

Optimización del algoritmo diagnóstico de anticuerpos antinucleares

Optimization of the diagnostic algorithm of antinuclear antibodies

Elena Kokuina^{1*}

Yunier Florian González¹

Delsy Marrero-Hernandez¹

Yahima Peña Cabrera¹

Miguel Estévez del Toro¹

¹ Hospital Clínico Quirúrgico “Hermanos Ameijeiras”. La Habana, Cuba.

* Autor para la correspondencia: inmunología@hha.sld.cu

RESUMEN

Introducción: La prueba de anticuerpos antinucleares es una poderosa herramienta en el diagnóstico de las enfermedades reumáticas. Los anticuerpos antinucleares se determinan en el laboratorio por un algoritmo o secuencia que se inicia con prueba de cribado y sigue con la identificación de las especificidades antinucleares más comunes. Pero, ¿cómo interpretar los resultados discordantes entre los dos niveles de estudio de anticuerpos antinucleares?

Objetivo: Determinar las especificidades antinucleares menos frecuentes en pacientes positivos de cribado de ANA y negativos de las especificidades más comunes.

Métodos: Estudio prospectivo de 88 pacientes consecutivos remitidos para la detección rutinaria de ANA con resultado positivo de cribado por ensayo inmuno-adsorbente ligado a

enzima (ELISA) pero negativo de anticuerpos anti-ADN de doble cadena (dc, IgG) y anti-antígenos nucleares extraíbles comunes (ENAc). Las muestras séricas correspondientes fueron evaluadas por inmunofluorescencia indirecta sobre células de carcinoma epidermoide laríngeo humano (IFI-HEp-2) y por ELISA para la detección individual de ANA específicos.

Resultados: La prueba de ANA por IFI/HEp-2 resultó positiva en 56/88 (63,6 %) y las especificidades antinucleares se detectaron en 57/88 (64,8 %) muestras, en el orden decreciente de Anti-Nucs: 16/88 (18,2 %); anti-centrómero (CENP-B): 15/88 (17,0 %); -histona: 15/88 (17 %); -PM/Scl: 13/88 (14,8 %); -ADNsc: 11/88 (12,5 %) y -ENAc individuales: 8/88 (9,1 %). La sensibilidad de la IFI-HEp-2 para las especificidades antinucleares fue de 0,83 (IC95%: 0,72-0,93). De los pacientes negativos de subserología (26/31), 83,9 % no tenían antecedentes de enfermedad reumática asociada a ANA.

Conclusiones: La mayoría de los pacientes con resultados discordantes entre el primer y segundo nivel de ANA fueron positivos de especificidades antinucleares menos comunes, pero de reconocido valor diagnóstico.

Palabras clave: Anticuerpos antinucleares; anti-histona; anti-ADN de simple cadena (anti-ADNsc); anti-nucleosoma; anti-PM/Scl; anti-centrómero (anti-CENP-B).

ABSTRACT

Introduction: The antinuclear antibody test is a powerful tool for diagnosing rheumatic diseases. Antinuclear antibodies are determined in the laboratory by an algorithm or sequence that starts with a screening test and continues with the identification of the most common antinuclear specificities. But how to interpret the discordant results between the two levels of study of antinuclear antibodies?

Objective: To determine the less frequent antinuclear specificities in positive patients of ANA screening and negative of the most common specificities.

Methods: A prospective study was done on 88 consecutive patients referred for the routine ANA screening with a positive result of screening by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) but negative for anti-double-stranded DNA (dc, IgG) and common extractable antinuclear antigens (ENAc). The corresponding serum samples were evaluated by indirect immunofluorescence on human laryngeal epidermoid carcinoma cells (IFI-HEp-2) and by ELISA for the individual detection of specific ANA.

Results: The ANA test by IFI / HEp-2 was positive in 56/88 (63.6 %) and the antinuclear specificities were detected in 57/88 (64.8 %) samples, in decreasing Anti-Nucs order: 16/88 (18.2 %); anti-centromere (CENP-B): 15/88 (17.0 %); -histona: 15/88 (17 %); -PM / Scl: 13/88 (14.8 %); -ADNsc: 11/88 (12.5 %) and -ENAc individual: 8/88 (9.1 %). The sensitivity of IFI-HEp-2 for antinuclear specificities was 0.83 (95 % CI: 0.72-0.93). No history of rheumatic disease associated with ANA was read in (26/31) 83.9 % patients with negative subserology.

Conclusions: The majority of patients with discordant results between the first and second level of ANA were positive of less common antinuclear specificities, but of recognized diagnostic value.

Keywords: Antinuclear antibodies; anti-histone; anti-DNA single chain (anti-ssDNA); anti-nucleosome; anti-PM / Scl; anti-centromere (anti-CENP-B).

Recibido: 27/09/18

Aprobado: 31/01/19

INTRODUCCIÓN

La prueba de anticuerpos antinucleares (ANA) es una de las determinaciones de auto-anticuerpos más solicitadas en los laboratorios clínicos, no solo por el valor diagnóstico de las enfermedades reumáticas, sino también por el valor pronóstico que permite subclasificarlas clínicamente. En consideración a ventajas económicas y organizativas en nuestro laboratorio se aplicó un algoritmo secuencial en el estudio de los ANA,^(1,2) el cual consiste en el primer nivel de cribado de ANA totales sobre una formulación de ensayo inmuno-adsorbente ligado a enzima (ELISA) con un surtido amplio de antígenos nucleares,

seguido por la detección de anticuerpos anti-antígenos nucleares extraíbles comunes (ENAc) y anti-ADN de doble cadena (dc) en las muestras positivas. Sin embargo, una proporción considerable de muestras positivas de cribado de ANA resulta negativa de la subserología anti-ENAc/-ADNdc, lo que dificulta la interpretación de los resultados.

Por tanto, el objetivo de esta investigación es determinar las especificidades antinucleares menos frecuentes en pacientes positivos de cribado de ANA y negativos de las especificidades más comunes.

MÉTODOS

Se realizó un análisis prospectivo de especificidades antinucleares en una muestra sérica de 88 pacientes adultos consecutivos referidos para la detección rutinaria de ANA en el Hospital Clínico Quirúrgico “Hermanos Ameijeiras” desde enero hasta octubre de 2016.

Los criterios de inclusión fueron la concurrencia de resultado positivo de cribado de ANA que detecta los anticuerpos anti-Ro-52, anti-Ro-60, -La, -RNP/Sm, -RNP-70, -RNP-A/C, -Sm, -Scl-70, -Jo-1, -ADNdc, -ADNsc, -nucleosomas, -histona H1-4, -Pm/Scl-100 y -centrómero B (ELISA, ANA Detect, Orgentec Diagnostika GmbH, Alemania) y resultados negativos de anti-ADNdc y anti-ENAc (anti- Ro- 60, -Ro-52, -La, -Sm, -RNP/Sm, -Scl 70 y -Jo-1) (ELISA, ENA *screen*, Orgentec Diagnostika GmbH, Alemania).

Las muestras de suero fueron analizadas por IFI-HEp-2 (Orgentec Diagnostika GmbH, Alemania) con dilución inicial de 1:160 y adición de anti-IgG humana fluoresceínada. Se cuantificaron las especificidades antinucleares individuales de isotipo IgG: anti-histona, -ADNsc, -nucs, -PM/Scl-100(100kDa), -CENP-B y -ENAc (anti-Ro-52, -Ro-60, -La, -Sm, -RNP70, -Scl70 y -Jo-1) (ELISA, Orgentec Diagnostika GmbH e IBL, Alemania).

Se interpretaron como valores positivos los superiores al valor de corte recomendado por el fabricante. Los datos demográficos y clínicos relativos a seis meses antes de la prueba se obtuvieron de la historia clínica y el interrogatorio. Se consideró como diagnóstico clínico preprueba el suscrito por el médico que indicó examen. Se consideró como enfermedad reumática asociada a ANA (ERANA) el lupus eritematoso sistémico (LES), la esclerosis

sistémica (ES), el síndrome de Sjögren, la miopatía inflamatoria idiopática y la enfermedad mixta del tejido conectivo.⁽³⁾ Se tuvo en cuenta como fármacos inductores de ANA todas las categorías de fármacos asociadas al lupus eritematoso inducido por fármacos (LIF).⁽⁴⁾ El estudio se realizó con el consentimiento informado escrito de todos los pacientes y se recibió la aprobación de la comisión científica de dicho hospital.

La estadística descriptiva se expresó como media y desviación estándar para las variables continuas y como frecuencia y porcentaje para las categóricas. La sensibilidad y especificidad se calcularon con tablas de contingencia de 2 X 2. Los resultados cualitativos se compararon mediante la prueba de X^2 . Se utilizó un nivel de significación de 0,05 y una confiabilidad del 95 %. Para el análisis estadístico se empleó el EPIDAT 3.1 y SPSS v 20.0 para Windows Xp.

RESULTADOS

Los 88 pacientes con resultado positivo de cribado de ANA y negativos de anti-ENAc/-ADNdc se movieron en un rango amplio de edad, fueron mayormente mujeres y pacientes ambulatorios (Tabla 1). La especialidad de reumatología fue la dominante en la indicación de la prueba (43/88, 48,9 %). Los patrones de IFI de las 56/88 muestras positivas de IFI-HEp-2 se distribuyeron entre el patrón granular (42/56, 75,0 %), nucleolar (16/56, 28,6 %), citoplasmático (14/56, 25,0 %), homogéneo (10/56, 17,9 %) y de membrana nuclear (8/56, 14,3 %). Los anticuerpos anti-nucs fueron los más frecuentes (16/88), seguidos por los antihistona (15/88), anti-CENP B (15/88), anti-PM/Scl (13/88), anti-ADNsc (11/88) y los anti-ENAc (8/88) (Fig). Todas las reactividades de los anti-ENAc fueron de títulos bajos, de ellos 5/8 fueron anti-Ro (52,60); y 3/8 fueron positivos de anti-La, -RNP70 o -Scl70.

La IFI-HEp-2 falló en detectar los anti-Ro (2/5); anti-ADNsc (3/11); anti-histona (2/15); anti-PM/Scl (2/13); y anti-nucs (1/16). Los títulos de anticuerpos no detectados por IFI-HEp-2 fueron bajos en 7/10 (70 %). El valor predictivo positivo y negativo de IFI-HEp-2 para las especificidades antinucleares fue de 0,84 (IC95%: 0,73-0,94) y 0,69 (IC 95 %: 0,51-0,86) respectivamente (Tabla 2).

Tabla 1 - Características demográficas y clínicas de los pacientes con resultados positivos de cribado de ANA y negativos de anti-ENAcomunes/-ADNdc (n= 88)

| Características | Medida estadística | |
|--------------------------|--------------------|--------|
| | Media | Rango |
| Edad | 47,3 | 18-72 |
| Género: mujeres | Nº | % |
| | 79 | 89,8 |
| Categoría hospitalaria | | |
| Ambulatorios | 74 | (84,0) |
| Internos | 14 | (16,0) |
| Antecedentes | | |
| ERANA | 33 | (37,5) |
| E hepáticas autoinmunes | 7 | (8,0) |
| LIF | 0 | (0,0) |
| Infecciones | 20 | (22,7) |
| Neoplasias | 6 | (6,8) |
| Vacunación | 5 | (5,7) |
| Uso de inmunosupresores | 38 | (43,2) |
| Uso de inductores de ANA | 18 | (20,5) |
| Cirugía | 5 | (5,7) |

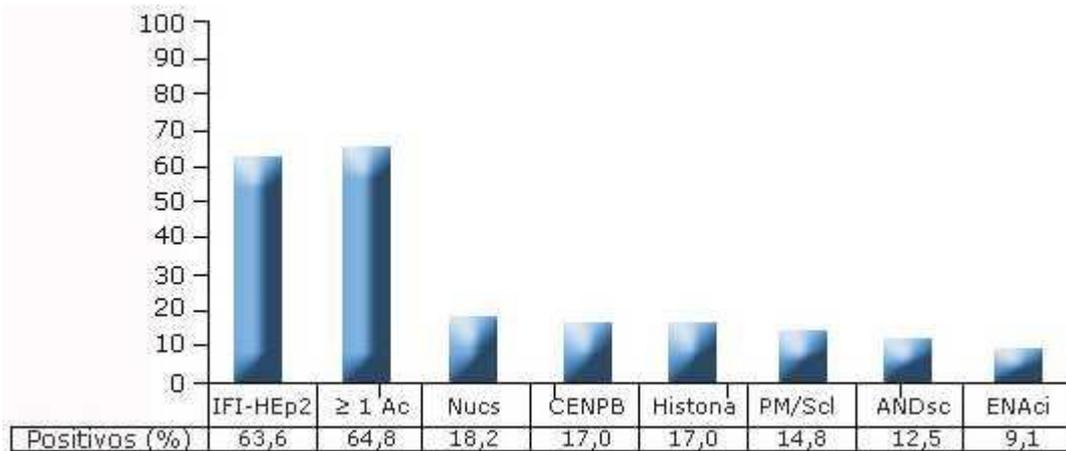


Fig. - Frecuencia de las especificidades antinucleares en pacientes con resultados positivos de cribado de ANA y negativos de anti-ENAcomunes/-ADNdc (n = 88).

Tabla 2 - Sensibilidad de la inmunofluorescencia indirecta sobre HEP-2 para la presencia de especificidades antinucleares

| Especificidades antinucleares | Sensibilidad | IC-95 % | |
|-------------------------------|--------------|---------|------|
| | | | |
| ≥1 Ac | 0,83 | 0,72 | 0,93 |
| Anti-CENP B | 1,0 | 0,97 | 1,0 |
| Anti-nucs | 0,94 | 0,79 | 1,0 |
| Anti-PM/Scl | 0,85 | 0,61 | 1,0 |
| Anti-histonas | 0,80 | 0,56 | 1,0 |
| Anti-ADNsc | 0,64 | 0,31 | 0,97 |
| Anti-ENAc | 0,63 | 0,23 | 1,0 |

IC: intervalo de confianza; Ac: anticuerpo; -nucs: nucleosoma; ADNsc: anti-ADN de simple cadena; -ENAc: ENA comunes individuales (anti-Ro-52, -Ro-60, -La, -Sm, -RNP70, -Scl70 y -Jo-1).

Tabla 3 - Características demográficas y clínicas de pacientes con resultados positivos de ANA de cribado y negativos de especificidades antinucleares (n= 31)

| Características | Medida estadística | |
|---------------------------|--------------------|-------|
| | Media | Rango |
| Edad, años, media (rango) | 47,7 | 20-72 |
| Género: mujeres | Nº | % |
| | 25 | 80,7 |
| Categoría hospitalaria | | |
| Ambulatorios | 29 | 93,6 |
| Internos | 2 | 6,4 |
| Antecedentes | | |
| ERANA | 5 | 16,1 |
| E hepáticas autoinmunes | 0 | 0,0 |
| Infecciones | 6 | 19,4 |
| Neoplasias | 1 | 3,2 |
| Vacunación | 2 | 6,5 |
| Uso de inmunosupresores | 11 | 35,5 |
| Uso de inductores de ANA | 1 | 3,2 |
| Cirugía | 1 | 3,2 |

De las características demográficas y clínicas de los 31 pacientes con resultados negativos de subserología se destacó la sospecha más baja de ERANA (5/31, 16,1 %) respecto a los pacientes positivos de especificidades antinucleares (28/57, 49,1 %) ($p= 0,003$) (Tabla 1 y

Tabla 3). No se observó asociación entre la presencia de especificidades antinucleares y la edad y sexo de los pacientes ($p > 0,05$).

DISCUSIÓN

Este estudio diseñado para solucionar la contradicción entre los resultados positivos del cribado de ANA y la ausencia de reactividad frente a los ENA comunes y ADNdc ha demostrado que la mayoría de estos pacientes presentaron especificidades antinucleares como anti-nucs, -histona, -CENP-B, -PM/Scl y -ADNsc considerados como eficientes marcadores diagnósticos de enfermedades reumáticas autoinmunes. Sobre el argumento de que los métodos contemporáneos de ELISA para el cribado de ANA son una alternativa comparable e incluso, superior en sensibilidad que la IFI-HEp-2,⁽⁵⁻⁷⁾ los ELISA están siendo empleados sobre todo en laboratorios con una carga considerable de solicitudes como el del hospital del estudio. Sin embargo, la metodología de ELISA está amenazada por la incidencia de reacciones de “falso-positivo” que atenta contra su especificidad.^(3,5)

Los anticuerpos más prevalentes fueron los anti-nucs considerados como uno de los marcadores de mayor sensibilidad del LES, especialmente útiles en pacientes negativos de anti-ADNdc.⁽⁸⁾ Los anticuerpos anti-CENP-B y los anti-histona fueron otras especificidades antinucleares que se destacaron en los pacientes negativos de anti-ENAc/-ADNdc. Por su naturaleza altamente específica de la ES, los anticuerpos anti-centrómero han sido incluidos en sus criterios de clasificación.⁽⁹⁾ Dentro de la ES los anticuerpos anti-centrómero permiten la subclasificación de la forma limitada cutánea.⁽¹⁰⁾ Además, la presencia de anticuerpos anti-centrómero es uno de los indicadores de utilidad para identificar a los pacientes de ES de mayor riesgo de desarrollar la hipertensión pulmonar.⁽¹¹⁾ La presencia de los anticuerpos anti-histona en ausencia de otros anticuerpos es la característica serológica más destacada del LIF.⁽¹²⁾ La producción de anticuerpos anti-histona puede ser la única expresión de la toxicidad del fármaco, en ausencia de síntomas clínicos.⁽¹³⁾

En pacientes con LES los anti-histona se relacionan con la actividad de la enfermedad, como recientemente ha sido demostrado para la triple positividad de los anticuerpos anti-ADNdc, anti-nucs y anti-histona que se asoció a la nefritis lúpica activa.⁽¹⁴⁾ Aunque los anticuerpos anti-PM-Scl son infrecuentes en pacientes no caucásicos,⁽¹⁵⁾ estos estuvieron presentes en

una proporción apreciable de nuestros pacientes. Los anti-PM-Scl representan el marcador diagnóstico del síndrome de sobreposición de polimiositis y ES, donde además indican mejor respuesta al tratamiento y pronóstico favorable.⁽¹⁶⁾

Escasa especificidad clínica se le ha asignado a los anticuerpos anti-ADNsc, aunque ha sido reconocida su presencia paralela a los anti-ADNdc en pacientes con LES y una similar elevación de sus niveles séricos durante las recaídas.⁽¹⁷⁾ Investigaciones recientes han señalado que los anticuerpos anti-ADNsc pudieran desempeñar un papel clave en la enfermedad de la nefritis lúpica.⁽¹⁸⁾ Además, los anti-ADNsc, a diferencia de los anti-ADNdc están presentes en pacientes con LIF y se consideran un criterio diagnóstico de este subgrupo de lupus.⁽⁴⁾

Por otra parte, el estudio ha demostrado que la prueba de cribado de ANA puede ser positiva aún sin evidencia de la presencia de especificidades antinucleares y en individuos sin ERANA, lo que señala su carácter relativamente inespecífico, reconocido también por otros autores.^(19,20) Aspectos metodológicos, como la fuente y preparación del antígeno y el proceso de recubrimiento de la fase sólida, pueden afectar los resultados del ELISA y dar lugar a resultados “falsos-positivos”.⁽²¹⁾

Los resultados clínicamente irrelevantes o “falsos-positivos” del cribado de ANA pudieran atribuirse también a características serológicas de los pacientes sometidos a estimulaciones por agentes infecciosos, tumores o vacunaciones, factores que pueden desencadenar perturbación de la respuesta inmune con la consiguiente producción de autoanticuerpos de baja avidéz y título.^(22,23) Excepto la menor frecuencia de pacientes con criterios clínicos de ERANA, las características clínicas y epidemiológicas de los pacientes positivos de ANA de cribado pero negativos de subserología fueron similares a las de los pacientes con subserología positiva. Ha sido reconocido que los pacientes con resultado positivo de ANA de cribado, en los cuales la positividad de ANA puede considerarse como una alteración aislada, tienen igualmente baja la probabilidad de presentar una ERANA.⁽¹⁹⁾ El otro conflicto asociado con la positividad de ANA fuera del contexto clínico está relacionado con el concepto de que la producción de auto-anticuerpos precede a la fase clínica.⁽²⁴⁾ Aunque los auto-anticuerpos permiten identificar a los sujetos con riesgo de desarrollar enfermedad autoinmune, la implementación de medidas preventivas requiere de una mayor integración

de los fallos de inmunoregulación que condicionan la progresión de la enfermedad en un marco de tiempo.⁽²⁵⁾

Estos resultados manifiestan que la IFI-HEp-2 falló en detectar un porcentaje no despreciable de anticuerpos anti-ADNsc, anti-histonas, anti-PM-Scl, anti-nucs y anti-ENAc. Uno de los argumentos que sustenta el continuado uso de IFI-HEp-2 como método de referencia para el cribado de ANA es que este sustrato contiene más de 100 antígenos celulares. Sin embargo, es obvio que la IFI no puede detectar todos los anticuerpos presentes, aun cuando estos están dirigidos frente a un autoantígeno fuertemente expresado en las células HEp-2, los ejemplos más reconocidos son los anticuerpos anti-Ro60, anti-Ro52/TRIM21, anti-Jo-1, anti-ribosomales, anti-PCNA y anti-PM-Scl (revisado en 21). En el marco de la sospecha clínica de enfermedad reumática autoinmune se recomienda la determinación de las especificidades antinucleares individuales aún en pacientes negativos de ANA por IFI/HEp-2.

Nuestro estudio indicó que un resultado positivo de ANA de cribado no tiene un valor definido hasta la determinación de las especificidades antinucleares. La mayoría de los pacientes positivos de ANA de cribado, pero negativos de anti-ENAc/-ADNdc resultaron positivos de especificidades antinucleares de establecido valor diagnóstico y pronóstico como anti-nucs, anti-histonas, anti-CENP B, anti-PM/Scl y anti-ADNsc. Aunque la ramificación del algoritmo de ANA eleva el costo de la prueba, se cree justificada la determinación de las especificidades individuales menores porque permite cerrar el diagnóstico serológico de los pacientes positivos de ANA de cribado, pero negativos de anti-ENAc/-ADNdc.

La mayoría de los pacientes positivos de ANA de cribado, pero negativos de anti-ENAc/-ADNdc, fueron positivos de IFI-HEp-2 y presentaron especificidades antinucleares anti-nucs, anti-histonas, anti-CENP B, anti-PM/Scl o anti-ADNsc. Se considera que la determinación de estas especificidades antinucleares en pacientes con resultados discordantes entre los dos niveles de ANA puede ser muy útil para lograr un diagnóstico certero y subclasificar la enfermedad reumática asociada a ANA.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Kavanaugh A, Tomar R, Reveille J, Solomon DH, Homburger HA, American College of Pathologists. 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.
2. Tozzoli R, Bizzaro N, Tonutti E, Villalta D, Bassetti D, Manoni F, et al. Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. *Am J Clin Pathol.* 2002;117:316-24.
3. Mahler M, Fritzler MJ. Epitope specificity and significance in systemic autoimmune diseases. *Ann N Y Acad Sci.* 2010;1183:267-87.
4. Ho CH, Chauhan K. Lupus Erythematosus, Drug-Induced. *StatPearls.* Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2017.
5. Tonuttia E, Bassetti D, Piazza A, Visentini D, Poletto M, Bassetto F, et al. Diagnostic accuracy of ELISA methods as an alternative screening test to indirect immunofluorescence for the detection of antinuclear antibodies: evaluation of five commercial kits. *Autoimmunity.* 2004;37:171-6.
6. Fenger M, Wiik A, Høier-Madsen M, Lykkegaard JJ, Rozenfeld T, Hansen MS, et al. Detection of antinuclear antibodies by solid-phase immunoassays and immunofluorescence analysis. *Clin Chem.* 2004;50:2141-7.
7. de Almeida Brito F, Maria Elói Santos S, Aparecida Ferreira G, Pedrosa W, Gradisse J, Cristina Costa L, et al. Diagnostic evaluation of ELISA and chemiluminescent assays as alternative screening tests to indirect immunofluorescence for the detection of antibodies to cellular antigens. *Am J Clin Pathology.* 2016 [acceso: 04/12/2018];145:323-31. Disponible en: <https://doi.org/10.1093/ajcp/aqv083>
8. Bizzaro N, Villalta D, Giavarina D, Tozzoli R. Are anti-nucleosome antibodies a better diagnostic marker than anti-dsDNA antibodies for systemic lupus erythematosus? A systematic review and a study of metanalysis. *Autoimmun Rev.* 2012;12:97-106.

9. Van den Hoogen F, Khanna D, Fransen J, Johnson SR, Baron M, Tyndall A, et al. 2013 classification criteria for systemic sclerosis: an American College of Rheumatology/European League against Rheumatism collaborative initiative. *Arthritis Rheum.* 2013;65:2734-47.
10. Koenig M, Dieude M, Senecal JL. Predictive value of antinuclear autoantibodies: the lessons of the systemic sclerosis autoantibodies. *Autoimmun Rev.* 2008;7:588-93.
11. Coghlan JG, Denton CP, Grünig E, Bonderman D, Distler O, Khanna D, et al. DETECT study group: Evidence-based detection of pulmonary arterial hypertension in systemic sclerosis: the DETECT study. *Ann Rheum Dis.* 2014;73:1340-9.
12. Vasoo S. Drug-induced lupus: an update. *Lupus.* 2006;15:757-61.
13. Niklas K, Niklas AA, Majewski D, Puszczewicz M. Rheumatic diseases induced by drugs and environmental factors the state of the art part one. *Reumatologia.* 2016;54(3):122-7.
14. Sui M, Lin Q, Xu Z, Han X, Xie R, Jia X, et al. Simultaneous positivity for anti-DNA, anti-nucleosome and anti-histone antibodies is a marker for more severe lupus nephritis. *J Clin Immunol.* 2013;33:378-87.
15. Reimer G, Scheer U, Peters JM, Tan EM. Immunolocalization and partial characterization of a nucleolar autoantigen (PM-Scl) associated with polymyositis/scleroderma overlap syndromes. *J Immunol.* 1986;137:3802-8.
16. Kuwana M. Circulating Anti-Nuclear Antibodies in Systemic Sclerosis: Utility in Diagnosis and Disease Subsetting. *J Nippon Med Sch.* 2017;84:56-63.
17. Ignat GP, Rat AC, Sychra JJ, Vo J, Varga J, Teodorescu M. Information on diagnosis and management of systemic lupus erythematosus derived from the routine measurement of 8 nuclear autoantibodies. *J Rheumatol.* 2003;30:1761-9.
18. M Pavlovic R, Chen A, M Kats. Highly specific novel method for isolation and purification of lupus anti-DNA antibody via oligo-(dT) magnetic beads. *Ann NY Acad Sci.* 2007;1108:203-17.

19. Abeles AM, Abeles M. The clinical utility of a positive antinuclear antibody test. *Am J Med.* 2013;126:342-8.
20. Myckatyn SO, Russell AS. Outcome of positive anti-nuclear antibodies in individuals without connective tissue disease. *J Rheumatol.* 2003;30:736-9.
21. Fritzler MJ. Autoantibody assays: performance, interpretation, and standardization. En: Rose NR, Mackay IR. (Eds.), *The Autoimmune Diseases*, 5 ed. Elsevier Academic Press; 2014, p. 1161-75.
22. Satoh M, Chan EK, Ho LA, Rose KM, Parks CG, Cohn RD, et al. Prevalence and sociodemographic correlates of antinuclear antibodies in the United States. *Arthritis Rheum.* 2012;64:2319-27.
23. Guyomard S, Salles G, Coudurier M, Rousset H, Coiffier B, Biennu J, et al. Prevalence and pattern of antinuclear antibodies in 347 patients with non-Hodgkin's lymphoma. *Br J Haematol.* 2003;123:90-9.
24. Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV, Scofield RH, Dennis GJ, James JA, et al. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2003;349:1526-33.
25. Ma WT, Chang C, Gershwin ME, Lian ZX. Development of autoantibodies precedes clinical manifestations of autoimmune diseases: a comprehensive review. *J Autoimmun.* 2017;83:95-112.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

Contribuciones de los autores

Elena Kokuina: realizó el diseño, recogida de datos, análisis e interpretación de los resultados.

Yunier Florian González: realizó el diseño, recogida de datos, análisis e interpretación de los resultados.

Delsy Marrero-Hernández: realizó la recogida de datos.

Yahima Peña Cabrera: realizó la recogida de datos.

Miguel Estévez del Toro: realizó la recogida de datos.