

Frecuencia de patrones de anticuerpos antinucleares, en pacientes con sospecha de enfermedades sistémicas reumáticas autoinmunes

Frequency of antinuclear antibodies patterns in patients with suspected of systemic autoimmune rheumatic diseases

Frequência de Padrões de anticorpo antinucleares em pacientes com suspeita de doenças sistêmicas reumáticas autoimunes

Fréquence des profils d'anticorps antinucléaires dans les cas de suspicion de maladies rhumatismales auto-immunes systémiques

Tannya Verónica Vázquez Castillo¹ , Raúl Antonio Solís Martínez² 

DOI: 10.19136/hs.a19n3.3598

Artículo Original

Fecha de recibido: 2 de marzo de 2020

Fecha de aceptado: 1 de agosto de 2020

Autor de Correspondencia:

Tannya Verónica Vázquez Castillo. Dirección postal: Av. Méndez 707-305,
Col. Centro, CP 86000. Villahermosa, Tabasco, México
Correo electrónico: tannya_vazquez@gmail.com

Resumen

Objetivo: El objetivo de este trabajo es describir la frecuencia de los patrones de tinción de Anticuerpos antinucleares (ANA), en pacientes con sospecha de enfermedades autoinmunes, en el sureste mexicano.

Materiales y métodos: Se emplearon células Hep-2 y anticuerpo anti-IgG acoplado a FITC (Euroimmun™) para el análisis de las muestras a través de inmunofluorescencia indirecta.

Resultados: Del total de los pacientes, 89 fueron mujeres (87.2%) y 13 hombres (12.7%), en edades de 2 a 88 años. Se observó que 85 muestras (70.6 %) correspondieron al patrón nuclear, 10 (9.8 %) al patrón citoplasmático y 7 (6.8 %) al patrón mitótico. De los patrones nucleares, 37 (36.8%), 17 (16.7%) y 12 (11.8%) correspondieron a patrones homogéneo, granular fino y granular grueso respectivamente.

Conclusiones: En este trabajo se observó, que la mayor frecuencia de anticuerpos antinucleares se encontró en pacientes en edad productiva. Los patrones más observados fueron el homogéneo, granular fino y granular grueso. El patrón homogéneo se asocia a LES cuando se presenta en títulos altos.

Palabras Clave: Anticuerpos antinucleares; inmunofluorescencia indirecta; enfermedades autoinmunes.

¹ Maestra en Ciencias, QFB. Laboratorios Diagnóstica, biología molecular. Villahermosa, Tabasco, México,

² Doctor en Ciencias, QFB. Laboratorios Diagnóstica, director general. Villahermosa, Tabasco, México,

Abstract

Objective: The objective of this work was to describe the frequency of antinuclear antibody (ANA) staining patterns in patients with suspected autoimmune diseases in southeastern Mexico.

Materials and methods: Hep2 cells and Anti-Human IgG coupled to FITC (EuroimmunTM) were used for analyzing samples through indirect immunofluorescence.

Results: 87.2 % per cent (89) of the total number of patients were women and 12.7 % were men (13) aged from 2 to 88 years. It was observed that 85 samples (70.6%) corresponded to the nucleolar pattern, 10 (9.8%) to the cytoplasmic pattern and 7 (6.8%) to the mitotic pattern. Of the nuclear patterns, 37 (36.8%), 17 (16.7%) and 12 samples (11.8%) corresponded to homogeneous, nuclear fine speckled and nuclear coarse speckled patterns respectively.

Conclusions: In this work, it was observed that the highest frequency of antinuclear antibodies was found in patients of productive age. The most observed patterns were the homogeneous, nuclear fine speckled and nuclear coarse speckled. The homogeneous pattern is associated with SLE when presented in high titers.

Keywords: Antinuclear antibodies; indirect immunofluorescence; autoimmune disease.

Resumo

Objetivo: O objetivo deste trabalho é descrever a frequência dos padrões de coloração de anticorpos antinucleares (ANA) em pacientes com suspeita de doenças autoimunes no sudeste mexicano.

Materiais e métodos: células Hep-2 e anticorpo anti-IgG acoplado a FITC (EuroimmunTM) foram utilizados para a análise das amostras por imunofluorescência indireta.

Resultados: Do total de pacientes, 89 eram mulheres (87,2%) e 13 homens (12,7%), com idade entre 2 e 88 anos. Observou-se que 85 amostras (70,6%) corresponderam ao padrão nuclear, 10 (9,8%) ao padrão citoplasmático e 7 (6,8%) ao padrão mitótico. Dos padrões nucleares, 37 (36,8%), 17 (16,7%) e 12 (11,8%) corresponderam aos padrões homogêneo, granular fino e granular grosso, respectivamente.

Conclusões: Neste trabalho observou-se que a maior frequência de anticorpos antinucleares foi encontrada em pacientes em idade produtiva. Os padrões mais observados foram homogêneo, granular fino e granular grosso. O padrão homogêneo está associado ao LES quando ocorre em altos títulos.

Palavras-chave: Anticorpos antinucleares; imunofluorescência indireta; doenças autoimunes.

Résumé

Objectif : L'objectif de ce travail est de décrire la fréquence des profils de coloration des Anticorps Antinucléaires (ANA), dans les cas de suspicion de maladies auto-immunes, dans le sud-est du Mexique.

Matériels et méthodes : Des cellules Hep-2 et un anticorps anti-IgG couplé au FITC (EuroimmunTM) ont été utilisés pour l'analyse des échantillons par immunofluorescence indirecte.

Résultats : Sur le total des patients, 89 étaient des femmes (87,2 %) et 13 des hommes (12,7 %), tous âgés de 2 à 88 ans. Il a été observé que 85 échantillons (70,6 %) correspondaient au patron nucléaire, 10 (9,8 %) au patron cytoplasmique et 7 (6,8 %) au patron mitotique. Parmi les patrons nucléaires, 37 (36,8%), 17 (16,7%) et 12 (11,8%) avaient respectivement un aspect homogène, moucheté à grains fins et moucheté à gros grains.

Conclusions : Dans travail, il a été observé que la fréquence la plus élevée d'anticorps antinucléaires a été trouvée chez les patients en âge productif. Les aspects les plus observés ont été de type homogène, moucheté à grains fins et moucheté à gros grains. L'aspect homogène est associé à l'ELS lorsqu'il est présenté en titres élevés.

Mots clés : Anticorps antinucléaires ; immunofluorescence indirecte ; maladies auto-immunes

Introducción

Las enfermedades autoinmunes o bien Enfermedades sistémicas reumáticas autoinmunes SARD por sus siglas en inglés (Systemic Autoimmun Rheumatic Diseases), son el resultado de una falla en la regulación del sistema inmune, se caracterizan por la presencia de autoanticuerpos, es decir inmunoglobulinas con especificidad para componentes antigénicos presentes en los tejidos propios, como los denominados anticuerpos antinucleares (*Antinuclear Antibody*, ANA)^{1,2}. Los ANA son marcadores serológicos de autoinmunidad, su identificación y clasificación mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) en líneas celulares humanas, se considera la prueba inicial de laboratorio que apoya al diagnóstico de las enfermedades autoinmunes debido a su alta sensibilidad^{1,3}. A través de esta técnica se detectan un amplio rango de anticuerpos que reaccionan con antígenos presentes en el núcleo, citoplasma y aparato mitótico celular, permitiendo la identificación de diversos patrones morfológicos de fluorescencia⁴, así como la evaluación de la intensidad, determinación de título o avidéz de los anticuerpos. Algunos autores están en desacuerdo que la prueba se denomine ANA, pues como se mencionó anteriormente también identifican otras estructuras celulares además del núcleo, el ICAP (Por sus siglas en inglés "International Consensus on ANA Patterns", Consenso Internacional de Patrones de ANA) propone un nombre que evite esta controversia, Anticuerpos Anti-Celulares "AC" (*Anti-cel Antibody*), además, clasificaron los patrones en tres grupos (nucleares, citoplasmáticos y asociados al aparato mitótico)². Sin embargo, el término ANA, sigue siendo empleado por la comunidad médica para referirse a este estudio. Para realizarlo se emplea una línea celular proveniente de células epiteliales de carcinoma de laringe (Hep-2, *Human Epithelial*), presentan características que las hacen útiles para este fin. Expresan antígenos humanos, cuya concentración es alta en comparación con otras líneas celulares, posee grandes núcleos y abundantes organelos en el citoplasma, presenta además células en interfase y células en división, lo cual resulta importante pues algunos antígenos solo se expresan en ciertas fases del ciclo celular^{5,6}.

Los patrones observados, se asocian a anticuerpos contra antígenos específicos y estos a su vez son relevantes en algunas patologías clínicas^{2,3}. Un ejemplo, la cromatina nuclear constituida por ADN asociado a histonas y ribonucleoproteínas, es uno de los principales blancos en la respuesta inmune, en las enfermedades autoinmunes como LEG (Lupus eritematoso generalizado) y se asocia con un ANA positivo con patrón homogéneo. Otras proteínas nucleares inmunogénicas son Smith, SSA/Ro, SSB/La, Scl-70 entre otras, estas se relacionan a patrones de ANA granulares, que se asocian a SS (Síndrome de Sjögren) o LEG. El patrón centromérico, sugiere reactividad contra

las proteínas del centrómero como CENP-A, CENP-B y CENP-C, se asocia con esclerodermia y el síndrome de CREST (calcinosis, fenómeno de Raynaud, dismovilidad esofágica, esclerodactilia y telangiectasias)^{1,7,8}. Sin embargo un resultado de ANA positivo, no es indicativo de una enfermedad en particular, se debe interpretar en función de su presentación, tomando en cuenta parámetros clínicos, histológicos y radiológicos⁹. En el laboratorio la interpretación del resultado, debe darse en función de la aplicación de guías y algoritmos previamente validados. Además es necesario tomar en cuenta el patrón de ANA observado, el punto de corte para cada patrón y el punto de corte para cada grupo étnico^{3,10}. Los patrones obtenidos en ANA positivos constituyen una guía, de tal manera que, la identificación de anticuerpos específicos contra las proteínas asociadas al patrón, por otros métodos complementarios como Western y ELISA, permite la confirmación de estos marcadores, su confirmación tiene utilidad en el diagnóstico, monitoreo y pronóstico de SARD^{2,11}.

Todas las personas podemos presentar ANA positivo sin que este sea reflejo de una enfermedad, se ha observado la presencia de ANA en personas sanas en títulos de 1:160 en el 5 % de la población, mientras que en títulos de 1:320 se presenta en el 3 % de la población sana^{1,12}. Estos anticuerpos pueden ser de naturaleza infecciosa o natural, en ambos casos ninguno se asocia a manifestaciones clínicas de autoinmunidad². Según *James K et al.* La frecuencia de ANA positivo en la población incrementa en función de la edad. Los ANA tienen una alta prevalencia, a títulos relativamente bajos, en población mexicana sana^{3,13,14}. El objetivo de este trabajo es analizar los patrones de fluorescencia de ANA y sus títulos correspondientes en muestras de pacientes con sospecha de enfermedad autoinmune.

Materiales y métodos

En este estudio observacional retrospectivo de corte transversal, fueron analizados 102 personas de ambos sexos, en edades de entre 2 a 88 años, que acudieron a laboratorios diagnóstica de septiembre del 2014 al septiembre del 2018, solicitando la realización de Ac. Antinucleares, todos ellos con sospecha de enfermedad autoinmune. Se tomaron muestras de suero de cada individuo. En todo momento de este estudio se mantuvo la confidencialidad del paciente.

La determinación de los anticuerpos antinucleares se realizó a través de la técnica de inmunofluorescencia indirecta, empleando células Hep-2 fijadas en láminas y anticuerpo anti IgG acoplado a FITC (EuroimmunTM). Los sueros fueron diluidos en PBS-Tween en diluciones 1:100, 1:1000 y 1:10000, incubados en láminas con monocapas de células Hep-2/Tejido de hígado de mono y posteriormente reveladas con conjugado anti-IgG FITC. Se emplearon controles

positivos y negativos en cada determinación. Los anticuerpos antinucleares, fueron evidenciados por la presencia de un patrón de fluorescencia en el núcleo o citoplasma de las células Hep-2, a través de microscopio de fluorescencia modelo Eurostar de radiación laser con diodo clase 2M. Se empleó el programa Europicture para capturar las imágenes.

Análisis de datos: Los datos fueron analizados en Excel 2013

Resultados

Se observó que de los 102 individuos estudiados, 89 fueron mujeres (87.2%) y 13 hombres (12.8%) en edades de 2 a 88 años. La media de edad en mujeres fue de 36 años y la media de hombres fue de 28 años. El punto de corte para la prueba se estableció en 1:100 de acuerdo a las indicaciones del fabricante.

Se observó que el 68.6 % (71) del total los pacientes se encontraban en edades entre los 22 y 61 años (Figura 1 y Figura 4), 85 muestras (83.3 %) correspondieron al patrón nuclear, 10 (9.8 %) al patrón citoplasmático y 7 (6.8 %) al patrón mitótico. De los patrones nucleares, 37 (36.3%), 17 (16.7%), 12 (11.8%), 7 (6.86 %), 7 (6.86 %), 4 (3.92 %) y 1 (0.98 %) correspondieron a patrones homogéneo, granular fino, granular grueso, centromérico, nucleolar, puntos nucleares y periférico, respectivamente. De los citoplasmáticos 6 (5.88%), 3 (2.94%) y 1 (0.98%) correspondieron a los patrones citoplasma granular, citoplasma homogéneo y Jo-1. De los patrones mitóticos 4 (3.92%) y 3 (2.94%) correspondieron al centriolar y huso acromático (Figura 2).

El patrón observado con más frecuencia en hombres y mujeres fue el homogéneo, el cual se observó en un porcentaje de 35.9 y 38.46 respectivamente. (Figura 3 y Figura 4). Las edades comprendidas entre 22 a 61 años, fue en donde la frecuencia de ANA positivo fue mayor, en mujeres 64 (63%) y entre 2 a 21 años en hombres 6 (6%).

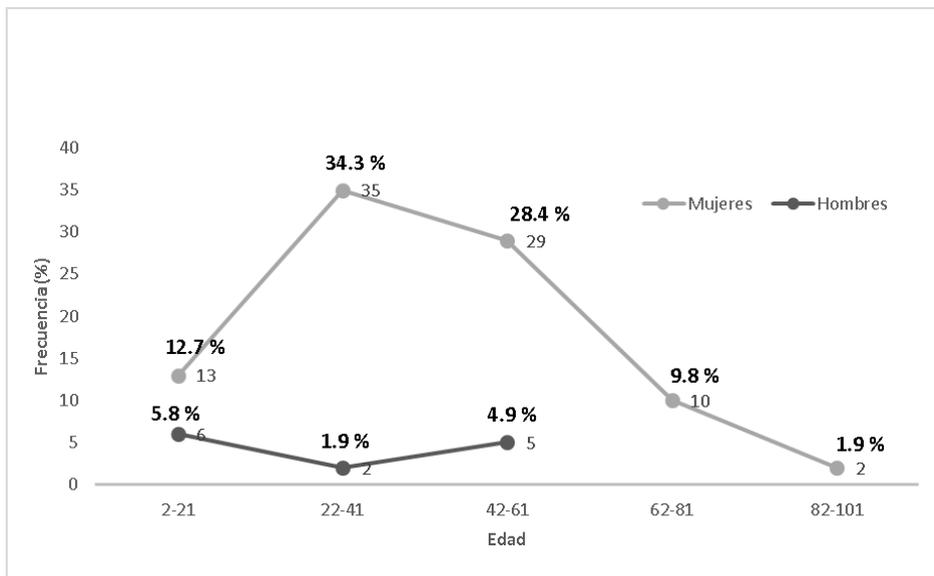
Discusión

Numerosos estudios han demostrado que los ANA o anticuerpos anti-celulares, representan un importante indicador en el diagnóstico y tamizaje de SARD, debido a que detectan un amplio rango de anticuerpos que reaccionan contra el núcleo, citoplasma o aparato mitótico celular¹¹. En los resultados la distribución observada respecto al sexo ha sido reportada ampliamente en la literatura, donde la razón mujer: hombre es aproximadamente 5:1^{15,18}. En este estudio se observó que el 36.2 % de los pacientes se encontraban en edades de 22 a 41 años. Siendo de 22 a 61 años la edad más frecuente en mujeres y de 2 a 21 años en varones. Aunque algunos estudios sugieren que el envejecimiento está asociado a la inmunosenescencia y que la prevalencia

de ANA es mayor en los ancianos^{16, 17}, esta tendencia no fue encontrada en estos estudios. Algunos autores consideran, que antes de los 50 años las mujeres pueden presentar una mayor sensibilización inmunológica a edades fértiles activando la proliferación de linfocitos B tolerantes autorreactivos¹⁸, lo cual concuerda con lo observado en este trabajo. Es interesante que en este estudio la edad de mayor prevalencia en varones comprenda la adolescencia, aunque hay que considerar el limitado número de individuos del sexo masculino.

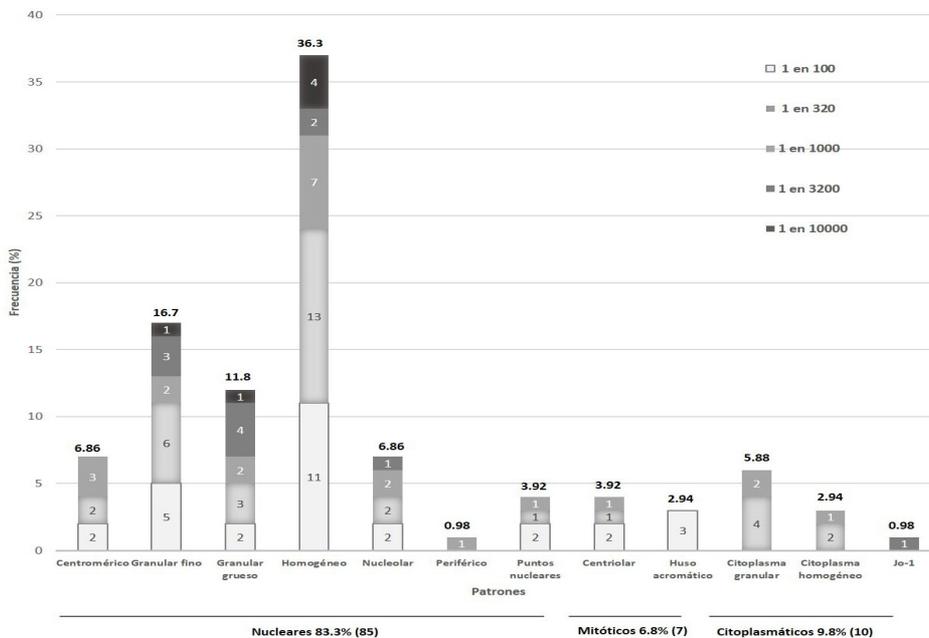
Los títulos de los ANA tienen gran importancia, títulos altos son altamente sugestivos de la enfermedad autoinmune relevante al patrón observado¹⁹. Títulos bajos pueden ser observados en individuos sanos, familiares de pacientes con enfermedades autoinmunes, adultos mayores y personal de salud²⁰. Este es un punto importante a considerar, para evitar diagnosticar con SARD a pacientes con ANA positivo a títulos bajos, sin tomar en cuenta análisis complementarios para confirmar el diagnóstico. La prueba de ANA es requerida por especialistas de múltiples disciplinas médicas, por lo cual su correcta interpretación es de vital importancia, para evitar tratamientos tóxicos innecesarios². El título empleado en este estudio (1:100) fue con base a las indicaciones del fabricante, aunque hay que mencionar que el título 1:80 es el recomendado por el ICAP 2015 (Consenso internacional de patrones de ANA)²¹. Considerando que en la población general del 10 al 20 % de las personas sanas presentan este título, en nuestro estudio el 28.4 % (29) de los pacientes presentaron el título 1:100 y el 71 % (73) presentaron títulos mayores o iguales a 1:320. En un estudio realizado en México, en personas sanas se observó que el 13.4% y 3.2 % de la población estudiada presentaba un título de 1:80 y 1:160 respectivamente. Los patrones: homogéneo, granular fino y granular grueso fueron los de mayor prevalencia. El patrón más común observado en título a 1:100 es el homogéneo, estudios recientes consideran que el patrón más común en individuos sanos, es patrón moteado denso fino (AC-2), fácilmente confundido como homogéneo ó moteado, presenta asociación negativa con SARD, lo que indica que no se asocia a enfermedad, siempre y cuando se logre identificar la presencia del marcador DFS70². En otro estudio realizado en México en población sana, el patrón más frecuentemente observado fue el granular²⁰. Los patrones más frecuentes observados en este estudio coinciden con lo mencionado en otros países, en Perú el patrón más común fue el moteado fino.²² En Paraguay fue el patrón periférico, seguido de homogéneo¹⁴, y en Colombia los patrones más comunes fueron el homogéneo y el moteado²³. Hubiese sido de gran valor contar con datos de las entidades clínicas de los pacientes analizados, sin embargo, carecemos de ellos. Algunas publicaciones reportan que el patrón homogéneo se relaciona con LEG, AR (artritis reumatoide) y CBP (cirrosis biliar primaria); el Granular fino con SS, LEG y

Figura 1. Grupos de edad y frecuencia de la población analizada. [TNF]



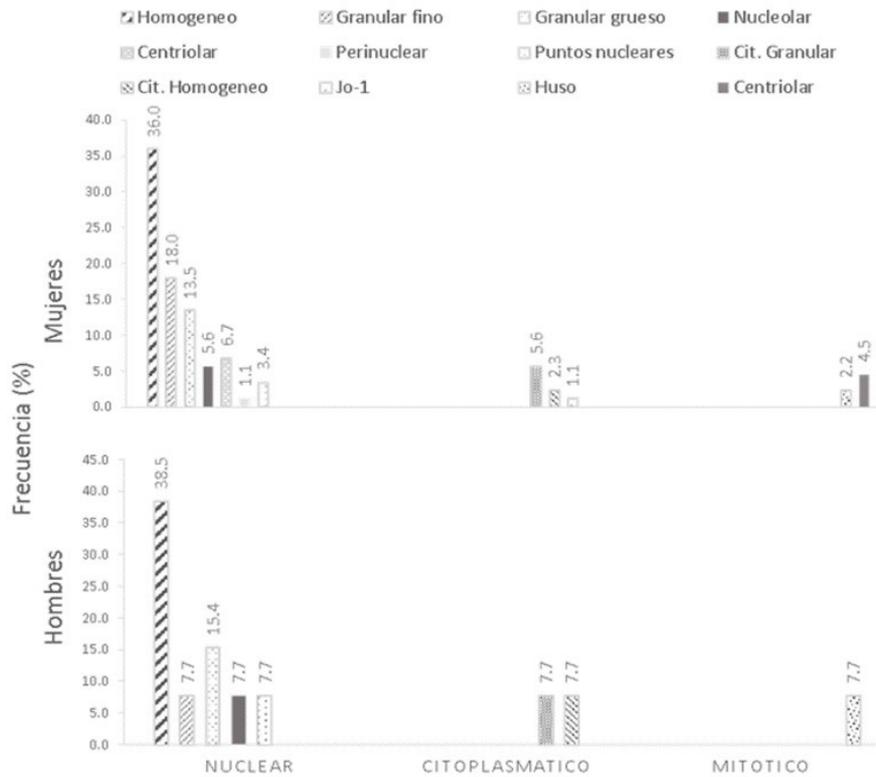
Fuente: Elaboración propia**

Figura 2. Frecuencia de los patrones de anticuerpos antinucleares, observados en la población analizada y títulos. [TNF] Corrección de gráfica (83.3% patrón nuclear).



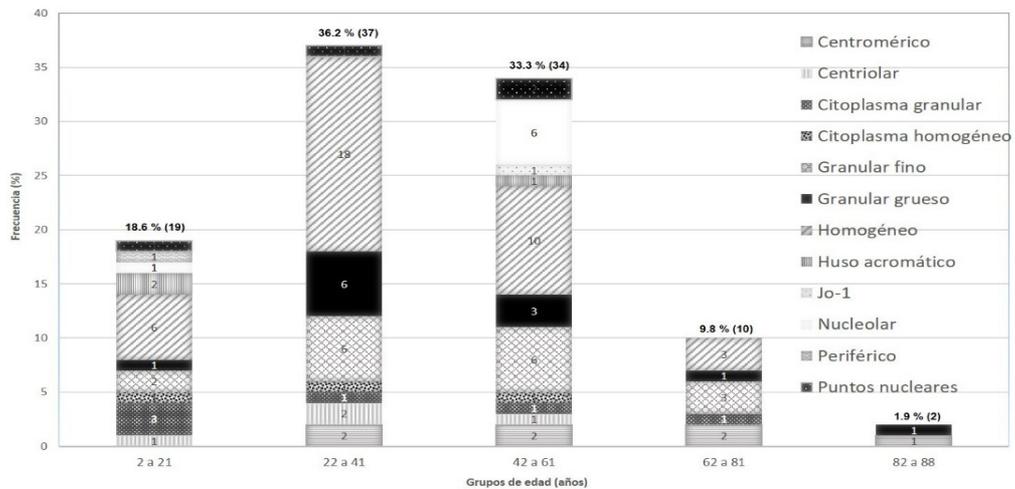
Fuente: Elaboración propia**

Figura 3. Clasificación de los patrones de ANA, observados con respecto al sexo. [TNF]



Fuente: Elaboración propia**

Figura 4. Relación entre frecuencia de patrones y grupos de edad. [TNF]



Fuente: Elaboración propia**

LC (lupus cutáneo); y el patrón granular grueso con LEG y EMTC (enfermedad mixta del tejido conectivo)^{3,15}. A pesar de la marcada relevancia o asociación de un patrón con determinada entidad clínica, por sí mismo no valida el resultado de un ANA, si no se confirma la especificidad antigénica de los anticuerpos a través de pruebas específicas.

Conclusiones

La prueba de anticuerpos antinucleares o más recientemente denominada anticuerpos anti-celulares, constituye una directriz para el diagnóstico de enfermedades autoinmunes, los patrones observados permiten sospechar de anticuerpos específicos que poseen asociación con determinadas enfermedades, la determinación de la intensidad de la fluorescencia permite establecer un título. De tal manera que un ANA positivo con título alto acompañado de signos y síntomas clínicos, tiene una gran utilidad diagnóstica cuando es interpretado por un médico especializado, en el contexto de otras pruebas radiológicas y clínicas complementarias, que permitan confirmar o descartar enfermedades sistémicas reumáticas autoinmunes.

Agradecimientos

Se agradece a Laboratorios Diagnóstica por su apoyo en la realización de este estudio.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no haber conflicto de intereses respecto a la autoría y/o publicación de este artículo.

Referencias

1. Javier-Zepeda CA. Anticuerpos antinucleares, una familia diversa. *Rev Med Hond* 2002, 70:189-193. Disponible en: <http://www.bvs.hn/RMH/pdf/2002/pdf/Vol70-4-2002-8.pdf>
2. Damoiseaux J, Andrade LEC, Carballo OG, Conrad K, Francescantonio PLC, et al., Clinical relevance of HEp-2 indirect immunofluorescent patterns: the International Consensus on ANA patterns (ICAP) perspective. *Ann Rheum Dis*. 2019;78:879-889. Disponible en: <https://ard.bmj.com/content/78/7/879>
3. Cabiedes J, Nuñez-Álvarez C. Anticuerpos antinucleares. *Reumatol clin* 2010; 6(4): 224-230. Disponible en: <https://www.reumatologiaclinica.org/es-anticuerpos-antinucleares-articulo-resumen-S1699258X09002435>
4. Brito Fde A, Santos SM, Ferreira GA, et al. Detection of anti-nuclear antibodies by indirect immunofluorescence on HEp-2 cells: setting the appropriate screening dilution for the diagnosis of autoimmune rheumatic diseases. *Rev Bras Reumatol*. 2014;54(1):13-20. Disponible en: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0482-50042014000100013&script=sci_arttext&tlng=en
5. Neshet G, Margalit R, Ashkenazi YJ. Anti nuclear Envelope Antibodies: Clinical Associations. *Semin Arthritis Rheum*. 2001;30(5):313-20. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11303304>
6. Gniewek RA, Stites DP, McHugh TM, Hilton JF, Nakagawa M. Comparison of antinuclear antibody testing methods: immunofluorescence assay versus enzyme immunoassay. *Clin Diagn Lab Immunol*. 1997;4(2):185-188. Disponible en: <https://cvi.asm.org/content/cdli/4/2/185.full.pdf>
7. Fernández MT, Sánchez MC, Junco-Calzadilla R, González GG, Iglesias GI, Diagnostic Significance of antinuclear antibodies. *Rev Cub Reum* 2016;18(2):192-195. Disponible en: <http://scielo.sld.cu/pdf/rcur/v18s1/rcur04s16.pdf>
8. Tan EM, Feltkamp TEW, Smolen JS, Butcher B, Dawkins R, Fritzler MJ et al. Range of antinuclear antibodies in 'healthy' individuals. *Arthritis Rheum*. 1997; 40:1601-1. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9324014>
9. Kern P, Kron M, Hiesche K. Measurement of antinuclear antibodies: assessment of different test systems. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2000;7(1):72-78. Disponible en: <https://cvi.asm.org/content/cdli/7/1/72.full.pdf>
10. Tampoia M, Fontana A, Di Serio F, Maggiolini P, Pansini N. Application of a diagnostic algorithm in autoantibody testing: assessment of clinical effectiveness and economic efficiency. *Clin Chim Acta*. 2003;333(2):181-183. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12849902>
11. Banhuk FW, Pahim BC, Jorge AS, Menolli RA. Relationships among Antibodies against Extractable Nuclear Antigens, Antinuclear Antibodies, and Autoimmune Diseases in a Brazilian Public Hospital. *Autoimmune Dis*. 2018; 2018:1-8. Disponible en: <http://downloads.hindawi.com/journals/ad/2018/9856910.pdf>

12. Kavanaugh A, et al. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. *Arch Path Lab Med* 2000; 124: 71-81. Disponible en: <https://www.archivesofpathology.org/doi/pdf/10.1043/0003-9985%282000%29124%3C0071%3AGF%3E2.0.CO%3B2>
13. James K, Carpenter AB, Cook L, Marchand R, Nakamura RM. Development of the Antinuclear and Anticytoplasmic Antibody Consensus Panel by the Association of Medical Laboratory Immunologists. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2000;7(3):436-43. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC95891/>
14. 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.
15. Carpinelli, M. M., Giménez, V., Ferreira, L., Rovira, C., Picaguá, E., & Granados, E. Frecuencia de los patrones de anticuerpos anti-nucleares en pacientes con sospecha clínica de LES. *Mem. Inst. Investig. Cienc. Salud*. 2010;8(2), 27–33. Disponible en: <https://revistascientificas.una.py/index.php/RIIC/article/view/206>
16. Ramos-Casals M, García-Carrasco M, Brito MP, López-Soto A, Font J. Autoimmunity and geriatrics: clinical significance of autoimmune manifestations in the elderly. *Lupus*. 2003; 12 (5): 341-355. Disponible en: <http://scielo.iics.una.py/pdf/iics/v8n2/v8n2a05.pdf>
17. Santafé-Sarzosa L, Sáenz-Flor K, Cuero R, et al. Anticuerpos antinucleares en pacientes con sospecha clínica de enfermedad autoinmune. *Rev Mex Patol Clin Med Lab*. 2019;66(1):6-12. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2019/pt191b.pdf>
18. Fairweather, D., Frisancho kiss, S., & Rose, N. (2008). Sex Differences in Autoimmune Disease from a Pathological Perspective. *Am J Pathol* 2008;173(3):600-609. Disponible en: <https://doi.org/10.2353/ajpath.2008.071008>. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2527069/pdf/JPATH173000600.pdf>
19. Sontheimer RD, McCauliffe DP, Zappi E, Targoff I. Antinuclear antibodies: clinical correlations and biologic significance. *Adv Dermatol*. 1992;7:3-53. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1371222>
20. Marin GG, 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. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20009966>
21. Chan, E., Damoiseaux, J., Carballo, O., Conrad, K., Melo, W., Carvalho, P. Andrade, (2015). Report of the first international consensus on standardized nomenclature of antinuclear antibody HEp-2 cell patterns. *Front Immunol*. 2015; 6: 412. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4542633/>
22. La Rosa FB, Lozano VS. Prevalencia de anticuerpos antinucleares en personas aparentemente sanas. Lima-Perú. *Rev Latinoam Patol Clin Med Lab* 2017; 64 (1): 8-13. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/patol/pt-2017/pt171b.pdf>
23. Benitez LP, Rincón OL, Quinter JC, Aristizábal BH. Concordancia entre la determinación de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia e inmunoensayo lineal. *Medicina & Laboratorio* 2011;17(9-10):429-443. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/pdfs/medlab/myl-2011/myl119-10c.pdf>