIOS DE NO INCLUSIÓN

- Pacientes en los que el expediente clínico se encuentra incompleto.
- Pacientes en quien no se pudo definir el patrón de tinción de los ANA.

Sedes del estudio

- Laboratorio de inmunología de la UMAE Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI.
- Servicio de reumatología de la UMAE Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI.

Recursos

HUMANOS

- Dr. Adán Cuatecontzi Romero. Tesista, Residente de la especialidad en Reumatología Pediátrica de la UMAE HP del CMN SXXI, encargado de la elaboración del protocolo de investigación. Al tener los resultados, realizará conclusiones finales.
- Dra. Patricia Yáñez Sánchez. Director del Proyecto. Médico Reumatólogo adscrito al servicio de reumatología de la UMAE HP del CMN SXXI. Asesor en la elaboración del protocolo de investigación.
- Dr. Rodolfo Rivas Ruiz. Médico Pediatra Neonatólogo. Maestro en Investigación. Adscrito a la Coordinación de Investigación en Salud del Instituto Mexicano del Seguro Social. Asesor metodológico.

MATERIALES

- Se realizan los ANA de acuerdo al fabricante ORGENTEC Diagnostika GmbH con sustrato de células Hep-2, iniciando dilución 1:40.
- Las biometrías hemáticas se realizan por citometría de flujo con equipo automatizado.
- El registro de los ANA en el laboratorio de inmunología se lleva a cabo de manera física en libretas de donde se obtendrán los datos fuente.

FINANCIEROS

- El material de papelería, lápices y bolígrafos serán cubiertos por el investigador y por el HP a nivel de atención médica (No es un recurso extra).

Análisis de los datos

Se utilizará el paquete estadístico de SPSS.

Se realizará estadística descriptiva a las variables cualitativas sexo, patrón de tinción, artritis, rash malar, etc. que se resumirán en frecuencias y porcentaje.

Para las variables cuantitativas se estudiará el tipo distribución usando métodos mentales, cálculo de sesgo y curtosis, prueba de Shapiro y Kolmogorov. En caso de tener distribución normal (DN) se resumirán como medida de tendencia central (MTC) la media y medida de dispersión (MD) la desviación estándar. En caso de tener libre distribución (LD) se resumirán como MTC mediana y MD rangos intercuartiles 25-75 (RIQ).

En el análisis bivariado se contrastaran las características basales de la población con LES y sin LES, Para variables cuantitativas de DN se usará t de Student, en caso de tener LD se usará U de Mann Whitney.

Para las variables cualitativas (sexo, patrón de tinción, artritis, rash malar, rash discoide, fotosensibilidad, úlceras orales, etc) se usará X² o prueba exacta de Fisher según corresponda.

Análisis de prueba diagnóstica

Se realizará el cálculo de sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivos y negativa partir de una tabla de doble entrada, donde se llenarán las columnas con el Diagnóstico clínico de LES o no LES y en las filas se llenarán con los títulos de los ANA. Con estos datos se obtendrá el mejor punto de corte (de mayor sensibilidad y especificidad), además se graficará una Curva ROC, donde se obtendrá el área bajo la curva.

ASPECTOS ÉTICOS

De acuerdo al Reglamento de la Ley General de salud en materia de investigación en seres humanos, título quinto, en sus artículos 97, 98 y 100 esta investigación corresponde a una investigación sin riesgo por lo que no requiere consentimiento informado escrito²⁸.

Se codificarán los nombres de los pacientes para que no puedan ser identificados en la base de datos con el fin de mantener el anonimato de los pacientes.

Este protocolo se someterá al comité de investigación local para su aprobación previa a la captura de los datos.

RESULTADOS

Se analizó una muestra total de 539 pacientes, en la que se obtuvo una prevalencia de 12.80% de pacientes con lupus eritematoso sistémico juvenil, el sexo femenino fue el grupo de pacientes al que se realizó mayor determinación de anticuerpos antinucleares, así como el sexo que corresponde con el 87% de todos los pacientes con LES. La mediana de edad de estos pacientes se encontró a los 12 años (rango 9-15).

Tabla 1. Características generales de la población estudiada

Variables	Tipo de paciente				p
	no-LES		LES		
	n	%	n	%	
Sexo del paciente					
Masculino	201	42.7	9	13	<0.001
Femenino	270	57.3	60	87	
Edad del paciente (años)					
< 5	65	13.8	1	1.4	<0.001
5-10	163	34.6	9	13	
11-14	162	34.4	26	37.7	
≥ 15	81	17.2	33	47.8	
Patrón de tinción					
Homogéneo	52	11	42	60.9	<0.001
Moteado	49	10.4	23	33.3	
Moteado Fino	8	1.7	3	4.3	
Nucleolar	7	1.7	1	1.4	
Artritis	37	7.9	41	59.4	<0.001
Rash Malar	0	0	11	15.9	<0.001
Rash discoide	3	0.6	3	4.3	0.006
Fotosensibilidad	14	3	17	24.6	<0.001
Ulceras orales	0	0	16	23.2	<0.001
Serositis	4	0.8	14	20.3	<0.001
Pleuritis	3	0.6	9	13	<0.001
Pericarditis	1	0.2	9	13	<0.001
Proteinuria	56	11.9	53	76.8	<0.001
Sedimento*	56	11.9	55	79.7	<0.001
Neurológico	18	3.8	7	10.1	0.02
Convulsiones	19	4	6	8.7	0.085
Anemia hemolítica	5	1.1	3	4.3	0.035
Trombocitopenia	36	7.6	12	17.4	0.008
Leucopenia	25	5.3	37	53.6	<0.001
Linfopenia	25	5.3	54	78.3	<0.001

* Cilindros celulares: Glóbulos rojos, hemoglobina, granulares, tubulares, mixtos.

El patrón de tinción más prevalente fue el homogéneo, mediante una curva ROC se determinó que el título de 1:320 nos ofrece una sensibilidad del 57.97% y una especificidad del 94.68% para nuestra población con LES. El grupo de estudio se comparó con otras enfermedades reumatológicas y autoinmunes (esclerodermia 1.8%, artritis idiopática juvenil 3.1%, hepatitis autoinmune 2.0%, purpura de Henoch- Schönlein 2.5%) así como otros padecimientos pediátricos (hematuria recurrente 4.1%, enfermedad renal crónica no debida a lupus 4.4%, fiebre de origen desconocido 1.6%) proporcionando un valor predictivo positivo de 61.54% (IC 95% 48.64- 73.35) y un valor predictivo negativo 93.88 (IC 95% 91.33- 95.86) a dicho título.

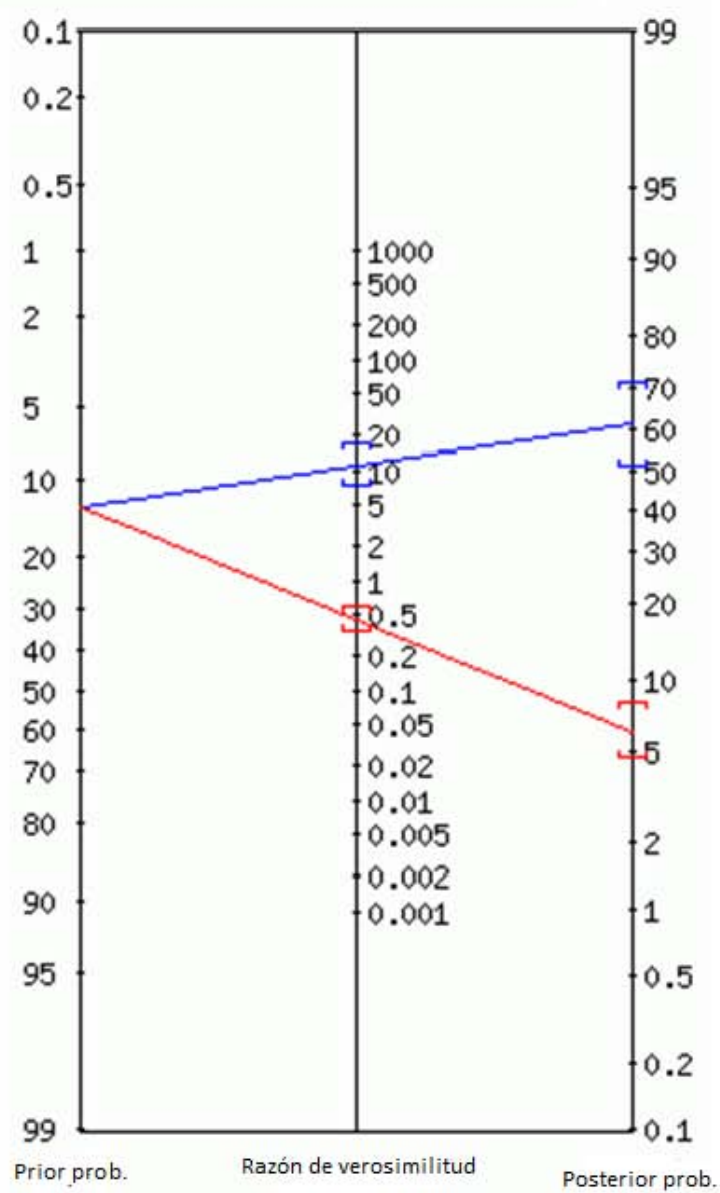
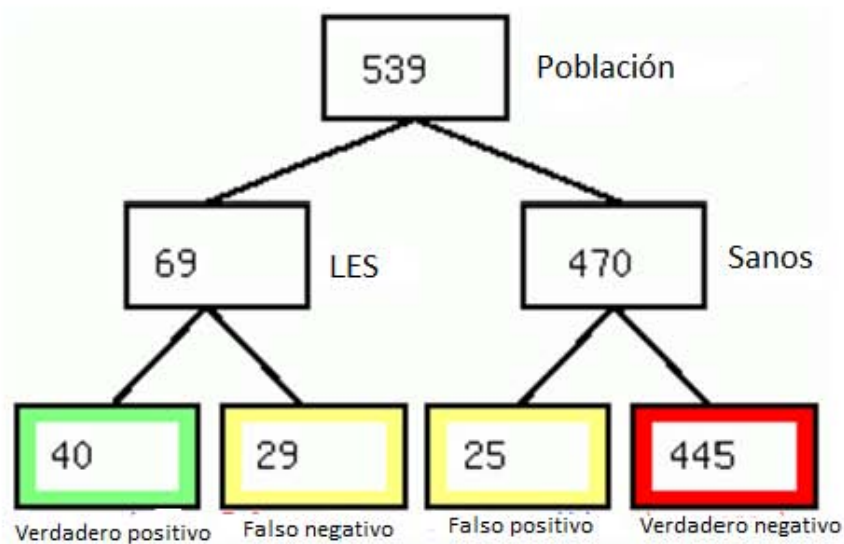
Tabla 2. Tabla de doble entrada para el cálculo de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo

Resultado de la Prueba	Diagnóstico de Lupus		Total
	si	no	
Prueba Positiva	40	25	65
Prueba Negativa	29	445	474
Total	69	470	539

*Punto de corte 1:320

Medida	Resultado	IC 95%
Prevalencia de LES	12.80	10.10-15.92%
Sensibilidad	57.97	45.48-69.76%
Especificidad	94.68	92.25-96.53%
RVP (razón de verosimilitud positiva)	10.90	7.08-16.77
RVN (Razón de verosimilitud negativa)	0.44	0.34-0.59
Valor predictivo positivo (VPP)	61.54	48.64-73.35
Valor predictivo negativo (VPN)	93.88	91.33-95.86

No se encontró diferencias en los puntos de corte en ambos géneros. En el sexo masculino el título de 1:320 proporciona una sensibilidad del 44% y especificidad del 91%, para el sexo femenino esta misma titulación proporciona sensibilidad del 46% y especificidad del 96% ($p > 0.05$).



DISCUSIÓN

En nuestro estudio encontramos una prevalencia para lupus eritematosos sistémico juvenil de 12.88%, de manera similar a lo reportado en la literatura que incluso puede representar el 20%. De igual manera se encontró el principal patrón de tinción es el homogéneo, patrón que corresponde a lo reportado en la literatura para LES. Sin embargo el punto de corte que representa la mayor sensibilidad y especificidad para la población pediátrica de nuestro hospital es de 1:320 con el mismo patrón de tinción, situación que difiere a lo reportado por Rosas I y colaboradores en el 2005²⁵. No encontramos diferencias para el punto de corte en ambos sexos, por lo que no creemos que el título se vea afectado por otras situaciones como el estrés o la influencia hormonal.

Encontramos la mayor proporción de pacientes con LESJ en el grupo de edad mayor a 15 años, datos que no difieren a lo reportado, donde el grupo de mayor vulnerabilidad son adolescentes o adultos jóvenes.

CONCLUSIONES

El patrón de tinción homogéneo a título de 1:320 es el que mejor representa a la población pediátrica con lupus eritematoso sistémico juvenil del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI. Y en el cual a partir de este valor o títulos superiores debe hacer sospechar al clínico la existencia de enfermedad autoinmune.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

2016	MZO	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEPT	OCT	NOV	DIC
ELABORACIÓN Y AUTORIZACIÓN DEL PROYECTO	X	x	x	X						
REALIZACIÓN DEL ESTUDIO					x					
RECOLECCIÓN DE DATOS					x					
PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE RESULTADOS					x	x	X			
ELABORACIÓN DEL INFORME FINAL								x		
PRESENTACIÓN DE LOS RESULTADOS										x
ENVÍO DEL MANUSCRITO A PUBLICACIÓN										x

ANEXO I: Criterios de Clasificación del ACR 1997 para LES.

CRITERIO	DEFINICIÓN
Rash malar	Eritema fijo, plano o elevado, sobre las prominencias malares, sin afectación de los pliegues nasolabiales.
Rash discoide	Placas eritematosas elevadas con descamación queratósica adherente; en lesiones antiguas, puede ocurrir cicatrización atrófica.
Fotosensibilidad	Erupción cutánea como resultado de una reacción inusual a los rayos solares, por historia u observación del médico.
Úlceras orales	Ulceración oral o nasofaríngea, usualmente indolora, observada por el médico.
Artritis	No erosiva, que afecta a 2 articulaciones periféricas o más, caracterizado por dolor, tumefacción o derrame.
Serositis	<ul style="list-style-type: none"> a) Pleuritis: Historia de dolor pleurítico, roce auscultado por el médico o evidencia de derrame pleural. b) Pericarditis: Documentada por electrocardiograma, roce o evidencia de derrame pericárdico.
Alteraciones renales	<ul style="list-style-type: none"> a) Proteinuria de más de 0.5 g/24 horas o 3 cruces, persistente. b) Cilindros celulares: Glóbulos rojos, hemoglobina, granulares, tubulares, mixtos.
Afectación neurológica	<ul style="list-style-type: none"> a) Convulsiones: en ausencia de medicamentos o alteraciones metabólicas b) Psicosis: en ausencia de medicamentos o alteraciones metabólicas
Alteración hematológica	<ul style="list-style-type: none"> a) Anemia hemolítica b) Leucopenia inferior a 4 000/ml en 2 o más ocasiones c) Linfopenia inferior a 1 500/ml en 2 o más ocasiones d) Trombocitopenia inferior a 100 000/ ml en ausencia de fármacos expeditivos.
Alteración inmunológica	<ul style="list-style-type: none"> a) Anticuerpos anti-DNA elevado b) Anticuerpos anti-Sm positivo c) Anticuerpos antifosfolípidos positivos basado en: <ul style="list-style-type: none"> - Anticardiolipina IgG/IgM - Anticoagulante lúpico - Prueba serológica de sífilis falsamente positiva, presente como mínimo durante 6 meses.
Anticuerpos antinucleares	Anticuerpos antinucleares positivos por inmunofluorescencia o ensayo equivalente en ausencia de fármacos inductores.

Fuente: Hochberg MC, for the Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American College of Rheumatology. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997;40:1725.

ANEXO II: Hoja de recolección de datos

NOMBRE: _____ CÓDIGO: _____
 NSS: _____

DATOS CLÍNICOS	
Rash malar	
Rash discoide	
Fotosensibilidad	
Úlceras orales	
Artritis	
Serositis	c) Pleuritis: d) Pericarditis:
Alteraciones renales	c) Proteinuria: d) Cilindros celulares:
Afectación neurológica	c) Convulsiones: d) Psicosis:
Alteración hematológica	e) Anemia hemolítica: f) Leucopenia: g) Linfopenia: h) Trombocitopenia:
Alteración inmunológica	d) Anticuerpos anti-DNA elevado e) Anticuerpos anti-Sm positivo f) Anticuerpos antifosfolípidos. - Anticardiolipina IgG/IgM: - Anticoagulante lúpico: - VDRL:
Anticuerpos antinucleares	Título: Patrón de tinción:

LES: _____

NO LES: _____

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ¹ Veiga CS, Coutinho DS, Nakaie CMA, et al. Subclinical pulmonary abnormalities in childhood-onset systemic lupus erythematosus patients. *Lupus*. 2016;25:645-651.
- ² KonePaut, I, Piram M, Guillaume S, Tran TA. Lupus in adolescence. *Lupus*. 2007;16:606-612.
- ³ Bader-Meunier B, Armengaud JB, Haddad E, et. al. Initial presentation of childhood-onset systemic lupus erythematosus: a French multicenter study. *J Pediatr*. 2005;146:648-653.
- ⁴ Hargraves MM, Richmond H, Morton R. Presentation of two bone marrow elements; “tart” cell and L.E cell. *Proc Mayo Clin*. 1948;23:25–28
- ⁵ Holman H, Deicher HR. The reaction of the lupus erythematosus (L.E.) cell factor with deoxyribonucleoprotein of the cell nucleus. *J Clin Invest*. 1959;38:2059–2072.
- ⁶ Solomon DH, Kavavaugh AJ, Schur PH. American College of Rheumatology ad hoc Committee on immunologic testing guidelines. Evidence-based guidelines for the use of immunologic test: antinuclear antibody testing. *Arthritis Rheum*. 2002;47:434-444.
- ⁷ Coons AH, Kaplan MH. Localization of antigen in tissue cells II: Improvements in a method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody. *J Exp Med*. 1950;91:1–13.
- ⁸ Tan EM, Kunkel HG. Characteristics of a soluble nuclear antigen precipitating with sera of patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol*. 1966;96:464–471.
- ⁹ Tan EM. Autoantibodies to nuclear antigens (ANA): Their Immunobiology and Medicine, in: advances in immunology. Pub Academic Press Inc. 1982;33:167–240.
- ¹⁰ Petri M, Ana-Maria Orbai, Alarcon GS, et al. Derivation and validation of the systemic lupus international Collaborating Clinics Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheumatism*. 2012;64:2677-2686.
- ¹¹ Tan EM. Autoantibodies to nuclear antigens (ANA): Their Immunobiology and Medicine, in:

advances in immunology. Pub Academic Press Inc. 1982;33:167–240.

¹² Conrad K, Schöbler W, Hiepe F, Fritzler M. Autoantibodies in systemic autoimmune disease. A diagnostic Reference. Autoantigens, autoantibodies, autoimmunity. Edi. PABST. 2002;2:21.

¹³ Tan EM, Feltkamp TEW, Smolen JS, Butcher B, Dawkins R, Fritzler MJ, et al. Range of antinuclear antibodies in “healthy” individuals. Arthritis Rheu. 1997;40:1601–1611.

¹⁴ Conrad K, Schöbler W, Hiepe F, Fritzler M. Autoantibodies in systemic autoimmune disease. A diagnostic Reference. Autoantigens, autoantibodies, autoimmunity. Edi. PABST. 2002;2:21.

¹⁵ Shoenfeld Y, Gershwin ME, Meroni PL. Autoantibodies. Elsevier. 2007;2:3–6.

¹⁶ Equipo para la prueba de anticuerpos antinucleares. Substrato de células HEp-2 estabilizadas con figuras en mitosis. Antibodies incorporated. Inmuno-mex, SA de CV.

¹⁷ Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, et. al. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. Arch Pathol Lab Med. 2000;124:71-81.

¹⁸ Agmon-Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. Ann Rheum Dis 2014;73:17–23.

¹⁹ Chan EKL, Damoiseaux J, Carballo OG, et al. Report of the first international consensus on standardized nomenclature of antinuclear antibody HEp-2 cell patterns 2014-2015. Front Immunol. 2015;6:412. doi:10.3389/fimmu.2015.00412.

²⁰ Mahler M, Fritzler MJ. Antinuclear antibodies in children. J Rheumatol. 2014;41:1260-1262.

²¹ Cabral DA, Petty RE, Fung MBLT, Malleson PN. Persistent antinuclear antibodies in children without identifiable inflammatory rheumatic of autoimmune disease. Pediatrics. 1992;89:441-444.

²² Malleson PN, Sailer M, Mackinnon MJ. Usefulness of antinuclear antibody testing to screen

for rheumatic diseases. *Arch Dis Child*. 1997;77:299-304.

²³ McGhee JL, Kickingbird LM, Jarvis JN. Clinical utility of antinuclear antibody test in children. *BMC Pediatrics*. 2004;4:13. doi:10.1186/1471-2431-4-13.

²⁴ Frodlund M, Dahiströn Ö, Kastbom A, et al. Associations between antinuclear antibody staining patterns and clinical features of systemic lupus erythematosus: analysis of a regional Swedish register. *BMJ Open*. 2013;3:e0033608.

²⁵ Rosas I, Gómez EI, Núñez Álvarez CA, Huerta MT, Alvarado A, Cabiedes J. Prevalencia de anticuerpos antinucleares (ANA) en donadores sanos del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán. *Rev. Mex Reumatol*. 2005;20:72.

²⁶ Marin GG1, Cardiel MH, Cornejo H, Viveros ME. Prevalence of antinuclear antibodies in 3 groups of healthy individuals: blood donors, hospital personnel, and relatives of patients with autoimmune diseases. *J Clin Rheumatol*. 2009;15:325-329.

²⁷ Hochberg MC, for the Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee of the American College of Rheumatology. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1997;40:1725.

²⁸ Ley General de Salud, Cámara de Diputados del H. Congreso de la Unión. Secretaría General, Secretaria de servicios parlamentarios. DOF 24-04-2013.