



Memoria del XLIX Taller de Actualización Bioquímica, Facultad de Medicina; UNAM

Anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia indirecta.

Antinuclear antibodies by indirect immunofluorescence.

Pérez-Campos Mayoral, Laura^{1*}; Pérez-Campos, Eduardo²; Hernández-Huerta, María Teresa³; Pérez-Campos Mayoral, Eduardo¹ y Matias-Cervantes, Carlos Alberto³.

1. Centro de Investigación Facultad de Medicina UNAM-UABJO, Facultad de Medicina y Cirugía, Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca.
2. Tecnológico Nacional de México/IT Oaxaca.
3. Facultad de Medicina y Cirugía, Universidad Autónoma "Benito Juárez" de Oaxaca – Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)

*Correspondencia. Centro de Investigación Facultad de Medicina UNAM-UABJO, Oaxaca 68020, México.
Tel. +52(1)(951)1209805, laurapcm@prodigy.net.mx

Resumen

La inmunofluorescencia es una técnica utilizada para estudios de autoinmunidad. La técnica se basa en la identificación de los anticuerpos que reconocen estructuras antigénicas celulares nativas. Esta interacción se pone en evidencia con anticuerpos antiinmunoglobulina humana, ya sea de conejo, cabra o cobayo, que van dirigidos contra las fracciones constantes de las inmunoglobulinas IgG, IgA y/o IgM. Estos anticuerpos antiinmunoglobulina humana están conjugados con un fluoróforo como el isotiocianato de fluoresceína. Los resultados del reconocimiento de los antígenos por los autoanticuerpos presentes en el suero, plasma o cualquier otro líquido, se evalúan en un microscopio de fluorescencia.

Palabras claves: HEp-2, Inmunofluorescencia Indirecta, anticuerpos antinucleares

Abstract

Immunofluorescence is a technique used for autoimmunity studies. It is based on the recognition of antibodies that recognize native cellular antigenic structures. This interaction is evidenced with human anti-immunoglobulin antibodies, either rabbit, goat or guinea pig, which are directed against the constant fractions of IgG, IgA and/or IgM immunoglobulins. This human anti-immunoglobulin antibody is conjugated with a fluorophore such as fluorescein isothiocyanate. The results of the recognition of antigens by autoantibodies present in serum, plasma or any other liquid, are evaluated under a fluorescence microscope.

Keywords: HEp-2, Indirect Immunofluorescence, antinuclear antibodies

Introducción

En 1948, Malcolm Hargraves, Robert Morton y Helen Richmond fueron los primeros en describir las

células LE en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES). Años después se demostró que, para diagnosticar LES, las células LE tenían baja sensibilidad por que se podían encontrar en

pacientes con miastenia gravis, hepatitis crónica activa, y cirrosis hepática, entre otras. Holman en 1959 demostró que el fenómeno de células LE, ocurría por la presencia de anticuerpos dirigidos a antígenos nucleares. Estos se identifican mediante técnicas como la inmunodifusión, hemoaglutinación, fijación de complemento y microscopia empleando anticuerpos conjugados con moléculas fluorescentes. La técnica de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia fue desarrollada en 1950 por Coons AH y Kaplan MH y modificada por Tan EM, y Kunkel HG en 1966, utiliza como sustrato cortes de hígado y riñón de ratón, estandarizada años más tarde. La Inmunofluorescencia indirecta demostró tener una alta sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de enfermedades reumáticas y autoinmunes.

Las enfermedades autoinmunes reconocen componentes celulares autólogos, nucleares y citoplasmáticos. La concentración de anticuerpos antinucleares (títulos > 1:80) esta elevado en estas enfermedades, caracterizadas por daño intrínseco del sistema inmunológico, con pérdida de la tolerancia inmune, con respuesta alterada frente a moléculas propias y con daño tisular por lapsos de tiempo variables. La etiología es poco conocida, aunque se han reportado diferentes anomalías en la patogénesis del LES, como anomalías en la función mitocondrial, el metabolismo de lípidos, la señalización de mTOR, predisposición genética heredada, procesos epigenéticos y desregulación de RNAs no codificantes (ncRNAs). También está involucrada la presencia de genes del sistema de histocompatibilidad, debido a que estos genes pueden influir en la selección de linfocitos autorreactivos y la aparición de la auto tolerancia.

Para la determinación de anticuerpos antinucleares, además, se han empleado técnicas como el radioinmunoanálisis, el inmunoensayo enzimático, y el Western blot. Actualmente la prueba de referencia es la inmunofluorescencia indirecta, utilizando sustratos de líneas celulares HEp-2 y HeLa. Junto con los anticuerpos anti-dsDNA, son parte de los criterios diagnósticos de agrupaciones como la Asociación Americana de Reumatología, para enfermedades autoinmunes, por su alta sensibilidad.

En la actualidad, los sustratos celulares se han modificado genéticamente, generando nuevas líneas, como Hep-2000, que permiten la identificación del antígeno Ro de manera simultánea. Además, se ha generado métodos como

Colorzyme que permite ver este tipo de técnica con microscopios convencionales de luz.

Fundamento de la técnica

Para la identificación de los anticuerpos antinucleares (ANA) por inmunofluorescencia, se emplea una técnica indirecta mediante anticuerpos fluorescentes.

Los anticuerpos antinucleares del suero de los pacientes se van a unir a los antígenos correspondientes presentes en las células de cultivo neoplásicas inmortalizadas HEp-2 (*Human Epidermoid Cancer Cells*) (1). Una vez unidos, después de un lavado, se incuban con anticuerpos contra las inmunoglobulinas humanas conjugadas con fluoresceína, se lavan las proteínas no unidas y se visualizan por microscopía de fluorescencia (2). El método, está diseñado para detectar la presencia de ANA en suero humano o de animales, como el perro. Aquí vamos a describir la técnica suponiendo que se está investigando LES en un humano, pero es lo mismo para el LES del perro. El ensayo utiliza como sustrato, líneas de cultivo celular y anti-inmunoglobulina humana de cabra ajustada para un uso óptimo y libre de tinción no específica, de fondo.

La reacción sucede en dos pasos:

1. La incubación de la muestra, se aplica suero diluido a las células de línea Hep-2, fijadas. Todos los ANA presentes en la muestra a evaluar, se pueden unir al sustrato celular y formar un complejo antígeno-anticuerpo. Otros componentes del suero que no son específicos a los antígenos presentes en la línea celular, se eliminarán posteriormente mediante lavado.
2. El siguiente paso, es la incubación del conjugado. Para ello, la anti-inmunoglobulina humana es marcada con isotiocianato de fluoresceína (Anti-IgG-FITC). En esta etapa, el Anti-IgG-FITC interactuará con los ANAs, si están presentes. Esto formará un complejo antígeno-anticuerpo-conjugado. El exceso de conjugado se eliminará posteriormente mediante lavado. Los resultados del ensayo se pueden visualizar utilizando un microscopio de fluorescencia debidamente equipado. Toda reacción positiva aparecerá como una tinción fluorescente de color verde manzana dentro de la célula, con distintos patrones de tinción característicos y particulares por la distribución del antígeno nuclear en las células. Si la muestra

no tiene un ANA específico, no habrá una tinción nuclear manifiesta en las células.

Aplicaciones

La inmunofluorescencia indirecta se aplica para la detección de anticuerpos antinucleares en suero de pacientes con alguna patología inmunológica como el LES, LES inducido por fármacos, y enfermedades del tejido conectivo (3). La técnica original descrita por Coons y Kaplan ha sufrido adaptaciones. En la actualidad se emplean diferentes fuentes de material nuclear como sustrato, como, cultivo celular de tejido embrionario de animal o humano, pero aún son muy empleados los sustratos de hígado y riñón de ratón, dependiendo de los anticuerpos que se

estén investigando. Se puede llegar a detectar positividad cuando hay presencia de diferentes anticuerpos, como a centrómero, CREST (calcinosis, fenómeno de Raynaud, alteraciones de la motilidad esofágica, esclerodactilia y telangiectasias), esclerosis sistémica progresiva (4). El resultado de la inmunofluorescencia se reporta por medio de patrones en núcleo, nucleolo, citoplasma y aparato mitótico (5-7). A la distribución de la fluorescencia, se le denomina patrón. Este se asocia a un determinado anticuerpo y a una diferente enfermedad (Tabla 1). Los anticuerpos que nos interesa estudiar se muestran en la Tabla 2. En particular en LES, los patrones que con más frecuencia se encuentran son AC-1, AC-4 y AC-5 (Tabla 3).

Tabla 1. Relación del tipo de patrón en ANA por IF y diferentes enfermedades

Enfermedad	Patrón ANA IF						
	Moteado	Homogéneo	Periférico Anillo	Centromérico	Mitocondrial	Centriolar	Nucleolar
LES	X	X	X				X
LIF		X					
Hepatitis crónica activa		X					
Síndromes de superposición	X						
Esclerosis sistémica progresiva	X						X
EMTC	X						
Esclerodermia							X
Dermatomiositis	X						
CREST	X			X			
Síndrome de Sjögren							X
Fenómeno de Raynaud							X
Cirrosis biliar primaria					X		
Esclerosis sistémica progresiva						X	

LES: Lupus eritematoso sistémico; LIF: Lupus inducido por fármacos; EMTC: Enfermedad mixta del tejido conectivo; CREST: Calcinosis, Fenómeno de Raynaud, esofagitis, esclerodactilia y telangiectasia. (8).

Tabla 2. Frecuencia de anticuerpos antinucleares específicos en diferentes enfermedades.

Anticuerpo	Enfermedad	Frecuencia
Anti-Jo-1	Miositis	25-44%
Anti-Sm	LES	30%*
Anti-RNP	EMTC	100%*
	LES	>40%
	Overlapping	19%
Anti-SSA/Ro	LES	15%
	Síndrome de Sjögren	30-40%
	Overlapping	19%
Anti-SSB/La	LES	15%
	Síndrome de Sjögren	60-70%
	Overlapping	19%
Anti-Scl-70	Esclerosis sistémica	20-28%*

*Altamente específico

Síndrome de superposición (Overlapping), puede tener diferentes presentaciones, vgr: lupus eritematoso sistémico asociado a síndrome de Sjögren, y/o a hepatitis autoinmune-cirrosis biliar primaria.

© 2022 Mensaje Bioquímico. Todos los derechos reservados. ISSN-0188-137X

Comité Editorial: González Andrade, M.; Hernández Alcántara, G.; Martínez González, J.J.;

Meraz Cruz, N.; Ramírez Silva, L.H. y Vilchis Landeros, M.M.

Publicado por el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina; UNAM.

Tabla 3. Patrones de ANA por IF, frecuentemente encontrados en LES [9].

Patrón	Frecuencia
Nuclear homogéneo	AC-1 29.3%
Nuclear moteado fino	AC-4 28.6%
Nuclear moteado grueso	AC-5 14.7 %
Centrómero	AC-3 1.2%
Citoplasmático reticular	AC-21 1.2%
Fibras del huso mitótico	AC-25 1.2%
Múltiples	21.2%

Características de los patrones de ANA más frecuentes detectados mediante IF

Existen diferentes patrones de ANA detectados por IF en células HEp-2 de sueros de pacientes con enfermedades autoinmunes (Tabla 4). A continuación, se describen los más frecuentes (10-12):

- *Patrón homogéneo.* Se observa una tinción homogénea en el núcleo, donde la intensidad de la coloración es dependiente de la concentración de los anticuerpos presentes en el suero. Además, en aquellas células en división se distingue una tinción compacta, delineada o difusa de la placa de cromatina, con tinción o no de nucleolos.
- *Patrón periférico.* Se distingue una tinción regular alrededor del núcleo y una menor tinción en el centro, mientras que la placa de la cromatina muestra una tinción delineada o compacta.
- *Patrón moteado.* Son los más comunes, y pueden ser finos o gruesos. El patrón moteado grueso presenta la tinción en el núcleo con gránulos finos o gruesos, los nucleolos están teñidos, pero no existe tinción de los componentes de la cromatina. En el patrón moteado fino observamos tinción del núcleo con gránulos finos o gruesos, pero a diferencia de los patrones moteados grueso, los nucleolos no se tiñen y tampoco se tiñe la placa de la cromatina.
- *Patrón centromérico.* Se pueden observar los núcleos teñidos con puntos finos distribuidos homogéneamente en el nucleoplasma de las células durante la replicación del ADN (interfase). También se distingue un punteado fino sobre la placa de cromatina.
- *Patrón nucleolar.* Se puede observar una tinción intensa de los nucleolos con una tinción difusa en la placa de la cromatina generada por la reactividad cruzada de los anticuerpos dirigidos contra los RNA nucleolares con el ADN de la cromatina.
- *Patrón de la lámina nuclear o laminar.* Se puede distinguir una tinción intensa que rodea el núcleo, pero sin invadir el citoplasma, además hay ausencia de tinción en la placa de la cromatina en las células en división.
- *Patrón centriolar.* Se observa una tinción intensa de los centriolos de células en división, se puede diferenciar la fase G2 mediante la presencia de puntos cercanos o muy próximos, mientras que en la metafase se observan puntos en los polos de la célula. Además, cuando la tinción de centriolos es positiva se distinguen los filamentos del huso acromático y las células en interfase mediante un patrón moteado fino, denominado NuMA-1 (*nuclear mitotic apparatus*). En caso de observar una tinción de los centriolos y del huso mitótico pero sin tinción del nucleoplasma en células en interfase, se denomina NuMA-2

También mediante IF podemos diferenciar patrones citoplásmicos de células HEp-2, los encontrados más frecuentemente incluyen la tinción homogénea que cubre todo el citoplasma, denominado patrón citoplásmico y, la tinción que se caracteriza por la presencia de hileras punteadas que rodean al núcleo, se extienden hacia el citoplasma, pero sin cubrirlo por completo, es decir el patrón mitocondrial. Además, se puede observar el reconocimiento de los componentes del citoesqueleto (microtúbulos, microfilamentos y filamentos intermedios) mediante una tinción en forma de hilos que corresponde al patrón de filamentos intermedios o de músculo liso.

Tabla 4. Nomenclatura de patrones en Hep-2

Patrones en Hep-2		Placa metafásica cromosómica	
Negativo		AC-0	
	Homogéneo	AC-1	
	Topo I	AC-29	
	Granular fino denso	AC-2	
	Centrómero	AC-3	
	Granular	Granular fino AC-4	-
		Granular grueso/grande AC-5	
	Puntos discretos nucleares	Gránulos nucleares múltiples AC-6	-
		Gránulos nucleares escasos AC-7	
	Nucleolares	Nucleolar homogéneo AC-8	-
		Grumoso AC-9	
	Envoltura nuclear/membrana nuclear	Granular AC-10	+
		Membrana nuclear lisa AC-11	
Pleomórfico	Membrana nuclear granular AC-12	-	
	Parecido a PCNA AC-13		
	Parecido a CENP-F AC-14	+	
Citoplasmáticos	Fibrilares	Fibrilar linear AC-15	-
		Fibrilar filamentar AC-16	
		Fibrilar segmentado AC-17	
	Granulares	Granular discreto AC-18	-
		Granular fino denso AC-19	
		Granular fino AC-20	
	Reticular AMM	AC-21	-
Granular polar	AC-22	-	
Bastones y anillos	AC-23	-	
Mitóticos	Centrosoma	AC-24	-
	Huso mitótico AC-25	Parecido a NuMA AC-26	-
	Puente intercelular	AC-27	-
	Envoltura cromosómica mitótica	AC-28	+

Aproximadamente, el 90% de los ANA detectados en las células HEP-2 presentan por lo menos 2 patrones diferentes nucleares y/o citoplásmicos.

Reactivos

Cuando se emplean reactivos comerciales (kits), éstos contienen la cantidad suficiente para realizar el número de pruebas indicado en la etiqueta del envase. El conjugado y los controles contienen una combinación de un biocida, como Proclin (0,05% v/v) y azida sódico (<0,1% p/v) como conservadores.

- Portaobjetos con sustrato de HEP-2 para ANA: portaobjetos de 12 pocillos con secante absorbente y bolsa desecante.
- Conjugado: Anti-inmunoglobulina humana de cabra marcada con isotiocianato de fluoresceína

(FITC). Contiene tampón de fosfato con albúmina de suero bovino (BSA) y contra tinción, habitualmente es Azul Evans, pero se pueden emplear otros colorantes, dependiendo del conjugado, como rojo Congo, naranja flazo, ó eriocromo negro. Un frasco con tapa, color ámbar.

- Control positivo (suero humano): Producirá una tinción del núcleo celular positiva, homogénea, de color verde manzana. Un vial de 0,5mL, de tapa roja.
- Control negativo (suero humano): No producirá una tinción nuclear detectable. Un vial de 0,5mL, de tapa verde.
- Diluyente: Dos frascos de 30 mL, de tapón verde, que contienen solución salina tamponada con fosfato.

- Solución salina tamponada con fosfato (PBS, contiene 137 mM NaCl, 2.7 mM KCl, 8 mM Na₂HPO₄, y 2 mM KH₂PO₄): pH 7,2 ± 0,2. Para preparar el PBS, vacíe el contenido de la bolsa de PBS en un litro de agua destilada o desionizada. Mezcle hasta que todas las sales se hayan disuelto por completo. Cuatro paquetes, cantidad suficiente para preparar 4 litros. Se puede tapar y conservar a 2-25°C durante máximo 4 semanas.
- Medio de montaje (Glicerol tamponado): Dos viales con punta de gotero de 3.0 mL, de tapa blanca.
- Material adicional
 - Pipetas Pasteur, serológicas pequeñas, capilares o automáticas.
 - Puntas de pipetas descartables.
 - Tubos de ensayo pequeños, de 13 x 100 mm o similares.
 - Gradillas para tubos de ensayo.
 - Placa de tinción ideal para lavar los portaobjetos entre pasos de incubación.
 - Cubreobjetos, de 24 x 60 mm, grosor N.º 1.
 - Agua destilada o desionizada.
 - Microscopio de fluorescencia.
 - Bureta graduada de 1 litro.
 - Cronómetro de laboratorio.
 - Lavabo de eliminación y desinfectante (10 % de lejía doméstica - 0,5 % de hipoclorito de sodio).
- a) Se pueden preparar diluciones de muestra inicial utilizando diluyente.
- b) Se puede titular el control positivo hasta el punto final para que sirva como un control semicuantitativo (1+ mínimamente reactivo). En tales casos, el control debe diluirse dos veces en diluyente o PBS. Se puede establecer una dilución de punto final e imprimir en el vial del control positivo (± una dilución).
- c) Cuando se titulan las muestras de pacientes, las diluciones iniciales deben prepararse en diluyente o PBS y todas las diluciones subsiguientes deben prepararse en diluyente o PBS exclusivamente.
- 5. Con un dispensador adecuado, poner de 20 a 40 µL de cada control y cada suero de paciente diluido en los pocillos correspondientes.
- 6. Incubar los portaobjetos a temperatura ambiente (20 - 25° C) durante 20 - 30 minutos.
- 7. Enjuagar con delicadeza los portaobjetos con PBS. No dirigir un chorro de PBS hacia el interior de los pocillos de prueba.
- 8. Lavar los portaobjetos durante 2 intervalos de 5 minutos, cambiando el PBS entre lavados. Los portaobjetos pueden dejarse en remojo durante cada lavado por hasta cinco minutos.

NOTA: Si se utilizan lavadoras automáticas, programar la lavadora para lavar cada pocillo tres veces con un remojo de cero a cinco minutos. Una vez utilizada, tire la solución de lavado PBS. Si fuera necesario, se puede usar una contratinción opcional, para ello se debe añadir de 5-10 gotas de azul de Evan al 0,5% por 100 mL de PBS antes de sumergir el portaobjetos. Dado que el grado de contratinción deseado puede variar de unos individuos a otros, se puede aumentar o reducir la intensidad de la contra tinción simplemente ajustando el número de gotas que se añaden al PBS en este lavado.

Procedimiento

1. Sacar los portaobjetos del lugar de almacenamiento refrigerado y deje que se atemperen hasta alcanzar temperatura ambiente (20 - 25 °C).
2. Abrir el sobre protector y saque los portaobjetos. Sin aplicar presión sobre los lados planos del sobre protector.
3. Identificar cada pocillo con el suero del paciente y los controles adecuados.
4. Preparar una dilución 1:40 (10 µL de suero + 390 µL de diluyente o PBS), 1:80, 1:160, 1:320, etc de cada suero de paciente. El diluyente sufrirá un cambio de color, lo cual confirma que la muestra se ha combinado con el diluyente. Opciones de dilución:
9. Sacar los portaobjetos del PBS uno a uno. Invierta el portaobjeto y los pocillos clave sobre los orificios de los secantes provistos. Seque el portaobjeto pasando un paño absorbente por la parte posterior.

Precaución: Coloque el secante y el portaobjeto sobre una superficie dura y plana. El secado

sobre toallas de papel puede destruir la matriz del portaobjeto. No permita que los portaobjetos se sequen durante el procedimiento de prueba.

10. Agregar de 20 a 40 μL de conjugado en cada pocillo, hasta que lo cubra completamente y ponerlo inmediatamente en la cámara de incubación.
11. Repetir los pasos 6 a 8.
12. Aplicar de 3 a 5 gotas de medio de montaje a cada portaobjeto, cubriendo con cuidado y evitando que se formen burbujas de aire, haciendo bajar suavemente el cubreobjetos de un lado del portaobjetos al otro.

El medio de montaje se debe agregar dos horas después de completar el último ciclo de lavado.

13. Examine los portaobjetos inmediatamente con un microscopio de fluorescencia adecuado.

Si no es posible ver los portaobjetos inmediatamente, estos pueden guardarse por un período de hasta 48 horas a una temperatura de entre 2 y 8° C.

Limitaciones de la técnica

- Es una herramienta para el diagnóstico de laboratorio, pero no es en la única prueba diagnóstica, se puede realizar determinación de Anticuerpos anti-Smith, anti-centromero, anti-Jo1, anti-SSa, anti-SSb por inmunoensayo enzimático o electroinmunotransferencia (*Western blot*). La prevalencia de ANA positivo en la población sana en títulos bajos (1:40) puede llegar al 32%, sin tener algún valor patológico. Por lo tanto, es imperativo que los resultados sean interpretados por un especialista que evalúe la condición clínica del paciente.

- En los pacientes con Lupus eritematoso sistémico en tratamiento previo con esteroides, este estudio puede dar resultados negativos.

- Existen fármacos, que dan resultados falsos positivos, cómo: procainamida, hidralazina, penicilamina y clorpromazina.

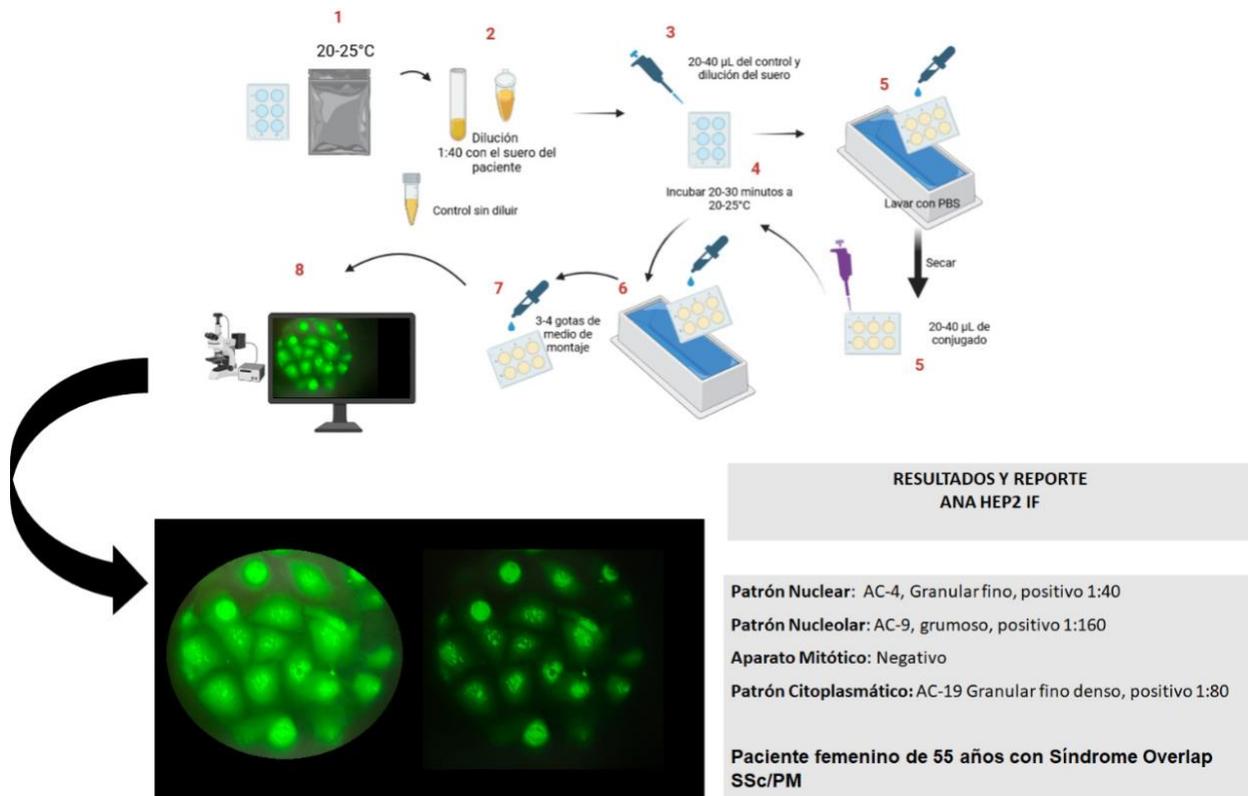
- Un patrón de autoanticuerpos puede presentar una fluorescencia muy fuerte y no permitir ver algún otro tipo de patrón presente en el mismo paciente. Para ello es necesario que se realicen titulaciones de la muestra.

- Se puede observar ANAs en un pequeño porcentaje de pacientes con enfermedades infecciosas y/o neoplásicas. Los diferentes problemas técnicos se muestran en la Tabla 5.

Tabla 5. Posibles problemas en la técnica

Paso	Problema	Posible razón	Solución
4,5	Daño al sustrato de antígeno de la laminilla	Si la punta del cuentagotas toca directamente la superficie del portaobjetos	No tocar con el cuentagotas la superficie del sustrato
7	Contaminación cruzada de los portaobjetos	Utilizar la jeringa directamente sobre los pocillos	Dirija el chorro de PBS a la línea media del portaobjetos, inclinando primero la fila superior de pocillos y luego la superior
10	Daño del sustrato	Secado del portaobjetos durante el procedimiento	Mantener en la cámara de incubación y poner inmediatamente el conjugado (menos de 15 segundos)
10	Fluorescencia de fondo sea elevada debido a la diseminación de la luz, o que la resolución de las células no sea clara (imagen borrosa).	Poner demasiado medio de preparación puede afectar la fluorescencia	Se puede retirar del portaobjetos secando suavemente el cubreobjetos con papel secante o para lentes, evitando cualquier movimiento directo del cubreobjetos.
13	Laminilla seca al momento de la revisión al microscopio de fluorescencia	Examinar las laminillas después de más de 48hr	Si no se van a revisar antes de las 48h de terminado el proceso, se debe sellar el cubreobjetos con esmalte de uñas transparente y almacene en un refrigerador.

Esquema del procedimiento



Interpretación ANA Hep-2 IF

Patrón AC-4

Se asocia con los antígenos: hnRNP, U1RNP, Sm, SS-A/Ro (Ro60), SS-B/La, RNA polimerasa III, Mi-2, Ku.

Patologías asociadas: Enfermedad mixta del tejido conectivo (MCTD), Lupus eritematoso sistémico (SLE), síndrome de Sjögren (SjS), Dermatomiositis (DM), Overlapping Esclerosis sistémica/Polimiositis (SSc/PM Overlapping)

Patrón AC-9

Se asocia con los antígenos: U3-sno RNP/fibrillarina.

Patologías asociadas: Esclerosis sistémica (SSc)

Patrón AC-19

Se asocia con los antígenos: PL-7, PL-12, proteína P ribosomal.

Patologías asociadas: Síndrome anti-sintetasa, Polimiositis/Dermatomiositis (PM/DM), SLE, SLE juvenil y SLE neuropsiquiátrico.

Referencias

- Kavanaugh, A., Tomar, R., Reveille, J., Solomon, D.H., and Homburger, H.A. (2000) Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. American College of Pathologists. Arch Pathol Lab Med.124, 71-81.
- Chan, E.K.L., Damoiseaux, J., Carballo, O.G., Conrad, K., Cruvinel, W.M., Francescantonio, P.L.C., Fritzler, M.J., Garcia-De La Torre, I., Herold, M., Mimori, T., Satoh, M., Von-Mühlen, C.A., and Andrade, L.E.C. (2015) Report of the
- First International Consensus on Standardized Nomenclature of Antinuclear Antibody HEP-2 Cell Patterns 2014-2015 Front. Immunol. 6, 412.
- Salamuniae, I. (2010) Laboratory diagnosis of autoimmune diseases new technologies, old dilemmas. Biochemia Medica. 20, 45-56.
- Baleva, M., Lesichkova, S., Gesheva, N., Kojuharova, N., Dimitrova, M., Mihailova, A., and Naumova, E. (2017) Diagnostic significance of the titer of antinuclear antibodies. Immunologia clínica. 1, 83-99.

© 2022 Mensaje Bioquímico. Todos los derechos reservados. ISSN-0188-137X

Comité Editorial: González Andrade, M.; Hernández Alcántara, G.; Martínez González, J.J.;

Meraz Cruz, N.; Ramírez Silva, L.H. y Vilchis Landeros, M.M.

Publicado por el Departamento de Bioquímica de la Facultad de Medicina; UNAM.

5. Tan, E.M., Christian, C., Holman, H.R., Homma, M., Kunkel, H.G., Reichlin, M., Sharp, G.C., Ziff, M., and Barnett, E.V. (1977) Anti-tissue antibodies in rheumatic disease. Standardization and nomenclature. *Arthritis Rheu.* 20, 1419-1420.
6. Tan, E.M. (1982) Autoantibodies to nuclear antigens (ANA): Their Immunobiology and Medicine, in: advances in immunology. Pub Academic Press Inc. 33, 167-240.
7. Conrad, K., Schöbler, W., Hiepe, F., Fritzler M. (2002) Autoantibodies in systemic autoimmune disease. A diagnostic Reference. Autoantigens, autoantibodies, autoimmunity. Edi. PABST. 2, 21
8. Gutiérrez, V., Romero, M.C., Felipe, O.J., Santos, A.M, Valle O.R., and Londoño J. (2007). Capacidad de las células Hep-2, Hep-2000® Inmunofluorescencia y Hep-2000® Colorzyme, en la determinación de ANAS y SSA/Ro en la evaluación inicial en pacientes con Enfermedad del Tejido Conectivo no Diferenciada. *Revista Colombiana de Reumatología.* 14, 11-22.
9. Andrade, L.E.C., Damoiseaux, J., Vergani, D., Fritzler, M.J. (2022) Antinuclear antibodies (ANA) as a criterion for classification and diagnosis of systemic autoimmune diseases. *J Transl Autoimmun.* 5, 100145.
10. Pagola-Santander, L., Núñez Álvarez, C.A., Martínez Castillo, A., Hernández-Ramírez, D.F., Cabral, A.R., García Hernández, J.L. (2009). Caracterización inmunológica de los patrones de inmunofluorescencia (IFI) moteado fino y moteado grueso en pacientes con enfermedades autoinmunes. *Reumatol Clin.* 5, 55.
11. Cabiedes, J., Núñez-Álvarez, C.A. (2010) Anticuerpos antinucleares [Antinuclear antibodies]. *Reumatol Clin.* 6, 224-230.
12. Chan, E.K.L., von Mühlen, C.A., Fritzler, M.J., Damoiseaux, J., Infantino, M., Klotz, W., Satoh, M., Musset, L., García-De La Torre, I., Carballo, O.G., Herold, M., de Melo-Cruvinel, W., Mimori, T., Conrad, K., Andrade, L.E.C. ICAP Committee. (2022) The International Consensus on ANA Patterns (ICAP) in 2021—The 6th Workshop and Current Perspectives, *The Journal of Applied Laboratory Medicine.* 7, 322–330.



**DRA. LAURA PEREZ-CAMPOS
MAYORAL**
ORCID: 0000-0003-4140-4661

Médico Cirujano, egresada de la Facultad de Medicina y Cirugía de la Universidad Autónoma Benito Juárez de Oaxaca, con especialidad en Patología Clínica en la Universidad Popular Autónoma del Estado de Puebla, Doctorado en Desarrollo Regional y Tecnológico, línea Bioquímica, Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Oaxaca y Doctorado en Ciencias Médicas y Biológicas de la Facultad de Medicina y Cirugía de la Universidad

Autónoma Benito Juárez de Oaxaca. Línea de Investigación basada en Biomedicina, hemostasia, enfermedades metabólicas y sindémicas.

Su productividad académica consta de 20 artículos de investigación internacional, autor de 2 libros de Patología Clínica y 13 capítulos de libro. Miembro del Sistema Nacional de Investigadores Nivel 1 (SNI1). Ha impartido la cátedra de Laboratorio Clínico y Patología Clínica desde el 2003 a los alumnos de licenciatura de Médico Cirujano en la UABJO, Integrante del NAB de los programas PNPC de Biociencias y Biomedicina Experimental.

Es Coordinadora del Doctorado en Ciencias Médicas y Biológicas en la misma Institución. Integrante del Comité Editorial de la Revista Biomédica “Guenda”. Es líder Cuerpo Académico UABJO-CA-56 Biomedicina Experimental, el cual está en nivel consolidado.

Entre los productos de sus líneas de investigación se hayan 50 publicaciones que respaldan los proyectos dirigidos, a nivel licenciatura, maestría, doctorado y posdoctorado tanto con artículos originales, de revisión y capítulos de libro.