



**UNIVERSIDAD
DEL AZUAY**

FACULTAD DE MEDICINA

**“Relación de los anticuerpos antinucleares realizados por
inmunofluorescencia indirecta con el perfil de presentación de la
enfermedad autoinmune sistémica”**

**Trabajo de titulación previo a la obtención del título de Médico
General**

Autoras:

**Isabel Christina Carvallo Andrade
Marcela Carolina Maldonado Rodríguez**

Directora:

Dra. Claudia Rosana Rodas Espinoza

Cuenca – Ecuador

2023

Agradecimientos

A nuestros padres y hermanas por su apoyo incondicional.

A nuestra directora de tesis por su ayuda en cada etapa de este trabajo.

Al laboratorio LEBAC, a los médicos especialistas y a todos quienes colaboraron en el estudio.

Lista de abreviaturas

ANA: anticuerpos antinucleares

AR: artritis reumatoide

ENA: antígenos nucleares extractables

IFI: inmunofluorescencia indirecta

LES: lupus eritematoso sistémico

SAF: síndrome antifosfolipídico

SS: síndrome de Sjögren

Índice

<i>Resumen</i>	1
<i>Introducción</i>	3
<i>Metodología</i>	4
<i>Resultados</i>	5
<i>Discusión</i>	10
<i>Limitaciones, fortalezas y recomendaciones</i>	12
<i>Referencias</i>	14
<i>Anexos</i>	19

Resumen

Introducción: las enfermedades autoinmunes son crónicas y progresivas y afectan significativamente la calidad de vida de las personas. Los anticuerpos antinucleares (ANA) están presentes en muchas de estas patologías y la inmunofluorescencia indirecta es la prueba Gold standard para su determinación. Con ella es posible observar diferentes patrones de fluorescencia que se pueden relacionar con la clínica de las enfermedades y apoyar su diagnóstico.

Objetivo: evaluar la relación entre los anticuerpos antinucleares realizados por inmunofluorescencia indirecta (IFI) y el perfil de presentación de la enfermedad autoinmune sistémica

Metodología: se realizó un estudio observacional analítico en la ciudad de Cuenca, Ecuador en el periodo 2019-2023 mediante la recopilación de información de historias clínicas de pacientes con manifestaciones de enfermedad autoinmune y resultado ANA positivo mediante IFI en células Hep-2. Adicionalmente, se analizó la relación entre los ANA y los antígenos nucleares extractables (ENA) realizados mediante Inmunoblot.

Resultados: se analizaron 130 pacientes ANA positivo, de los cuales el 87% fueron mujeres. El diagnóstico más frecuente fue autoinmunidad no especificada (26.9%). Los patrones más comunes fueron moteado fino (37.7%), homogéneo (26.2%) y doble patrón (11.5%). El patrón homogéneo se asoció a mayor riesgo de síntomas oculares (OR = 12.19, IC = 2.4 – 62.1). Otras manifestaciones frecuentes no mostraron relación con patrones de IFI. La enfermedad severa se presentó con menor frecuencia en la dilución de 1:80 (OR = 0.08, IC = 0.01 – 0.6). No se pudo determinar una relación entre los patrones de IFI y los ENA.

Palabras clave: autoinmunidad, anticuerpos antinucleares, antígenos nucleares, técnica fluorescencia anticuerpos

Abstract

Background: autoimmune diseases are chronic, progressive and have a significant impact on people's quality of life. Antinuclear antibodies (ANA) are present in many of these pathologies and indirect immunofluorescence is the gold standard test for their determination. With it, it is possible to observe different fluorescence patterns that can be related to the clinical manifestations of the diseases and support their diagnosis.

Objective: to determine the relationship between ANA performed by indirect immunofluorescence (IFI) and the presentation profile of systemic autoimmune diseases.

Methods: an analytical observational study was conducted in the city of Cuenca, Ecuador during the period of 2019-2023 by collecting information from medical records of patients with clinical manifestations of autoimmune disease and a positive ANA result by IFI in HEp-2 cells. Furthermore, a relationship between ANA and extractable nuclear antigens (ENA) performed by immunoblot was analyzed.

Results: 130 ANA positive patients were analyzed, 87% of whom were woman. The most common diagnosis was unspecified autoimmunity (26.9%). The most frequent patterns were fine speckled (37.7%), homogeneous (26.2%) and double pattern (11.5%). The homogeneous pattern was associated with increased risk of ocular symptoms (OR = 12.19, CI = 2.4-62.1). Other common manifestations did not show any relationship with IFI patterns. Severe disease was less frequent in the 1:80 dilution (OR = 0.08, CI = 0.01-0.6). A relationship between IFI patterns and ENA could not be determined.

Keywords: autoimmunity, antinuclear antibodies, nuclear antigens, fluorescent antibody technique



Firmado por
**MARCELA CAROLINA
MALDONADO
RODRIGUEZ** el día

CLAUDIA
ROSANA
RODAS
ESPINOZA

Digitally signed
by CLAUDIA
ROSANA RODAS
ESPINOZA
Date:
2023.06.23
10:37:09 -05'00'

Introducción

Las enfermedades autoinmunes son patologías causadas por una respuesta aberrante del sistema inmunológico contra autoantígenos. Constituyen una importante causa de morbilidad global, afectando de manera significativa la calidad de vida de los pacientes, además de provocar un importante gasto en salud (1). La prevalencia mundial de estas patologías varía entre 3 y 8% y predomina en el sexo femenino ($\approx 75\%$) (2–4). Las enfermedades autoinmunes sistémicas más comunes son el lupus eritematoso sistémico (LES) con una prevalencia de 207 por cada 100.000 habitantes, el síndrome de Sjögren (SS) con el 0.25% y la artritis reumatoide (AR) con un 0.38% y (5,6).

En nuestro medio se ha reportado una prevalencia de LES de 0.06% (7) y 1.3% para AR en ciertos grupos étnicos (8), sin embargo, no existe información precisa sobre la prevalencia de las enfermedades autoinmunes debido a la falta de registros nacionales. En Colombia, población comparable a la de Ecuador, la prevalencia de enfermedades autoinmunes entre 2012 y 2016 fue de 378 por cada 100.000 personas mayores de 13 años (9).

La detección de anticuerpos antinucleares (ANA) es útil al momento de apoyar el diagnóstico de patología autoinmune sistémica, ya que muchas de estas cursan con ANA positivo. Las mujeres tienen 2 a 3 veces mayor probabilidad de tener ANA positivo (10–12).

El método de elección para la valoración de ANA es la inmunofluorescencia indirecta (IFI) en células HEp-2, con un corte que corresponde al 95% de la población local ajustada por edad y sexo en individuos sanos. Los títulos tienen un importante valor diagnóstico y la sensibilidad de la prueba (97.8% en título 1:80) es muy superior a las de fase sólida (<60%) (13), permitiendo identificar a la mayor cantidad de pacientes.

A pesar de reportes de buena sensibilidad y especificidad de la fase sólida (14,15), la inmunofluorescencia indirecta permite observar patrones relacionados con patologías y ofrece la mayoría de autoantígenos celulares posibles, que a su vez pueden relacionarse con los antígenos nucleares extractables (ENA). A pesar de las desventajas de la detección de ANA mediante IFI, como la variación inter observador y diferencias entre kits comerciales, esta técnica supera a otros métodos de detección, por lo que permanece como el gold standard (13). Siempre que una prueba de ELISA sea positiva para ANA, debe confirmarse el resultado mediante IFI (14,16).

Aunque la relación entre los ANA y las diferentes enfermedades autoinmunes es clara, existe poca información sobre la asociación de patrones de inmunofluorescencia con las manifestaciones clínicas de estas patologías. En general, la información sobre este tema es escasa y no se ha descrito en nuestro país. Este estudio contribuirá a solventar las interrogantes en el área y fortalecerá la necesidad de realizar los ANA por la técnica de inmunofluorescencia indirecta con el objetivo de efectuar correlaciones clínicas iniciales correctas.

Metodología

Se realizó un estudio observacional analítico mediante recopilación de información de historias clínicas de pacientes que acudieron a consulta ambulatoria de tres centros privados de la ciudad de Cuenca, Ecuador entre 2019 y 2023. Se analizaron las historias clínicas de pacientes con resultado positivo para ANA mediante inmunofluorescencia indirecta en células Hep-2 y manifestaciones de enfermedad autoinmune. Además, se correlacionaron los patrones de ANA con resultados de ENA realizados por Inmunoblot. Para evitar la variabilidad inter-observador, las muestras fueron procesadas en un laboratorio de alta complejidad que utiliza métodos estandarizados, kit Zeus IFA para detección de ANA y kit Orgentec Alegría Blot para el análisis de ENA.

Se incluyeron pacientes con un resultado positivo para ANA por inmunofluorescencia indirecta y se excluyó a quienes presentaron enfermedad autoinmune valorada únicamente por pruebas de fase sólida u otras condiciones que cursen con ANA positivo (infecciosas, inflamatorias, oncológicas) (Anexo 1). Las variables planteadas fueron edad, sexo, diagnóstico, patrón y título de inmunofluorescencia, ENA, manifestaciones clínicas y severidad. La severidad de las patologías se estimó según criterios clínicos en base a la experiencia de los investigadores (anexo 2). El título de ANA fue definido como la máxima dilución a la que se encontró fluorescencia. Se relacionaron los patrones de inmunofluorescencia con clínica, ENA y los títulos de positividad con enfermedad severa.

La recolección de datos fue realizada en un formulario de KOBO Toolbox, el cuál fue sometido a una prueba piloto inicial, con posterior análisis en el programa SPSS versión 25 mediante estadística descriptiva y analítica utilizando Fisher, OR e intervalos de confianza. Para determinar la significancia estadística del estudio, se utilizó la prueba exacta de Fisher debido a que más del 20% de las celdas tuvieron frecuencias menores a 5 (17).

Resultados

Se analizaron un total de 130 pacientes ANA positivo por IFI y clínica de enfermedad autoinmune en el periodo 2019-2023. La edad media de los pacientes fue de 42 ± 16 años. Del total de pacientes, 113 (87%) fueron mujeres y 17 (13%) hombres.

Los diagnósticos más frecuentes fueron autoinmunidad no especificada en 35 pacientes (26,9%), artritis reumatoide en 16 (12.3%), LES en 14 (10.8%) y síndrome de Sjögren en 14 (10.8%). Se identificaron otros diagnósticos menos comunes especificados en el anexo 3.

Se encontraron 13 patrones de IFI. Los más comunes fueron moteado fino AC-4 en 49 pacientes (37.7%) (figura 1), homogéneo AC-1 en 34 (26.2%) (figura 2), doble patrón en 15 (11.5%) y nucleolar homogéneo AC-8 en 13 (10%). Además, una paciente (0.8%) presentó tres patrones (moteado fino + moteado grueso + múltiples puntos nucleares) y otra paciente (0.8%) cuatro (moteado fino + moteado grueso + múltiples puntos nucleares + citoplasmático granular fino) (tabla 1).

Patrón	Frecuencia	Porcentaje
Moteado fino (AC-4)	49	37,7%
Homogéneo (AC-1)	34	26,2%
Doble patrón	15	11,5%
Nucleolar homogéneo (AC-8)	13	10,0%
Moteado grueso (AC-5)	6	4,6%
Centromérico (AC-3)	3	2,3%
Citoplasmático granular fino (AC-20)	2	1,5%
Múltiples puntos nucleares (AC-6)	1	0,8%
Nuclear liso (AC-11)	1	0,8%
Denso fino especulado (AC-19)	1	0,8%
Citoplasmático conos y anillos (AC-23)	1	0,8%
Anti-huso mitótico (AC-25)	1	0,8%
Triple patrón	1	0,8%
Cuádruple patrón	1	0,8%
Pocos puntos nucleares (AC-18)	1	0,8%
TOTAL	130	100,0%

Tabla 1 Patrones de inmunofluorescencia. Elaboración: autoras.

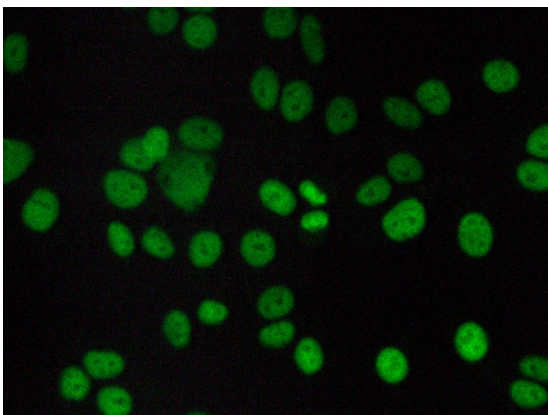


Figura 1 Patrón moteado fino. Cortesía de LEBAC.

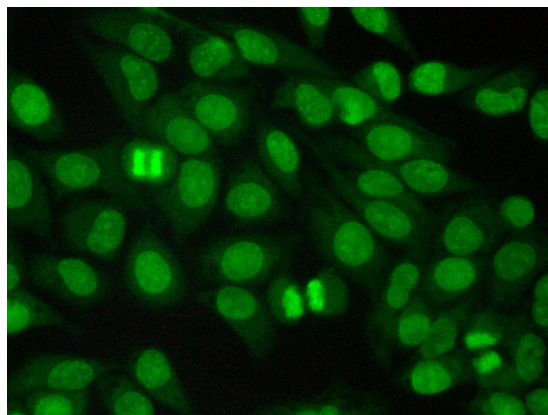


Figura 2 Patrón homogéneo. Cortesía de LEBAC.

Los títulos de positividad más frecuentes fueron 1:80 (n=54; 41,5%), 1:160 (n=30; 23.1%) y doble dilución (n=18; 13.8%). Además, 5 pacientes (3.8%) presentaron una dilución de 1:1280 y una paciente (0.8%) de 1:2560.

Un total de 35 de pacientes (26.9%) tuvieron una prueba positiva para ENA, de los cuales 14 presentaron Ro (40%), 3 La (8.6%) y 2 Sm (5.7%). Además, 5 pacientes (14.29%) presentaron 3 ENAs y 4 (11.43%) 2 ENAs (anexo 4). Los patrones asociados a ENA se muestran en la tabla 2.

Patrón	ENA	Frecuencia
Homogéneo (AC-1)	Sm	1
	Scl	1
	Ro	3
Centromérico (AC-3)	CENP-B	2
	Ro	10
Moteado fino (AC-4)	Sm	2
	RNP	1
	La	4
	Mi-2	2
	Scl	1
	Nucleosoma	1
	Anti-histonas	1
	RP11 y RP-155 subunidad recombinante POLR3K de ARN polimerasa III humana	1
	Ro	1
	RNP	1
Moteado grueso (AC-5)	Sm	1
	Ro	1
Pocos puntos nucleares (AC-18)	RNP	3
	Sm	2
Doble patrón	La	4
	Ro	4
Triple (Moteado grueso, moteado fino, múltiples puntos nucleares)	La	1

Tabla 2 Patrones de inmunofluorescencia asociados a ENA. Elaboración: autoras.

Las manifestaciones clínicas que se presentaron con mayor frecuencia fueron las musculoesqueléticas (73.1%), cutáneas (53.8%) y neurológicas (30%) (figura 3). Las manifestaciones clínicas específicas se detallan en el anexo 5. Únicamente 16 pacientes (12.3%) presentaron clínica de enfermedad severa (anexo 6).



Figura 3 Frecuencia de las manifestaciones clínicas. Elaboración: autoras.

Las manifestaciones musculoesqueléticas, cutáneas y neurológicas se presentaron con mayor frecuencia dentro de los patrones moteado fino y homogéneo, sin embargo, no fueron estadísticamente significativas (Fisher = 16.43, $p = 0.20$; Fisher = 14.08, $p = 0.35$ y Fisher = 15.69, $p = 0.24$, respectivamente). El resto de las manifestaciones clínicas y su relación con los patrones de IFI se muestra en la tabla 3.

Patrón de inmunofluorescencia	Manifestaciones clínicas											Severo (p=0.08)
	TOTAL de pacientes	Sistémico (p=0.20)	Cutáneo (p=0.35)	Neurológico (p=0.24)	Ocular (p=0.003)	Cardiovascular (p=0.18)	Pulmonar (p=0.68)	Gastrointestinal (p=0.81)	Renal (p=0.96)	Musculoesquelético (p=0.20)	Glandular (p=0.23)	
Moteado fino (AC-4)	49	11 (22.45%)	28 (57.14%)	13 (26.53%)	0 (0%)	11 (22.45%)	4 (8.17%)	7 (14.29%)	2 (4.08%)	34 (69.39%)	10 (20.40%)	2 (4.08%)
Homogéneo (AC-1)	34	4 (11.76%)	17 (50%)	11 (32.35%)	7 (20.59%)	8 (23.53%)	3 (8.82%)	8 (23.53%)	2 (5.88%)	28 (82.35%)	11 (32.35%)	8 (23.53%)
Doble patrón	15	5 (33.3%)	8 (54.33%)	6 (40%)	0 (0%)	5 (33.33%)	2 (13.33%)	4 (26.67%)	1 (6.67%)	12 (80%)	6 (40%)	2 (13.33%)
Nucleolar homogéneo (AC-8)	13	1 (7.69%)	4 (30.77%)	2 (15.38%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (7.69%)	4 (30.77%)	0 (0%)	9 (69.23%)	2 (15.38%)	1 (7.69%)
Moteado grueso (AC-5)	6	1 (16.67%)	3 (50%)	4 (66.67%)	0 (0%)	1 (16.67%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	5 (83.33%)	1 (16.67%)	0 (0%)
Centromérico (AC-3)	3	0 (0%)	3 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (33.33%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	2 (66.67%)	1 (33.33%)	1 (33.33%)
Citoplasmático granular fino (AC-20)	2	2 (100%)	2 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (50%)	0 (0%)	2 (100%)	0 (0%)	1 (50%)
Anti-huso mitótico (AC-25)	1	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Nuclear liso (AC-11)	1	0 (0%)	1 (100%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Múltiples puntos nucleares	1	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Denso fino espequeado	1	1 (100%)	0 (0%)	1 (100%)	1 (100%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)
Citoplasmático conos y anillos	1	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)
Triple patrón	1	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)
Cuádruple patrón	1	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)	1 (100%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)
Pocos puntos nucleares	1	0 (0%)	1 (100%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (100%)	1 (100%)	1 (100%)
TOTAL	130	25 (19%)	70 (53.8%)	39 (30%)	9 (6.9%)	29 (22.3%)	11 (8.5%)	24 (18.5%)	5 (3.8%)	95 (73.1%)	35 (26.9%)	16 (12.3%)

Tabla 3 Relación de manifestaciones clínicas con patrones de inmunofluorescencia. Elaboración: autoras.

Los signos y síntomas oculares mostraron relación con los patrones de fluorescencia (Fisher = 31.7; $p=0.003$) homogéneo (OR = 12.19; IC 2.4 - 62.1), moteado fino (OR = 0.08; IC 0.004 - 1.36), doble patrón (OR 0.4; IC 0.02 - 6.5) y nucleolar homogéneo (OR = 0.4; IC 0.02 - 7.7).

Los criterios de severidad se asociaron significativamente con los títulos de ANA (Fisher = 25.76; $p=0.0001$) en dilución de 1:80 (OR = 0.08; IC 0.01-0.6), 1:160 (OR = 0.7; IC 0.2-2.8) y doble dilución (OR = 1.5; IC 0.4-6).

No se pudo encontrar asociación entre los patrones de inmunofluorescencia y ENA debido a que esta prueba se reportó en muy pocos pacientes.

Discusión

Los resultados observados en cuanto a sexo son comparables con los de la literatura reportada, siendo las mujeres las más afectadas (60-80%) (2,18) y la edad de diagnóstico se encuentra dentro del rango esperado (20-50 años) (3,19,20). Las patologías autoinmunes más frecuentes coinciden con lo observado en distintos estudios (6,7,21). Sin embargo, gran parte de los pacientes (26.9%) presentaron autoinmunidad no especificada. Este hallazgo es importante ya que la prevalencia de esta condición no ha sido claramente descrita.

Los patrones más comunes encontrados en el estudio (moteado fino y homogéneo) son los mismos que han reportado tener mayor prevalencia en diferentes artículos (22–24). No se ha descrito el significado clínico de presentar múltiples patrones de fluorescencia, sin embargo, en nuestro estudio se asociaron a síndromes de superposición.

Si bien la mayoría de las manifestaciones clínicas no mostraron relación significativa con los patrones de IFI, el patrón homogéneo se asoció con un aumento de riesgo de presentar sintomatología ocular. Es conocido que este patrón se presenta frecuentemente en la enfermedad de Sjögren, la cual tiene importante compromiso a este nivel (25), sin embargo, otras patologías autoinmunes sistémicas también cursan con esta sintomatología (26,27).

Aunque los hallazgos estadísticos parecen señalar a los patrones moteado fino, nucleolar homogéneo y doble patrón como factores de protección, puede atribuirse a que las características de la muestra no permitieron un análisis adecuado, por lo que esto deberá seguir investigándose, ya que no se ha descrito previamente.

El dolor articular se presentó en 64 pacientes y fue la manifestación más frecuente en este estudio, además de sinovitis y compromiso muscular, como ha sido descrito (28,29). A pesar de que las manifestaciones musculoesqueléticas son muy comunes en enfermedad autoinmune, especialmente el compromiso articular, no se pudo encontrar correlación con algún patrón de IFI, probablemente por el tamaño de la muestra y limitaciones en las descripciones clínicas.

La manifestación cutánea más común fue la alopecia, seguida de rash, úlceras orales y fotosensibilidad, las cuales son criterios diagnósticos de LES (30–33). Sin embargo, tampoco se encontró relación significativa con los patrones de IFI por los factores ya mencionados.

La cefalea fue el síntoma neurológico más común. Esta manifestación es frecuente en autoinmunidad (34), sin embargo, al ser inespecífica, deberá relacionarse con el cuadro clínico general para que tenga valor diagnóstico. En este estudio no se encontró relación con un patrón de fluorescencia específico (tabla 3).

Se buscó relacionar los títulos de ANA con criterios de severidad de las distintas enfermedades sin encontrar significancia estadística. A pesar de que la doble dilución pareció relacionarse con severidad, presentó un intervalo de confianza amplio. La doble dilución probablemente se relacione con enfermedad severa, lo cual implica un seguimiento estricto a los pacientes, sin embargo, no existe literatura descrita al respecto.

Por otro lado, las diluciones de 1:80 y 1:160 mostraron ser un factor protector para enfermedad severa, a diferencia de títulos más altos. No obstante, no se puede afirmar de manera definitiva, ya que pocos pacientes presentaron diluciones a título alto. Este es un valioso hallazgo que no ha sido descrito. Teorizamos que los datos podrían variar si se hubieran encontrado criterios de severidad para la enfermedad autoinmune no especificada, la cual fue un diagnóstico frecuente en este estudio.

En esta descripción, no se pudo realizar una correlación del patrón de fluorescencia con los ENA, a pesar de la clara relación descrita en la literatura (23,24,35–37). Atribuimos esta situación a la falta de información sobre los resultados de ENA en las historias clínicas revisadas.

Limitaciones, fortalezas y recomendaciones

La muestra no fue significativa ni homogénea, limitando la extrapolación de los resultados. Por otro lado, la sintomatología en las historias clínicas no siempre estuvo expresada como criterios diagnósticos, lo que amplió el número de signos y síntomas descritos, dificultando su análisis. Se recomienda expresar los hallazgos en base a criterios diagnósticos dentro de las historias clínicas e incorporar un mayor número de personas en futuros estudios para realizar correlaciones más precisas.

Esta es la primera descripción nacional que relaciona las manifestaciones clínicas con ANA, patrones de fluorescencia y ENA. Fue realizada con datos obtenidos de un laboratorio de alta complejidad, con una estricta estandarización de las técnicas utilizadas que aseguran rigurosidad en los resultados. Además, se trabajó con especialistas cuya experiencia garantiza diagnósticos precisos. Este estudio contribuye de manera significativa a la importancia de la correcta interpretación de los patrones de fluorescencia y su relación con manifestaciones clínicas de autoinmunidad.

Referencias

1. Autoimmune A, Diseases R. The Cost Burden of Autoimmune Disease: The Latest Front in the War on Healthcare Spending. *Am Autoimmune Relat Diseases Assoc* [Internet]. 2011;14. Available from: http://www.diabetesed.net/page/_files/autoimmune-diseases.pdf
2. Angum F, Khan T, Kaler J, Siddiqui L, Hussain A. The Prevalence of Autoimmune Disorders in Women: A Narrative Review. *Cureus* [Internet]. 2020 May 13 [cited 2022 Oct 24];12(5). Available from: </pmc/articles/PMC7292717/>
3. Krzemień P, Kasperczyk S, Banach M, Kasperczyk A, Dobrakowski M, Tomasik T, et al. Analysis of the impact of sex and age on the variation in the prevalence of antinuclear autoantibodies in Polish population: a nationwide observational, cross-sectional study. *Rheumatol Int*. 2022 Feb 1;42(2):261–71.
4. Sohn E. Why autoimmunity is most common in women. *Nature*. 2021.
5. Richard-Eaglin A, Smallheer BA. Immunosuppressive/Autoimmune Disorders. *Nurs Clin North Am*. 2018 Sep 1;53(3):319–34.
6. Finckh A, Gilbert B, Hodkinson B, Bae SC, Thomas R, Deane KD, et al. Global epidemiology of rheumatoid arthritis. *Nat Rev Rheumatol* 2022 1810 [Internet]. 2022 Sep 6 [cited 2022 Oct 13];18(10):591–602. Available from: <https://www.nature.com/articles/s41584-022-00827-y>
7. Barber MRW, Drenkard C, Falasinnu T, Hoi A, Mak A, Kow NY, et al. Global epidemiology of systemic lupus erythematosus. Vol. 17, *Nature Reviews Rheumatology*. Nature Research; 2021. p. 515–32.
8. Guevara S V, Feicán EA, Peláez I, Valdiviezo WA, Montaleza MA, Molina GM, et al. Prevalence of Rheumatic Diseases and Quality of Life in the Saraguro Indigenous People, Ecuador A Cross-sectional Community-Based Study. 2019 [cited 2023 Jan 8]; Available from: <https://journals.lww.com/jclinrheum>
9. Palmezano-Díaz JM, Figueroa-Pineda CL, Rodríguez-Amaya RM, Plazas-

- Rey LK, Palmezano-Díaz JM, Figueroa-Pineda CL, et al. Prevalencia y caracterización de las enfermedades autoinmunitarias en pacientes mayores de 13 años en un hospital de Colombia. *Med interna México* [Internet]. 2018 Jul 1 [cited 2022 Oct 13];34(4):522–35. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0186-48662018000400003&lng=es&nrm=iso&tlng=es
10. Dinse GE, Parks CG, Weinberg CR, Co CA, Wilkerson J, Zeldin DC, et al. Increasing Prevalence of Antinuclear Antibodies in the United States. *Arthritis Rheumatol*. 2020;72(6):1026–35.
 11. Wang L, Wang FS, Gershwin ME. Human autoimmune diseases: A comprehensive update. *J Intern Med*. 2015;278(4):369–95.
 12. Bloch D, Shmerling R, Seo P. Measurement and clinical significance of antinuclear antibodies - UpToDate [Internet]. 2022 [cited 2022 Nov 13]. Available from: https://www.uptodate.com/contents/measurement-and-clinical-significance-of-antinuclear-antibodies?search=diseases associated with a positive ana&source=search_result&selectedTitle=1~150&usage_type=default&display_rank=1#
 13. Bossuyt X, De Langhe E, Borghi MO, Meroni PL. Understanding and interpreting antinuclear antibody tests in systemic rheumatic diseases. Vol. 16, *Nature Reviews Rheumatology*. Nature Research; 2020. p. 715–26.
 14. De Almeida Brito F, Santos SME, Ferreira GA, Pedrosa W, Gradisse J, Costa LC, 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 Pathol* [Internet]. 2016 Mar 1 [cited 2022 Nov 27];145(3):323–31. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27124914/>
 15. Alsaed OS, Alamliah LI, Al-Radideh O, Chandra P, Alemadi S, Al-Allaf AW. Clinical utility of ANA-ELISA vs ANA-immunofluorescence in connective tissue diseases. *Sci Rep*. 2021 Dec 1;11(1).

16. Copple SS, Sawitzke AD, Wilson AM, Tebo AE, Hill HR. Enzyme-linked immunosorbent assay screening then indirect immunofluorescence confirmation of antinuclear antibodies: a statistical analysis. *Am J Clin Pathol* [Internet]. 2011 May [cited 2022 Nov 27];135(5):678–84. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21502422/>
17. Kim H-Y. Statistical notes for clinical researchers: Chi-squared test and Fisher's exact test. *Restor Dent Endod* [Internet]. 2017 [cited 2023 Jun 15];42(2):152. Available from: <https://doi.org/10.5395/rde.2017.42.2.152>
18. Ji J, Sundquist J, Sundquist K. Gender-specific incidence of autoimmune diseases from national registers. *J Autoimmun*. 2016 May 1;69:102–6.
19. Guo Y-P, Wang C-G, Liu X, Huang Y-Q, Guo D-L, Jing X-Z, et al. The Prevalence of Antinuclear Antibodies in the General Population of China: A Cross-Sectional Study. 2014 [cited 2022 Nov 13]; Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.curtheres.2014.06.004>
20. Satoh M, Chan EKL, Ho LA, Rose KM, Parks CG, Cohn RD, et al. Prevalence and Sociodemographic Correlates of Antinuclear Antibodies in the United States. *ARTHRITIS Rheum* [Internet]. 2012 [cited 2022 Nov 13];64(7):2319–27. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/art.34380>
21. Narváez J, Sánchez-Fernández SÁ, Seoane-Mato D, Díaz-González F, Bustabad S. Prevalence of Sjögren's syndrome in the general adult population in Spain: estimating the proportion of undiagnosed cases. *Sci Rep*. 2020 Dec 1;10(1).
22. Al-Mughales JA. Anti-Nuclear Antibodies Patterns in Patients With Systemic Lupus Erythematosus and Their Correlation With Other Diagnostic Immunological Parameters. *Front Immunol*. 2022 Mar 14;13.
23. Alsubki R, Tabassum H, Alfawaz H, Alaqil R, Aljaser F, Ansar S, et al. Association between antinuclear antibodies (ANA) patterns and extractable nuclear antigens (ENA) in HEp-2 cells in patients with autoimmune diseases in Riyadh, Saudi Arabia. *Intractable rare Dis Res* [Internet]. 2020 May 31

- [cited 2022 Nov 13];9(2):89–94. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32494555/>
24. 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* [Internet]. 2018 [cited 2022 Oct 23];2018. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30364021/>
 25. Vivino F, Bunya VY, Massaro-Giordano G, Johr CR, Giattino SL, Schorpion A, et al. Sjogren's syndrome: An update on disease pathogenesis, clinical manifestations and treatment. *Clin Immunol* [Internet]. 2019 Jun 1 [cited 2023 Jun 16];203:81–121. Available from:
<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31022578/>
 26. Marcela Sarmiento Forero D, Ignacio Vargas Villanueva A, Alejandra De La Torre Cifuentes A, Darío Mantilla Hernández R, Del Rosario U. CARACTERIZACIÓN Y PREVALENCIA DEL COMPROMISO OCULAR EN PACIENTES CON ENFERMEDAD AUTOINMUNE Y AUTOINFLAMATORIA EN UN CENTRO DE REFERENCIA REUMATOLÓGICA EN COLOMBIA ENTRE LOS AÑOS 2000 A 2015.
 27. Cifuentes-González C, Uribe-Reina P, Reyes-Guanes J, Muñoz-Ortiz J, Muñoz-Vargas PT, Rojas-Carabali W, et al. Ocular Manifestations Related to Antibodies Positivity and Inflammatory Biomarkers in a Rheumatological Cohort. *Clin Ophthalmol*. 2022;16:2477–90.
 28. Anaya J-M, Shoenfeld Y, Rojas-Villarraga A, Levy R, Cervera R. Rheumatoid arthritis. In: *Autoimmunity From Bench to Bedside*. 2012. p. 381–426.
 29. Komatsu N, Takayanagi H. Autoimmune Arthritis. The Interface Between the Immune System and Joints. In: *Advances in Immunology*. Academic Press Inc.; 2012. p. 45–71.
 30. Aringer M, Leuchten N, Johnson SR. New Criteria for Lupus. Vol. 22, *Current Rheumatology Reports*. Springer; 2020.
 31. Aringer M, Costenbader K, Daikh D, Brinks R, Mosca M, Ramsey-Goldman

- R, et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheumatol*. 2019 Sep 1;71(9):1400–12.
32. Werth VP, Bashir M, Zhang W. Photosensitivity in Rheumatic Diseases. *J Investig Dermatol Symp Proc*. 2004 Jan 1;9(1):57–63.
 33. Alves F, Gonçalo M. Suspected inflammatory rheumatic diseases in patients presenting with skin rashes. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. 2019 Aug 1;33(4):101440.
 34. Biscetti L, De Vanna G, Cresta E, Corbelli I, Gaetani L, Cupini L, et al. Headache and immunological/autoimmune disorders: a comprehensive review of available epidemiological evidence with insights on potential underlying mechanisms. Vol. 18, *Journal of Neuroinflammation*. BioMed Central Ltd; 2021.
 35. Oliva Menacho JE, Arroyo-Acevedo JL, Oliva-Candela JA, García-Hjarles MA, Domínguez-Huarcaya L. Staining of antinuclear antibodies and antibodies against removable nuclear antigens in connective tissue diseases. *Allergol Immunopathol (Madr)* [Internet]. 2020 Jan 1 [cited 2022 Oct 23];48(1):18–25. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31623944/>
 36. Damoiseaux J, Andrade LEC, Carballo OG, Conrad K, Francescantonio PLC, Fritzler MJ, et al. Clinical relevance of HEp-2 indirect immunofluorescent patterns: The International Consensus on ANA patterns (ICAP) perspective. Vol. 78, *Annals of the Rheumatic Diseases*. BMJ Publishing Group; 2019. p. 879–89.
 37. Damoiseaux JGMC, Cohen Tervaert JW. From ANA to ENA: How to proceed? *Autoimmun Rev*. 2006 Jan 1;5(1):10–7.

*Anexos*Anexo 1: enfermedades que cursan con ANA +

Enfermedades que cursan con ANA +	
Enfermedades virales	VEB
	VIH
	Hepatitis C
	Parvovirus B19
Enfermedades bacterianas	Endocarditis bacteriana subaguda
	Sífilis
Neoplasias	
Misceláneas	Enfermedad inflamatoria intestinal
	Fibrosis pulmonar intersticial

Anexo 2: criterios de severidad por patología

Sjogren	
Síntomas constitucionales	Fiebre, diaforesis, pérdida de peso, fatiga
Linfadenopatías	Inguinales, esplenomegalia, linfoma
Enfermedad glandular	Parotidomegalia, tumefacción submaxilar o lagrimal
Compromiso cutáneo	EM, vasculitis, púrpura, úlceras
Compromiso renal	Insuficiencia, proteinuria, glomerulonefritis proliferativa
Compromiso respiratorio	Enfermedad intersticial, función pulmonar alterada
Compromiso musculoesquelético	Dolor articular, sinovitis, miositis (CPK)
Compromiso neurológico	Polineuropatía, déficit motor, ataxia, compromiso de par craneal, neuritis óptica, vasculitis cerebral, convulsiones
Compromiso hematológico	Citopenias autoinmunes, anemias, trombocitopenias
Enfermedad mixta	
Enfermedad pulmonar	Hipertensión pulmonar, fibrosis pulmonar
Enfermedad articular	Artritis destructiva, erosiva
Compromiso cardíaco	Pericarditis, miocarditis sintomática
Compromiso vascular	Fenómeno de Raynaud severo (úlceras y gangrena)
LES	
Enfermedad articular	Artritis deformante erosiva
Compromiso mucocutáneo	Úlceras nasales y perforación septal
Compromiso cardiovascular	Pericarditis, endocarditis, insuficiencia valvular, miocarditis, vasculitis, enfermedad tromboembólica
Compromiso renal	Síndrome nefrótico, glomerulonefritis progresiva
Compromiso gastrointestinal	Hepatitis, esofagitis, pancreatitis aguda, vasculitis mesentérica o isquemia, peritonitis
Compromiso pulmonar	Enfermedad intersticial, hipertensión pulmonar, hemorragia alveolar
Compromiso neurológico y neuropsiquiátrico	Ictus, convulsiones, delirio, psicosis, neuropatía periférica, mielitis, meningitis
Anomalías hematológicas	Anemia hemolítica, leucopenia, trombocitopenia
Compromiso oftalmológico	Neuropatía óptica, escleritis, uveitis
Artritis reumatoide	
Compromiso musculoesquelético	Osteoporosis, miositis, subluxación o fusión de C1-C2
Compromiso cardiovascular	Pericarditis, miocarditis, infarto miocárdico, insuficiencia cardíaca, fibrilación auricular, vasculitis,
Compromiso mucocutáneo	Úlceras cutáneas, dermatosis neutrofilicas
Compromiso oftalmológico	Xerosis, escleritis, uveitis
Compromiso pulmonar	Pleuritis, derrame pleural, fibrosis intersticial
Enfermedad renal	Glomerulonefritis
Compromiso neurológico y neuropsiquiátrico	Ictus, depresión
Alteraciones hematológicas	Anemia, neutropenia, leucemia linfocítica granular, enfermedad linfoproliferativa
Compromiso funcional	Incapacidad para cuidar de sí mismo
Artritis idiopática juvenil	
Enfermedad articular	Artritis erosiva, disfunción articular, fusión espina cervical, retraso crecimiento, osteoporosis
Compromiso gastrointestinal	Hepatoesplenomegalia
Compromiso cardiovascular	Pericarditis, dilatación arterial coronaria
Compromiso pulmonar	Derrame pleural, enfermedad intersticial, hipertensión pulmonar
Alteraciones inmunológicas	Síndrome de activación de macrófagos
Fenómeno de Raynaud	
Afectación mucocutánea	Isquemia severa, ulceración, gangrena
Esclerosis sistémica progresiva	
Compromiso mucocutáneo	Fibrosis piel, úlceras, dolor isquémico, infarto piel
Compromiso musculoesquelético	Artritis inflamatoria, contracturas articulares, sarcopenia
Compromiso gastrointestinal	Sangrado gastrointestinal, malabsorción
Compromiso pulmonar	Fibrosis pulmonar, hipertensión pulmonar, TEP, efusión pleural, cáncer pulmonar
Compromiso cardiovascular	Miocarditis, pericarditis
Compromiso renal	Afectación renal severa, hipertensión, insuficiencia renal
Colangitis biliar primaria	
Compromiso mucocutáneo	Excoriaciones, xantomas, xantelasmas
Compromiso gastrointestinal	Hepatoesplenomegalia, cirrosis, carcinoma hepatocelular
Hepatitis autoinmune crónica	
Compromiso gastrointestinal	Insuficiencia hepática aguda
Compromiso cardiovascular	Coagulopatía

Anexo 3: diagnósticos reportados

Diagnóstico	Frecuencia	Porcentaje	
Autoinmunidad no especificada	35	26,9%	
AR	Puro	16	12,3%
	+ Enfermedad mixta	1	0,8%
	+ SAF	1	0,8%
LES	Puro	14	10,8%
	+ SAF	6	4,6%
	+ Sjogren	2	1,5%
	+AR	2	1,5%
	+ Enfermedad mixta	1	0,8%
Sjogren	14	10,8%	
Esclerosis sistémica progresiva	5	3,8%	
Enfermedad mixta del tejido conectivo	4	3,1%	
SAF	4	3,1%	
Polimiositis	3	2,3%	
Fenómeno de Raynaud	1	0,8%	
Artritis idiopática juvenil	1	0,8%	
Neuromielitis óptica	1	0,8%	
Urticaria vasculítica	1	0,8%	
Síndromes de superposición	AR + CREST + esclerodermia	1	0,8%
	Esclerosis sistémica progresiva + polimiositis	1	0,8%
	LES + espondilitis anquilosate	1	0,8%
	LES + enfermedad de Still	1	0,8%
	LES + Sjogren + hepatitis autoinmune	1	0,8%
Otras	Angioedema	1	0,8%
	Vasculitis	3	2,3%
	Fibromialgia	2	1,5%
	Urticaria	5	3,8%
	Dermatitis perivascular	1	0,8%
	Enfermedad por depósito IgG	1	0,8%
TOTAL	130	100,0%	

Anexo 4: ENA reportados

ENA	Frecuencia	Porcentaje
Ro	14	40%
3 ENA	5	14,29%
2 ENA	4	11,43%
La	3	8,57%
Sm	2	5,71%
RNP	2	5,71%
Scl	2	5,71%
CENP-B	2	5,71%
Anti-histonas	1	2,86%
TOTAL	35	100%

Anexo 5: manifestaciones clínicas encontradas

Categoría	Manifestación	Número de pacientes	Total	Categoría	Manifestación	Número de pacientes	Total		
Sistémicas	Astenia	17	28	Oculares	Quemazon y congestión	2	10		
	Fiebre	8			Baja visual	2			
	Pérdida de peso	2			Visión borrosa	1			
	Malestar general	1			Conjuntivitis recurrente	1			
Cutáneas	Alopecia	34	147		Cardiovasculares	Glaucoma		1	29
	Rash	26				Eritema palpebral		1	
	Úlceras orales	16				Úlceras corneales		1	
	Fotosensibilidad	14				Blefarroedema		1	
	Prurito	13				Fenómeno de Raynaud		16	
	Eritema malar	13				Arritmias		3	
	Hematomas	6		Epistaxis	3				
	Equimosis	6		Edema	2				
	Cianosis	4		Valvulopatía	1				
	Úlceras cutáneas	2		Vasculitis	1				
	Lívado reticularis	2		Insuficiencia venosa	1				
	Manos de mecánico	1		Tromboflebitis	1				
	Telangiectasias	1		Cardiomegalia	1				
	Falta de turgencia piel	1		Pulmonares	Disnea	6	13		
	Lesiones sal y pimienta	2			Dolor pleurítico	1			
	Heliotropo	1			Bronquiectasias	1			
	Liquenificación palmar	1			Tos seca	1			
	Despigmentación facial	1			Granulomas	2			
	Neurológicas	Urticaria		1	52	Gastrointestinales	Estertores	2	37
		Gottron		1			Dolor abdominal	7	
Palidez		1	Odinofagia	5					
Hiperpigmentación		1	Hepatopatía	4					
Cefalea		22	Disfagia	3					
Alteración del sueño		6	Colitis	3					
Parestesias		5	Vómito	2					
Convulsiones		4	Constipación	2					
Neuropatía		4	Diarrea	2					
Neuritis intercostal		2	Distensión abdominal	2					
Mareo		2	Dispepsia	2					
Ansiedad		1	Esplenomegalia	1					
Irritabilidad		1	Sangre oculta en heces	1					
Olvidos		1	Ictericia	1					
Síncope	1	Ascitis	1						
Temblor	1	Gastritis erosiva	1						
Alteración del estado de consciencia	1	Renales	Urea >40	3	6				
			TFG <60	2					
			Proteinuria	1					

Categoría	Manifestación	Número de pacientes	Total
Musculoesqueléticas	Proteína	1	148
	Dolor articular	64	
	Mialgias	16	
	Sinovitis	16	
	Rigidez matutina	9	
	Inflamación articular	10	
	Edema	7	
	Nódulos en articulaciones	7	
	Debilidad	6	
	Lumbalgia	5	
	Calambres	1	
	Bursitis	1	
	Hiperlaxitud	1	
	Quistes sinoviales	1	
	Degeneración vertebral	1	
	Limitación al movimiento	1	
Osteopenia	1		
Crépitos	1		
Glandulares exócrinas	Xeroftalmia	21	52
	Xerostomía	18	
	Xerosis	11	
	Dispareunia asociada a resequead vaginal	2	

Anexo 6: manifestaciones severas por enfermedad

Enfermedad	Manifestación severa	Frecuencia
Sjögren	Úlceras mucocutáneas	1
	Anemia	2
	Enfermedad pulmonar intersticial	1
	Dolor articular	5
	Sinovitis	1
	Convulsiones	1
LES	Artritis erosiva	1
	Glomerulonefritis	2
	Hepatitis	1
	Leucopenia	2
AR	Insuficiencia cardíaca	1
	Uveítis	1
	Fibrosis intersticial	1
Esclerosis sistémica progresiva	Úlceras mucocutáneas	2
	Fibrosis intersticial pulmonar	2
	Hipertensión pulmonar	1