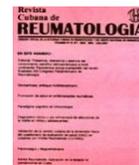


Revista Cubana de *Reumatología*

Órgano oficial de la Sociedad Cubana de Reumatología y el Grupo Nacional de Reumatología
Volumen 20, Número 1; 2018 ISSN: 1817-5996
www.revreumatologia.sld.cu



ARTÍCULO DE REVISIÓN

El valor de los autoanticuerpos: de la teoría al laboratorio clínico

The value of autoantibodies: from the theory to the clinical laboratory

Christian Blas La Rosa Fabian ^I

^I Médico Patólogo Clínico. Área de Autoinmunidad. Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica. Hospital Nacional Dos de Mayo. Lima, Perú.

RESUMEN

La prueba de autoanticuerpos es cada vez más relevante en el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes. Como consecuencia, la detección de autoanticuerpos se reconoce cada vez más en los criterios de clasificación y las directrices de diagnóstico. Es importante conocer la presencia de los autoanticuerpos naturales y las características que permiten su diferenciación con los autoanticuerpos patológicos. Varias características especiales de los autoanticuerpos y el desarrollo de nuevas metodologías hacen que la interpretación correcta de los resultados de las pruebas de anticuerpos sea cada vez más difícil. En este artículo se revisa las características del autoanticuerpo, su reconocimiento como un analito heterogéneo y su implicancia en los métodos de detección, así como la utilidad en la práctica clínica.

Palabras clave: autoanticuerpos, enfermedad autoinmune, métodos inmunológicos, laboratorio clínico.

ABSTRACT

Testing for autoantibodies is becoming more and more relevant, for diagnosing autoimmune disease. As a consequence, the detection of autoantibodies is increasingly recognized in classification criteria and diagnostic guidelines. It is important to know the presence of natural autoantibodies and the

characteristics that allow their differentiation with pathological autoantibodies. Several special features of the autoantibodies and the development of new methodologies make the correct interpretation of the results of the antibody tests more and more difficult. In this article we review the characteristics of the autoantibody, its recognition as a heterogeneous analyte and its implication in the detection methods, as well as the utility in the clinical practice.

Keywords: autoantibodies, autoimmune diseases, immunological methods, clinical laboratory.

INTRODUCCIÓN

Los primeros autoanticuerpos se descubrieron a fines de 1940, cuando tanto los anticuerpos antinucleares (ANA) como el factor reumatoideo (FR) se describieron como factores séricos que podrían unirse a antígenos nucleares e inmunoglobulinas, respectivamente.^{1,2} ANA y FR se reconocieron como características diagnósticas de lupus eritematoso sistémico (LES) y Artritis reumatoidea (AR), respectivamente, y como contribuyentes a la patogénesis de la enfermedad. Ahora es cada vez más claro que los autoanticuerpos juegan un papel fundamental en la patogénesis de muchas enfermedades y que los autoanticuerpos median tanto la inflamación sistémica como la lesión tisular.³

DESARROLLO

El sistema inmunológico tiene una capacidad extraordinaria para prevenir que los auto-antígenos estimulen una reacción inflamatoria; la presencia de autoanticuerpos es, por lo tanto, la consecuencia de una ruptura o falla de la tolerancia de células B hacia los autoantígenos correspondientes.

El desarrollo de células B tiene lugar en la médula ósea de las células madre hematopoyéticas; la primera etapa de su maduración (tolerancia central) implica el reordenamiento de la cadena pesada de la Inmunoglobulina. Esta fase, independiente de los antígenos, requiere una estrecha interacción con las células del estroma de la médula ósea, lo que genera una secuencia que conduce a la generación de una proteína de la superficie celular: el receptor de células pre-B (BCR). Este complejo regula el desarrollo posterior de la célula B y determina su reactividad. El entrecruzamiento BCR por autoantígenos de alta avidéz impulsa las células B a la edición de receptores, un proceso que a través del reordenamiento de los genes de la cadena ligera, permite la sustitución de receptores auto-reactivos con receptores no reactivos. Aquellas células B que todavía muestran Ig autorreactivas después de la edición del receptor morirán por apoptosis, mientras que las células B que sobreviven al desarrollo en los órganos linfoides centrales migran a la periferia donde se completará su maduración a células B naive inmunocompetentes.⁴

El homing de linfocitos en el tejido linfoide periférico es controlado por quimiocinas, pero los mecanismos implicados todavía son en parte desconocidos. Los linfocitos B expresan constitutivamente el receptor de quimioquina CXCR5 y son atraídos a los folículos por el ligando de este receptor CXCL13 también llamado quimiocina de linfocitos B (BLC), muy probablemente secretada por la célula dendrítica folicular. La producción de CXCL13 contribuye al reclutamiento de células B desde la circulación hacia el ganglio linfático. En contraste, las células B que no entran en los folículos linfoides morirán dentro de 3 días.

En este punto una gran cantidad de linfocitos reactivos han sido eliminados de la población. Sin embargo existen linfocitos autoreactivos capaces de madurar y salir a circulación porque la afinidad con que realizan el reconocimiento de un autoantígeno es menor, permitiéndoles escapar del proceso de apoptosis; y es sobre esta población que actúan los mecanismos de tolerancia periférica entre los que se incluyen la anergia clonal, que es una inactivación funcional de linfocitos autoreactivos sin muerte celular, mecanismo que sería generado por una activación incompleta dada por la ausencia de la segunda señal o señal coestimuladora. La supresión, que sería llevada a cabo por los llamados Linfocitos Reguladores mediante la secreción de citoquinas o vía contacto directo célula a célula; y la ignorancia inmunológica, que consiste en una ausencia de respuesta inmune cuyo mecanismo exacto aún desconocido, pero se cree tendría relación con la presencia de antígenos crípticos u ocultos para el sistema inmune como lo conforman los antígenos oculares o testiculares.⁵

El fallo de la maduración de tolerancia tanto central como periférica conduce a un aumento del número de células B circulantes autoreactivas, lo que favorece el desarrollo de la autoinmunidad.⁶

Mientras la autoinmunidad es un fenómeno fisiológico, la enfermedad autoinmune es un síndrome clínico causado por la pérdida de la tolerancia inmune, caracterizada por la activación de las células de T o de las células de B, o ambas, que conducen a daño tisular en ausencia de una causa evidente. El Mosaico de autoinmunidad describe cómo se manifiestan las enfermedades autoinmunes. Este mosaico divide los factores causantes de enfermedades autoinmunes en cuatro grupos: genéticos, defectos del sistema inmune, ambientales y hormonales.^{7,8}

Autoanticuerpos Naturales

La síntesis de anticuerpos es una forma vital en la que el sistema inmune adaptativo funciona para el reconocimiento y respuesta a amenazas externas. Algunos anticuerpos que están presentes en sueros de individuos sanos, fuera de la inmunización con cualquier antígeno, y reaccionan con una variedad de antígenos endógenos y exógenos, se consideran autoanticuerpos naturales (AAN).⁹ Boyden mencionó por primera vez el término "autoanticuerpos naturales" en 1963, después de haber identificado respuestas autorreactivas en sueros de personas sanas.

La mayoría de los AAN son en particular isotipo IgM y muestran una afinidad baja por autoantígenos. Se considera que los AAN están presentes desde el nacimiento, representan una proporción sustancial de los anticuerpos normales, y contribuyen a la estimulación del sistema innato primitivo.¹⁰

Una de las características clave es la polireactividad de baja afinidad, lo que significa que cada AAN es capaz de unirse a muchos antígenos diferentes, estructuralmente no relacionados, muchos de los cuales están dirigidos a constituyentes intracelulares. Esta capacidad es crucial para que los AAN funcionen como parte del sistema inmune innato, así como su papel en el aclaramiento y eliminación de desechos celulares tras la apoptosis.^{11,12}

Los AAN de tipo IgM son producidos por los linfocitos B1 e intervienen en la defensa contra las infecciones sistémicas bacterianas y virales. Los linfocitos B1 son células de presentación de antígenos muy eficientes y pueden tener un papel importante en la síntesis de autoanticuerpos patógenos reportados en pacientes con enfermedades autoinmunes, como artritis reumatoide, síndrome de Sjögren, síndrome antifosfolípido primario y lupus sistémico.¹³

Los antígenos desencadenantes de los autoanticuerpos pueden encontrarse en todos los tipos de células (por ejemplo, cromatina) o ser altamente específicos para cierto tipo de células en un órgano

del cuerpo (por ejemplo, tiroglobulina en las células de la glándula tiroides). Se pueden representar por proteínas séricas, ácidos nucleicos, carbohidratos, lípidos, eritrocitos, componentes celulares, insulina.

La pregunta de si los AAN son un desencadenante de la autoinmunidad o más bien tienen un papel protector aún está en debate. Las funciones no son claras, pero es bien aceptado que pueden participar en diferentes tipos de actividades, como el mantenimiento de la homeostasis inmune, la regulación de la respuesta inmune, la resistencia a las infecciones, el transporte y la modulación funcional de las moléculas biológicamente activas.¹⁴

Los AAN puede estar implicada en la eliminación de desechos celulares durante la inflamación; autoanticuerpos a citocinas inflamatorias podría proteger contra la inflamación crónica.¹⁵

Varios informes apoyan la idea de que los AAN contribuyen a la mejora de las funciones primitivas innatas y están involucrados en la modulación de los trastornos neurodegenerativos y neoplásicos, en la injuria por isquemia/reperfusión y la aterosclerosis.¹⁶

Como cualquier otra variable biológica, la concentración sérica, la avidez y el espectro de autoanticuerpos naturales varía entre los individuos, de modo que el nivel de "auto-reactividad" fisiológica individual es variable.

Autoanticuerpos Patológicos

Los límites entre la autorreactividad natural y la autoinmunidad patológica siguen siendo inciertos. Las enfermedades autoinmunes se caracterizan por una respuesta inmune sostenida y persistente contra los constituyentes de sí mismos y por una ruptura de la tolerancia. Las características comunes de todas las enfermedades autoinmunes son la síntesis de autoanticuerpos, la intervención de linfocitos T autoreactivos y la participación de la inflamación. Los mecanismos de daño tisular en enfermedades autoinmunes son esencialmente los mismos que los que operan en inmunidad protectora y en enfermedades de hipersensibilidad.

Si los AAN, principalmente IgM, proporcionan una primera línea de defensa contra las infecciones y contribuyen a la homeostasis del sistema inmune, los autoanticuerpos patológicos son de isotipo IgG, con alta avidez y mayor concentración sérica. [Tabla 1]

Tabla 1. Diferencias entre autoanticuerpos naturales y patológicos.

Características	Autoanticuerpos naturales	Autoanticuerpos patológicos
Títulos en Suero	Bajos	Altos
Isotipo	IgM>IgG>IgA	IgG>IgM>IgA
Especificidad del antígeno	Bajos	Altos
Región V	Línea germinal	Mutación somática

La designación de "autoanticuerpos patológicos" se refiere al hecho de que estos son anticuerpos asociados con la enfermedad y no implica que tengan necesariamente un efecto patógeno.

Los autoanticuerpos son elementos importantes en varios aspectos de las enfermedades autoinmunes. Algunos autoanticuerpos se producen en el contexto de diversas enfermedades autoinmunes, mientras que otros son biomarcadores diagnósticos específicos para un conjunto restringido o una única enfermedad autoinmune sistémica. Estos son designados como autoanticuerpos específicos de la enfermedad.

Las enfermedades autoinmunes pueden clasificarse como específicas de órganos o no específicas de órganos, dependiendo de si la respuesta autoinmune está dirigida contra un tejido particular.

Se han descrito varias clases de autoanticuerpos con especificidad para diferentes tipos de enfermedades autoinmunes. Por ejemplo, en el Lupus eritematoso sistémico se han identificado anti-DNAs, anti-Sm y anticuerpos anti-Proteína P ribosomal; en la esclerodermia se han encontrado anticuerpos anti-topoisomerasa I (Scl-70); en la polimiositis y dermatomiositis se han identificado anti-Jo-1.¹⁷

Además, se han encontrado autoanticuerpos con especificidad de órganos en enfermedades autoinmunes organoespecíficas (por ejemplo, en la tiroiditis se han encontrado anticuerpos anti peroxidasa tiroidea, en la diabetes mellitus tipo 1 se han encontrado autoanticuerpos anti insulina y ácido glutámico descarboxilasa, en cirrosis biliar primaria han sido detectados autoanticuerpos anti-mitocondriales).¹⁸ [Tabla 2]

Tabla 2. Autoanticuerpos asociados con enfermedades autoinmunes organoespecíficas.

Acuaporina 4	Neuromielitis óptica
Célula corteza suprarrenal	Enfermedad de Adisson
Factor intrínseco	Anemia Perniciosa
Glutamato descarboxilasa (GAD)	Diabetes Mellitus Tipo 1
Membrana basal glomerular (MBG)	Síndrome de Goodpasture
Mitocondria (AMA)	Cirrosis biliar primaria
Peroxidasa tiroidea (TPO)	Tiroiditis de Hashimoto
Receptores de acetilcolina (AChR)	Miastenia gravis
Receptor de TSH	Enfermedad de graves
Transglutaminasa Tisular	Enfermedad celiaca

Autoanticuerpos como analitos.

La mayoría de los analitos identificados en el laboratorio clínico tienen una naturaleza molecular homogénea. Esto significa que la misma molécula está presente en muestras biológicas de todos los individuos. Ejemplos de analitos homogéneos glucosa, potasio, ácido láctico.

A diferencia de los analitos homogéneos, los anticuerpos contra cualquier antígeno dado representan una respuesta humoral policlonal y moléculas diferentes que comparten la característica única de unión a ese antígeno dado. Es importante destacar que estos anticuerpos policlonales varían con respecto al

isotipo, afinidad, punto isoeléctrico, glucosilación de cadena pesada y concentración en suero. Además, existe una considerable heterogeneidad en los epítopes moleculares a los que se dirigen dentro de la misma molécula de antígeno. Esta gran heterogeneidad significa que no hay dos individuos que presenten una respuesta policlonal idéntica al mismo antígeno. En otras palabras, la colección de anticuerpos anti-Scl70 en el paciente A con esclerodermia debe ser diferente de los anticuerpos anti-Scl70 del paciente B con esclerodermia.

La naturaleza heterogénea de los anticuerpos plantea cierta dificultad en el diseño de ensayos para su determinación y cuantificación en muestras biológicas. Cualquier plataforma metodológica para la determinación de anticuerpos a un antígeno dado privilegiará la detección de una cierta colección de anticuerpos en deterioros de otros. Esto significa que cualquier ensayo de laboratorio puede detectar y cuantificar correctamente los anticuerpos relevantes en algunas muestras, pero no en otros. También significa que ningún método de laboratorio tendrá un rendimiento óptimo para las muestras de todos los pacientes.

Las metodologías de laboratorio para la determinación de autoanticuerpos aprovechan el hecho de que los autoanticuerpos patológicos generalmente representan mayor concentración sérica y mayor avidéz que los autoanticuerpos naturales. Por lo tanto, el nivel de umbral analítico para la detección de autoanticuerpos debe estar por encima de la avidéz sérica y rangos de concentración de autoanticuerpos naturales, de modo que la mayoría de las muestras reactivas pertenecerán a pacientes con la enfermedad autoinmune relevante. Es importante enfatizar que el umbral analítico se determina no sólo por el corte en la concentración sérica sino también por el corte en términos de avidéz del anticuerpo. En los ensayos con una sensibilidad muy alta (capacidad de detectar anticuerpos en baja concentración sérica y baja avidéz), una fracción significativa de muestras de individuos sin enfermedad autoinmune será reactivo debido a la reactividad de autoanticuerpos naturales y reactividad cruzada de anticuerpos.

La detección de los autoanticuerpo comenzó a través de métodos in-house en laboratorios de investigación dedicados a la autoinmunidad realizados por personal experto, siendo pocos laboratorios y con un bajo grado de estandarización.^{19,20}

Uno de los métodos iniciales y predominantes que permitieron la detección de los autoanticuerpos en las enfermedades reumáticas autoinmunes sistémica fue la inmunodifusión en gel de agarosa. Las asociaciones clínicas conocidas, la sensibilidad y la especificidad clínicas de la mayoría de estos autoanticuerpos se establecieron basándose en esta metodología. Progresivamente, se establecieron otras plataformas metodológicas basadas en una serie de ensayos en fase sólida como inmunoensayo ligado a enzimas (ELISA), hemaglutinación, inmunoblot y cartometría de flujo.²¹⁻²³

Existe una gran variedad de kits comercialmente disponibles, sin embargo múltiples productos no han sido calibrados usando un estándar común. Las unidades arbitrarias, los cut-off y el rango de detección son únicos para cada marca. Además los ensayos de diferentes marcas destinadas a determinar un determinado autoanticuerpo muestra diferentes sensibilidades y especificidades.^{24,25}

De hecho, la amplia variabilidad en los parámetros técnicos que comprenden estos inmunoensayos implica que el kit A destinado a determinar autoanticuerpos a un autoantígeno dado detectará un conjunto de autoanticuerpos que es diferente del kit B. Esto se demostró en un estudio en el que siete kits aprobados por la FDA fueron probados en una cohorte de pacientes con diagnóstico bien definido para seis autoanticuerpos: anti-Sm, anti-RNP, anti-SSa, anti-SSb, anti-Scl70 y anti Jo-1 mostrando un grado extremadamente alto de no concordancia en los resultados positivos.²⁶

Como se ha mencionado los autoanticuerpos en las enfermedades reumáticas autoinmunes sistémicas se establecieron originalmente utilizando métodos de precipitación como la inmunodifusión en gel. Dado que esta metodología proporciona un resultado cualitativo son reportados como positivos o negativos para un autoanticuerpo dado. Los criterios de clasificación para algunas enfermedades incluyen la presencia o ausencia de un autoanticuerpo. Esto no ha sido el caso con los autoanticuerpos que se establecieron originalmente utilizando métodos cuantitativos o semi-cuantitativos, como fue el caso de los anticuerpos anti-fosfolípidos. La dimensión cuantitativa de los anticuerpos anti-cardiolipina ha sido apreciada en la práctica clínica y en el establecimiento de criterios de clasificación, donde se requieren niveles séricos > 40 GPL o MPL o > 99 th percentil para el cumplimiento del criterio serológico.²⁷

Metodologías en fase solidas son capaces de detectar autoanticuerpos de menor concentración y con baja avidéz, si utilizamos un enfoque cualitativo, las muestras con resultado reactivo débil, moderado o fuerte en ELISA se clasificarían como "positivas", no siendo adecuado ya que el significado clínico de muestras con resultado reactivo débil y reactivo fuerte tiende a ser diferente. Por lo que es necesario el reporte cuantitativo en ensayos sensibles de fase sólida.

Autoanticuerpos en la práctica clínica

Los autoanticuerpos se utilizan como marcadores serológicos si existe una asociación significativa entre su expresión y una enfermedad definida y / o características especiales de la enfermedad como curso, manifestaciones de órganos, actividad, respuesta al tratamiento. El rol tradicional de los autoanticuerpos en el diagnostico es la discriminación de una enfermedad autoinmune de una no autoinmune. Debido a que muchos autoanticuerpos específicos son detectables en etapas tempranas de la enfermedad, su determinación es muy útil para hacer un diagnóstico definitivo de la enfermedad tan pronto como sea posible.

Porque solicitar un autoanticuerpo, para esto hay que saber cómo nos es útil el autoanticuerpo en el contexto de la enfermedad, hacer o excluir un diagnóstico, definir una subgrupo especial de la enfermedad o síndrome, ayuda en el pronóstico o es útil en el monitoreo de la enfermedad. [Tabla 3]

Tabla 3. Utilidad de los autoanticuerpos.

1.- En el diagnostico
2.- Definir un subgrupo especial de la enfermedad o síndrome
3.- Definir pronostico
4.- Actividad de la enfermedad

La utilidad de los autoanticuerpos en el diagnóstico se ha potenciado mediante la inclusión de nuevos autoanticuerpos en los criterios de clasificación como para la artritis reumatoide los anticuerpos anti péptido citrulinado, esclerosis sistémica los anticuerpos anti-RNA polimerasa III y enfermedad celiaca los anticuerpos anti-transglutaminasa tisular.²⁸⁻³⁰

También puede ser útil como requisito previo para el tratamiento. Por ejemplo, se ha demostrado que el tratamiento con fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad, iniciado dentro de los 3

meses posteriores a la aparición de los síntomas de la AR, es beneficioso cuando se compara con un retraso corto de dicha terapia.³¹

CONCLUSIONES

Dado que el cuadro clínico de la enfermedad autoinmune sistémica temprana no siempre es característico y los criterios de clasificación con frecuencia no se cumplen en las primeras etapas de la enfermedad, se requieren pruebas para detección de autoanticuerpos con alta especificidad diagnóstica y altos valores predictivos. Tales ensayos también pueden reemplazar técnicas de diagnóstico más invasivas y costosas. Además, algunos autoanticuerpos son predictores de ciertas manifestaciones de órganos y pueden ayudar en el reconocimiento temprano de complicaciones fatales de enfermedades sistémicas como la hipertensión pulmonar o la crisis renal. Por ejemplo, anticuerpos anti-U3-RNP está fuertemente asociado con hipertensión pulmonar en pacientes con esclerosis sistémica.³²

Dado que el bloqueador de los receptores de la endotelina se convirtió en una terapia exitosa de hipertensión pulmonar, el autoanticuerpo junto con la evaluación de otros factores de riesgo puede ser útil en las decisiones terapéuticas. La terapia temprana posiblemente puede prevenir, retrasar o atenuar esta complicación grave. Aparte de los propósitos diagnósticos y pronósticos, la detección de autoanticuerpos en serie puede ser útil en el seguimiento de la actividad de la enfermedad y la respuesta terapéutica.³³

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Robbins WC, Holman HR, Deicher H, Kunkel HG. Complement fixation with cell nuclei and DNA in lupus erythematosus. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1957;96(3):575-9.
2. Miescher P, Fauconnet M. Absorption of L. E. factor by isolated cell nuclei. *Experientia*. 1954;10(6):252-3.
3. Mackay IR. Travels and travails of autoimmunity: a historical journey from discovery to rediscovery. *Autoimmun Rev*. 2010;9(5):A251-A258.
4. Patakas A, Benson RA, Withers DR, Conigliaro P, McInnes IB, Brewer JM, et al. Th17 effector cells support B cell responses outside of germinal centres. *PLoS One*. 2012;7: e49715.
5. Matzinger P. Tolerance, damage, and the extended family. *Annual Review of Immunology*. 1994;12:991-1045.
6. Taylor JJ, Martinez RJ, Titcombe PJ, Barsness LO, Thomas SR, Zhang N, et al. Deletion and anergy of polyclonal B cells specific for ubiquitous membrane-bound self-antigen. *J Exp Med*. 2012;209:2065-77.
7. Shoenfeld Y, Isenberg DA. The mosaic of autoimmunity. *Immunol Today*. 1989;10:123-6.
8. Amital H, Eric Gershwin M, Shoenfeld Y. Reshaping the mosaic of autoimmunity. *Semin Arthritis Rheum*. 2006;35:341-3.

9. George J, Gilburd B, Shoenfeld Y. The emerging concept of pathogenic natural autoantibodies. *Hum Antibodies*. 1997;8(2):70-5.
10. Elkon K, Casali P. Nature and functions of autoantibodies. *Nat Clin Pract Rheumatol*. 2008;4(9):491-8.
11. Chen C, Stenzel-Poore MP, Rittenberg MB. Natural auto- and polyreactive antibodies differing from antigen-induced antibodies in the H chain CDR3. *J Immunol*. 1991;147:2359-67.
12. Notkins AL. Polyreactivity of antibody molecules. *Trends Immunol*. 2004;25:174-9.
13. Mahler M, Pierangeli S, Meroni PL, Fritzler MJ. Autoantibodies in systemic autoimmune disorders. *J Immunol Res*. 2014;2014:1-2.
14. Shoenfeld Y, Toubi E. Protective autoantibodies: role in homeostasis, clinical importance, and therapeutic potential. *Arthritis Rheum*. 2005;52(9):2599-606.
15. Wildbaum G, Nahir MA, Karin N. Beneficial autoimmunity to proinflammatory mediators restrains the consequences of self-destructive immunity. *Immunity*. 2003;19(5):679-88.
16. Rahyab AS, Alam A, Kapoor A, Zhang M. Natural antibody – biochemistry and functions. *Glob J Biochem*. 2011;2(4):283-8.
17. Lane SK, Gravel JW Jr. Clinical utility of common serum rheumatologic tests. *Am Fam Physician*. 2002;65(6):1073-80.
18. Bizzaro N. The predictive significance of autoantibodies in organ-specific autoimmune diseases. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2008;34(3):326-31.
19. Alspaugh MA, Tan EM. Antibodies to cellular antigens in Sjogren's syndrome. *J Clin Invest*. 1975;55:1067-73.
20. Kurata N, Tan EM. Identification of antibodies to nuclear acidic antigens by counterimmunoelectrophoresis. *Arthritis Rheum*. 1976;19:574-80.
21. Martins TB, Burlingame R, von Muhlen CA, Jaskowski TD, Litwin CM, Hill HR. Evaluation of multiplexed fluorescent microsphere immunoassay for detection of autoantibodies to nuclear antigens. *Clin Diagn Lab Immunol*. 2004;211:1054-9.
22. Desplat-Jego S, Bardin N, Larida B, Sanmarco M. Evaluation of the BioPlex 2200 ANA screen for the detection of antinuclear antibodies and comparison with conventional methods. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1109:245-55.
23. Hanly JG, Thompson K, McCurdy G, Wilton K. Measurement of autoantibodies using multiplex methodology in patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol Methods*. 2010;352:147-52.
24. Copple SS, Martins TB, Masterson C, Joly E, Hill HR. Comparison of three multiplex immunoassays for detection of antibodies to extractable nuclear antibodies using clinically defined sera. *Ann N Y Acad Sci*. 2007;1109:464-72.

25. Eissfeller P, Sticherling M, Scholz D, Hennig K, Lüttich T, Motz M, et al. Comparison of different test systems for simultaneous autoantibody detection in connective tissue diseases. *Ann N Y Acad Sci.* 2005;1050:327-39.
26. Pereira KM, Dellavance A, Andrade LE. The challenge of identification of autoantibodies specific to systemic autoimmune rheumatic diseases in high throughput operation: proposal of reliable and feasible strategies. *Clin Chim Acta.* 2014;437:203-10.
27. Conrad K, Andrade LEC, Chan EKL, Pruijn GJM, Steiner G, Shoenfeld Y (eds). *From Autoantibody Research to Standardized Diagnostic Assays in the Management of Human Diseases, Report on the 12th Dresden Symposium on Autoantibodies.* Lengerich: Ed. Pabst Science Publishers; 2015.
28. Aletaha D, Neogi T, Silman AJ, Funovits J, Felson DT, Bingham 3rd CO, et al. 2010 rheumatoid arthritis classification criteria: an American College of Rheumatology/ European League Against Rheumatism collaborative initiative. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:1580-8.
29. 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. *Ann Rheum Dis.* 2013;72:1747-55.
30. Husby S, Koletzko S, Korponay-Szabó IR, Mearin ML, Phillips A, Shamir R, et al. European Society for Pediatric Gastroenterology, Hepatology, and Nutrition guide- lines for the diagnosis of coeliac disease. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2012;54:136-60.
31. Nell VP, Machold KP, Eberl G, Stamm TA, Uffmann M, Smolen JS. Benefit of very early referral and very early therapy with disease-modifying anti-rheumatic drugs in patients with early rheumatoid arthritis. *Rheumatology.* 2004;43:906-14.
32. Steen V, Medsger Jr TA. Predictors of isolated pulmonary hypertension in patients with systemic sclerosis and limited cutaneous involvement. *Arthritis Rheum.* 2003;48:516-22.
33. Conrad K, Roggenbuck D, Reinhold D, Sack U. Autoantibody diagnostics in clinical practice. *Autoimmun Rev.* 2012;11:207-11.

El autor refiere no tener conflicto de intereses.

Recibido: 4 de noviembre de 2017

Aprobado: 8 de diciembre de 2017

Autor para la correspondencia: Dr. Christian Blas La Rosa Fabián. Correo electrónico:

Chris_blas@hotmail.com

Departamento de Patología Clínica y Anatomía Patológica. Hospital Nacional Dos de Mayo. Lima, Perú.