



Seroprevalencia de anticuerpos antinucleares en donadores de sangre del valle del Yaqui

RESUMEN

Antecedentes: los anticuerpos antinucleares son inmunoglobulinas que reconocen componentes celulares nucleares y citoplasmáticos autólogos. En personas sanas no se relacionan con alguna enfermedad autoinmune; sin embargo, pueden estar vinculados con un fenotipo inmunológico de riesgo que no ha sido suficientemente estudiado.

Objetivo: examinar la existencia de anticuerpos antinucleares en el suero de donadores de sangre.

Material y métodos: estudio transversal y analítico en búsqueda de anticuerpos antinucleares en suero mediante inmunofluorescencia indirecta en células HEP-2. La prevalencia y patrón de expresión se contrastaron con la edad, el género y los antecedentes de enfermedad reumática o tiroidea.

Resultados: se estudiaron 379 donadores de sangre con límites de edad entre 18 y 65 años. La prevalencia de anticuerpos antinucleares en la población estudiada fue de 13%. La mayoría de los sujetos positivos tenía entre 21 y 40 años de edad. El género masculino expresó mayor proporción de positividad (11%) en comparación con las mujeres (2%). De la misma forma, 82% de los hombres tenía títulos bajos (1:80) y en 66% eran de tipo nucleolar (RM = 10.66 [1.83 a 62.18]; $p = 0.007$).

Conclusiones: en individuos sanos, la existencia de anticuerpos antinucleares a títulos bajos puede no significar un estado de autoinmunidad; sin embargo, podría ser el reflejo de una exposición a factores ambientales que no han sido lo suficientemente estudiados. Es necesario realizar nuevos estudios en población sana que permitan explicar la asociación entre estos anticuerpos y los factores tóxico-ambientales, así como sus efectos en la salud.

Palabras clave: anticuerpo antinuclear, donador de sangre, respuesta autoinmunitaria.

Seroprevalence of antinuclear antibodies in blood donors in the Yaqui Valley

ABSTRACT

Background: Antinuclear antibodies are immunoglobulins that recognize autologous nuclear and cytoplasmic cellular components. In healthy persons they are not associated with autoimmune disease. However, they may be related to an immune risk phenotype that has not been sufficiently studied. We undertook this study to examine the presence of antinuclear antibodies in serum from blood donors.

Ricardo Serrano-Osuna¹
Rocío Milagro López-López²
Olga Rosa Brito-Zurita³
Enrique Sabag-Ruiz⁴
Héctor Pérez-Fernández⁵
José Manuel Ornelas-Aguirre⁶

¹ Departamento de Patología Clínica.

² Servicio de Medicina Interna.

³ Dirección de Educación e Investigación en Salud.

⁴ Departamento de Salud en el Trabajo.

⁵ Banco de Sangre.

Hospital de Especialidades núm. 2, Unidad Médica de Alta Especialidad, Centro Médico Nacional del Noroeste; Ciudad Obregón, Sonora, México.

⁶ Departamento de Ciencias de la Salud, Universidad de Sonora, Campus Cajeme, Ciudad Obregón.

Recibido: 25 de septiembre, 2013

Aceptado: 14 de mayo, 2014

Correspondencia:

Dr. José Manuel Ornelas Aguirre
Blvd. Bordo Nuevo S/N. Antiguo Ejido Providencia,
85010 Ciudad Obregón, Sonora, México.
Tel.: (64) 4462 0471
jmoapat@gmail.com

Methods: Cross-sectional study on 379 blood donors between 18 and 65 years old. Serum for the presence of antinuclear antibodies by indirect immunofluorescence in HEp-2 cells was analyzed. The prevalence and pattern of expression were compared with age, gender, and history of rheumatic or thyroid disease.

Results: Prevalence of antinuclear antibodies in the study population was 13%. Most of the positive subjects were between 21 and 40 years old. Male gender expressed a greater proportion of positivity (11%) than females (2%). Likewise, 82% of males had low titers (1:80) and nucleolar type in 66% of cases (OR = 10.66 [1.83 to 62.18], $p = 0.007$).

Conclusions: The presence of antinuclear antibodies in healthy individuals at low levels may not mean an autoimmune condition; however, it could reflect exposure to environmental factors that have not been sufficiently studied. New studies of healthy individuals are necessary in order to explain the association between the presence of these antibodies and toxic and environmental factors and their effects on health.

Key words: Antinuclear antibody, blood donor, autoimmune response.

ANTECEDENTES

La mayoría de los individuos con enfermedades del tejido conectivo tiene respuesta inmunitaria.¹ Los anticuerpos antinucleares son inmunoglobulinas que reconocen componentes celulares autólogos (nucleares y citoplasmáticos).² Su detección es importante no sólo para el diagnóstico, sino también para el estudio de la evolución de enfermedades donde su expresión es común, como: artritis reumatoide, síndrome de Sjögren, cirrosis pancreática, hepatitis crónica y *miastenia gravis*, entre otras.²

Es bien conocido que en personas sanas y en sujetos con infecciones activas, estos anticuerpos pueden existir en títulos inferiores a lo reportado en las enfermedades del tejido conectivo.³

Ahora se sabe que la prevalencia de autoanticuerpos en individuos sanos aumenta con la edad, así como con aberraciones inmunoló-

gicas celulares y tumorales.⁴ Estudios previos reportan una prevalencia de 4 a 13% en personas sanas,^{5,6} y mayor en mujeres, sin que haya una explicación clara a este hecho.⁷ Entre las posibles teorías se menciona un mayor estrés oxidativo, la edad, factores tóxico-ambientales externos, el envejecimiento, la carcinogénesis, así como enfermedades neurodegenerativas y cardiovasculares.⁸

Es conocido que durante el proceso de envejecimiento celular ocurren alteraciones en la respuesta inmunitaria humoral con la formación de anticuerpos antinucleares, contra el ADN y el tejido tiroideo, que no se relacionan con enfermedad clínica,^{9,10} para lo cual, debería considerarse una corrección con la edad en la evaluación de los perfiles de autoanticuerpos.¹¹ No obstante, otros reportes han confirmado la presencia de autoanticuerpos en adultos,¹² posiblemente asociados con factores ajenos al huésped que no se han identificado,¹³ tales



como infecciones,¹⁴ medicamentos,¹⁵ tener un familiar con enfermedad de tejido conectivo¹⁶ o la exposición a compuestos químicos como pesticidas, por su elevado potencial tóxico y alérgico.^{17,18}

A pesar de lo mencionado, los anticuerpos antinucleares por sí solos no parecen ser capaces de causar enfermedad autoinmune;¹⁹ sin embargo, el aumento de su prevalencia en el adulto sano podría crear un fenotipo inmunológico de riesgo que no se ha estudiado a profundidad.²⁰

El objetivo de este estudio fue evaluar la presencia de anticuerpos antinucleares en suero de donadores de sangre en un hospital de tercer nivel de atención del noroeste de México y analizar las posibles asociaciones entre edad, género y antecedentes clínicos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Estudio transversal y analítico efectuado en sujetos sanos que acudieron a donar sangre al Hospital de Especialidades núm. 2 del Centro Médico Nacional del Noroeste en Ciudad Obregón, Sonora, México, entre junio de 2011 y febrero de 2012. Para su realización se solicitó autorización al Comité de Ética e Investigación del hospital (R-2011-2602-20). Todos los participantes dieron su consentimiento informado por escrito antes de incorporarse al estudio. A los investigadores se les proporcionó información común y estandarizada de las pruebas a efectuar.

Criterios de inclusión: no tener antecedentes de enfermedades infecciosas, cáncer ni farmacodependencia y haber vivido en el noroeste de México en los últimos tres años.

Se indagó acerca de antecedentes familiares de enfermedad reumática (artritis reumatoide, enfermedad de Sjögren y lupus eritematoso sistémico) o tiroidea (tiroiditis de cualquier tipo, bocio o neoplasias benignas).

Se obtuvo una muestra sanguínea de los donadores de sangre mediante venopunción aséptica utilizando un tubo de recolección al vacío, sin anticoagulante. La sangre se centrifugó durante 10 minutos a 2,000 rpm, y se separó el suero en alícuotas para realizar las pruebas de detección de autoanticuerpos el mismo día.

Detección de autoanticuerpos. Se eligió la técnica de inmunofluorescencia indirecta que, de acuerdo con Meroni y Schur,²¹ fue descrita por primera vez por Holbrow y colaboradores en 1957, en la que se usaron laminillas comerciales (Hemagen®) cubiertas con células HEp-2 (células epiteliales de carcinoma de laringe humano). El uso de células humanas garantiza la presencia de antígenos nucleares en una concentración que permite la confirmación de anticuerpos en el suero.

El suero se diluyó en una proporción de 1:40 con regulador de fosfatos (PBS) de pH 7.2. Los sueros diluidos se incubaron a temperatura ambiente durante 30 minutos sobre las laminillas. Después de la incubación, cada una de las laminillas se lavó con regulador de fosfatos durante 10 minutos en agitación continua, y se agregó un anticuerpo policlonal contra inmunoglobulinas humanas marcado con fluoresceína (FITC-1), y se incubaron 30 minutos más. Se llevó a cabo un lavado más con 20 mL de regulador de fosfatos por 10 minutos, al que se agregó una gota de azul de Evans como colorante de contraste. Finalmente, se visualizaron las laminillas a 100 aumentos en un microscopio estándar de fluorescencia. En caso de que la prueba resultara positiva a la dilución inicial (1:40), se efectuaban diluciones sucesivas a 1:80, 1:160, 1:320, etc., hasta la última dilución a la que se observara fluorescencia, y se registraba esta última. Con cada grupo de muestras se montó también un control positivo y otro negativo. El análisis se realizó siguiendo las instrucciones del fabricante.

El estudio fue aprobado por el Comité Local de Investigación en Salud 2602 del Hospital de

Especialidades núm. 2, Unidad Médica de Alta Especialidad del IMSS en el Centro Médico Nacional del Noroeste de Ciudad Obregón, Sonora, México. Los autores declaran haber seguido los protocolos establecidos por el Instituto Mexicano del Seguro Social para acceder a los datos de las personas incluidas en este estudio y que la información obtenida fue utilizada sólo con fines de divulgación científica. Todos los autores leyeron y aprobaron el manuscrito.

Análisis estadístico

La información se capturó en una base de datos diseñada para este propósito. Los datos se analizaron con el paquete estadístico SPSS para Windows®, versión 19.0. Para las variables numéricas y de razón, se calcularon frecuencias absolutas y relativas, promedio ± desviación estándar, con cálculo de intervalos de confianza al 95% (IC 95%). Un análisis intra-grupo se realizó con χ^2 de Pearson para las variables cualitativas, y las dicotómicas se expresaron mediante porcentajes. Se determinó un cálculo de riesgos por medio de razón de momios (RM). Se consideró un valor de $p \leq 0.05$ como estadísticamente significativo.

RESULTADOS

Se estudiaron 321 hombres (85%; IC 95% 81-88) y 58 mujeres (15%; IC 95% 6-25). La edad promedio de los donadores fue de 31 ± 9 años. Los antecedentes familiares para enfermedad reumática (3%) y enfermedad tiroidea benigna (0.5%) mostraron una baja prevalencia. De los 379 donadores de la muestra, 49 fueron positivos a anticuerpos antinucleares, lo que representa una prevalencia de 13% (IC 95%, 4 a 22; $p < 0.001$). Las características generales de los donadores se describen en el Cuadro 1.

De los 49 donadores, 48 (98%) tuvieron títulos de anticuerpos antinucleares positivos en una dilución 1:80. No se encontraron títulos superiores

Cuadro 1. Características generales de los donadores estudiados

	n= 379	F	%	IC 95%
Edad, $\mu \pm$ D.E.		31 ± 9		
Sexo				
Masculino	321		85	81 a 88
Femenino	58		15	6 a 25
Antecedentes				
Enfermedad reumática	10		3	-7 a 12
Enfermedad tiroidea	2		0.5	-9 a 10
Anticuerpos antinucleares				
(+)	49		13	4 a 22
(-)	330		87	83 a 91

F: frecuencia.

a 1:160 en la población estudiada, la cual podría considerarse como de valor intermedio para el diagnóstico de alguna enfermedad reumática. El patrón de expresión más frecuente fue el nucleolar, en 34 casos (70%), seguido del moteado fino en 11 sujetos (22%) y del anular en dos (4%). Los menos prevalentes fueron el centromérico (2%) y el moteado grueso (2%). La prevalencia de anticuerpos antinucleares positivos de los donadores se describe en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Prevalencia de anticuerpos antinucleares de los donadores sanos incluidos en el estudio

	n= 49	F	%	IC 95%
Título				
1:80	48		98	94 a 100
1:160	1		2	-2 a 6
Patrón				
Anular (homogéneo)	2		4	-1 a 10
Centromérico	1		2	-2 a 6
Moteado fino	11		22	11 a 34
Moteado grueso	1		2	-2 a 6
Nucleolar	34		70	56 a 82

F: frecuencia.



No se encontró asociación estadística para el género de los sujetos (RM: 0.91 [0.40 a 2.06]; $p = 0.485$). En cambio, se observó significancia estadística para una edad de entre 21 y 30 años (RM: 0.44 [0.22 a 0.87]; $p = 0.017$), con un coeficiente de correlación de Pearson significativo ($r = -0.130$), lo que sugiere una relación inversa entre rango de edad y la expresión de anticuerpos antinucleares. La prevalencia de riesgo para títulos de anticuerpos antinucleares positivos de acuerdo con género, edad y antecedentes se aborda en el Cuadro 3.

Al separar los 49 donadores con anticuerpos antinucleares por sexo, se encontró que 40 hombres (82%) y ocho mujeres (16%) tenían títulos de 1:80; RM = 0.83 [0.73 a 0.94]; $p = 0.837$. El único caso con título de 1:160 fue del sexo masculino. En relación con el patrón de expresión, el nucleolar fue más prevalente en el sexo masculino, con 32 sujetos (66%, RM = 10.66 [1.83 a 62.18], $p = 0.007$); seguido del moteado fino, con 11 (14%, RM = 0.20 [0.04 a 1.02], $p = 0.063$). La prevalencia de riesgo para

género, según el título y el patrón de positividad de anticuerpos antinucleares, se muestra en el Cuadro 4.

DISCUSIÓN

En las enfermedades autoinmunes, el análisis de anticuerpos antinucleares se considera de gran relevancia por su elevada sensibilidad y baja especificidad.¹ Así por ejemplo, en el caso del lupus eritematoso sistémico, una prueba positiva superior a 1:80 tendrá un valor predictivo positivo de 15 a 35%, lo que indica la necesidad de completar la investigación clínica del caso, con base en el cuadro clínico y otras pruebas (anti-ADN, anti-Ro, anti-Sm y anti-LA).³

En este estudio la prevalencia de anticuerpos antinucleares en la población general que acudió al banco de sangre de la institución fue de 13%, prevalencia equivalente a la de investigaciones similares; por ejemplo, en un estudio realizado en 1989, Baig y Shere reportaron cifras cercanas a 4% de anticuerpos antinucleares en 664 personas

Cuadro 3. Prevalencia de riesgo para títulos de anticuerpos antinucleares según el género, edad y antecedentes

n= 379	Anticuerpos		RM (IC95%)	p [†]
	(+) F (%)	(-) F (%)		
Sexo				
Masculino	41 (11)	280 (74)	0.91 (0.40 a 2.06)	0.485
Femenino	8 (2)	50 (13)		
Edad				
< 20 años	5 (1)	40 (10)	0.82 (0.30 a 2.20)	0.485
21-30 años	14 (4)	148 (39)	0.44 (0.22 a 0.87)	0.017*
31-40 años	19 (5)	94 (25)	1.59 (0.85 a 2.96)	0.098
> 40 años	11 (3)	48 (13)	1.70 (0.81 a 3.55)	0.154
Antecedente				
Enfermedad reumática	1 (0,3)	9 (2)	0.74 (0.09 a 5.99)	0.622
Enfermedad tiroidea	--	2 (0.5)	1.14 (1.10 a 1.19)	0.758

Coefficiente de Pearson, $r = -0.130$.

* χ^2 de Pearson, F: frecuencia, RM: razón de momios.



ninguno de los sujetos analizados era parte del personal de salud ni tenía contacto con muestras de sangre o individuos con enfermedades autoinmunes.

En un solo caso (2%), el título de anticuerpos antinucleares fue de 1:160, lo que se considera de valor diagnóstico intermedio.³ Es necesario hacer un análisis exhaustivo de estos pacientes con pruebas complementarias para descartar la serología de anticuerpos contra hepatitis B y C, VIH, sífilis, enfermedad de Chagas (en zonas endémicas) y tuberculosis; en este caso, se descartaron posibles procesos infecciosos y el donador fue referido con su médico familiar para iniciar un protocolo de estudio que descartara la existencia de alguna enfermedad reumática.

La mayoría de los sujetos con anticuerpos antinucleares era del género masculino (10.8%); sin embargo, esta diferencia en la prevalencia no es estadísticamente significativa, y al menos en esta serie no existió mayor riesgo de anticuerpos antinucleares según el género.²⁶ No así para la edad, en donde se observó que a mayor edad, mayor riesgo de anticuerpos antinucleares, dato que ya ha sido sugerido por algunos autores, y que se ha tratado de explicar por un efecto de inmunosenescencia originado por desregulación del sistema inmunitario vinculado con el envejecimiento.^{27,28}

Tektonidou y colaboradores, en 2004, reportaron una elevada prevalencia de anticuerpos antinucleares en mujeres (85%; $p = 0.001$) al estudiar a 168 pacientes con enfermedad tiroidea autoinmune, en comparación con personas sanas.¹⁰ A este respecto, en esta serie no se observó ninguna relación.

El patrón nucleolar que se asocia con positividad a antígenos como *Anti-PM-Scl*, *anti-RNA polymerase I-III*, *anti-U3-RNP* y *RNP*, y se distingue por una tinción intensa de los núcleos fue el más

frecuente en el género masculino (66%, $RM = 10.66$ [1.83 a 62.18], $p = 0.007$). Algunos autores han sugerido que la presencia de este patrón se vincula con un mayor riesgo para esclerosis múltiple y polimiositis.²⁹

Otro patrón de expresión observado en el género masculino fue el moteado fino (14%, $RM = 0.20$ [0.04 a 1.02], $p = 0.063$) y que ha sido asociado con positividad para *ENA*, *RNP*, *Sm*, *SSA/Ro*, *SSB/La*, *Scl-70*, *Jo-1* y *ribosomal-P*, así como un mayor riesgo para lupus eritematoso sistémico, enfermedad mixta del tejido conectivo, esclerosis sistémica, síndrome de Sjögren primario y polimiositis.²⁹ Cabe mencionar que estos patrones fueron también los más frecuentes en las mujeres.

La prevalencia de anticuerpos antinucleares en donadores de sangre "sanos" no se había investigado previamente en la población del noroeste de México, donde las características étnicas, raciales y ambientales difieren a las del resto del país.^{30,31} Así por ejemplo, alrededor del centro médico y de la mayoría de las comunidades cercanas, existe un área rural denominada Valle del Yaqui, donde el uso de agroquímicos es común, originando una elevada pulverización de plaguicidas en huertos que condicionan un mayor riesgo para la salud orgánica y celular.^{32,33} Algunos autores ya han sugerido que la exposición a pesticidas produce un incremento en la expresión de anticuerpos antinucleares en población sana. Así por ejemplo, Rosenberg y colaboradores, en 1999,³⁴ al analizar a una población rural de Canadá encontraron una asociación significativa con expresión serológica de autoinmunidad, entre los anticuerpos antinucleares y la exposición a carbamato, organoclorados, insecticidas piretroides y herbicidas derivados del ácido fenoxiacético. En 2004, Cooper y colaboradores estudiaron en Estados Unidos³⁵ los efectos de la exposición a compuestos derivados del organoclorado DDT [2,2-bis(*p*-clorofenil)-1,1,1-tricloroetano] usan-

do muestras de sangre de una población rural, y encontraron resultados similares, lo que sugiere que los agricultores tienen mayor riesgo de enfermedades autoinmunes y que la exposición a ciertos plaguicidas puede alterar la función inmunitaria.

Dentro de las debilidades del estudio se encuentran: el diseño, que fue transversal analítico y no de causalidad; el tipo de población estudiada, que fue incidentalmente la que acudía a donar sangre; el rango de edad; y la poca información clínica recolectada acerca de antecedentes que permitiera un marco de referencia más amplio de cada individuo para un análisis estadístico más preciso de ciertas variables, como el tipo de trabajo, vivienda, hábitos de alimentación, historial familiar de enfermedades reumáticas, etc. Se considera, sin embargo, que los resultados son significativos, ya que es el primer estudio que establece la prevalencia de anticuerpos antinucleares en personas sanas y deja abierta la posibilidad de nuevas investigaciones que permitan dilucidar la importancia clínica real de la expresión de estos anticuerpos en población rural.

CONCLUSIÓN

La producción de anticuerpos antinucleares en individuos normales a títulos bajos puede no significar un estado autoinmune; sin embargo, podría ser el reflejo de una exposición a factores ambientales que no han sido lo suficientemente estudiados. Es necesario realizar nuevas investigaciones que permitan explicar la relación de factores clínicos, infecciosos y tóxico-ambientales y la presencia de anticuerpos antinucleares en población sana y su posible efecto en expresiones clínicas futuras.

Agradecimientos

Al Instituto Mexicano del Seguro Social por el soporte técnico, humano y financiero en la reali-

zación de las pruebas clínicas y de patología, así como el acceso a información de archivos clínicos.

Los autores agradecen muy especialmente al técnico laboratorista Efraín Orduño Beltrán por su invaluable colaboración en el análisis de las muestras sanguíneas.

REFERENCIAS

- Villagra-Fernández SA, Coelho-Lobo AZ, Prado-de Oliveira ZN, Ichimura-Fukumori LM, Marques-Pérgo A, Rivitti EA. Prevalence of antinuclear autoantibodies in the serum of normal blood donors. *Rev Hosp Clin Fac Med São Paulo* 2003;58(6):315-319.
- Cabiedes J, Núñez-Álvarez CA. Anticuerpos antinucleares. *Reumatol Clin* 2010;6(4):224-230.
- de Vlam K, De Keyser F, Verbruggen G, Vandenbossche M, Vanneville B, D'Haese D, et al. Detection and identification of antinuclear autoantibodies in the serum of normal blood donors. *Clin Exp Rheumatol* 1993;11(4):393-397.
- Manoussakis MN, Tzioufas AG, Silis MP, Pange PJ, Goudevenos J, Moutsopoulos HM. High prevalence of anti-cardiolipin and other autoantibodies in a healthy elderly population. *Clin Exp Immunol* 1987;69(3):557-565.
- Baig MM, Shere SJ. Prevalence of autoantibodies in Saudi population. *J Med* 1989;20(3-4):286-290.
- Vazquez-del Mercado M, González-Bernaldez M, García-de la Torre I. Prevalence of antinuclear antibodies in a Huichol population of Mexico. *Lupus* 1995;4:164-165.
- Willkens RF, Whitaker RR, Anderson RV, Berven D. Significance of antinuclear factors in older persons. *Ann Rheum Dis* 1967;26(4):306-310.
- Olinski R, Siomek A, Rozalski R, Gackowski D, Foksinski M, Guz J, et al. Oxidative damage to DNA and antioxidant status in aging and age-related diseases. *Acta Biochim Pol* 2007;54(1):11-26.
- Weetman AP, Hunt PJ. The immunogenetics of thyroid-associated orbitopathy. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 1999;107:S149-S151.
- Tektonidou MG, Anapliotou M, Vlachoyiannopoulos P, Moutsopoulos HM. Presence of systemic autoimmune disorders in patients with autoimmune thyroid disease. *Ann Rheum Dis* 2004;63:1159-1161.
- Silvestris F, Anderson W, Goodwin JS, Williams RC Jr. Discrepancy in the expression of autoantibodies in healthy aged individuals. *Clin Immunol Immunopathol* 1985;35(2):234-244.
- Makinodan T, Kay MM. Age Influence of the Immune System. *Advances in Immunology*. Vol 29. United Kingdom Edition Academic Press, Inc. (London); 1980;287-330.



13. Pandey JP, Fudenberg HH, Ainsworth SK, Loadholt CB. Autoantibodies in healthy subjects of different age groups. *Mech Ageing Dev* 1979;10(6):399-404.
14. Adebajo AO, Charles P, Maini RN, Hazleman BL. Autoantibodies in malaria, tuberculosis and hepatitis B in a West African population. *Clin Exp Immunol* 1993;92(1):73-76.
15. Querin S, Feuillet-Fieux MN, Jacob L, Niel G, Bach JF. Specificity of Acebutolol-Induced Antinuclear Antibodies. *J Immunopharmacol* 1986;8(4):633-649.
16. Arnett FC, Shulman LE. Studies in Familial Systemic Lupus Erythematosus. *Medicine* 1976;55(4):313-322.
17. Kesavachandran CN, Fareed M, Pathak MK, Bihari V, Mathur N, Srivastava AK. Adverse Health Effects of Pesticides in Agrarian Populations of Developing Countries. *Rev Environ Contam Toxicol* 2009;200:33-52.
18. Abass K, Turpeinen M, Pelkonen O. An evaluation of the cytochrome P450 inhibition potential of selected pesticides in human hepatic microsomes. *J Environ Sci Health B* 2009;44(6):553-563.
19. Azizah MR, Azila MN, Zulkifli MN, Norita TY. The Prevalence of Antinuclear, Anti-dsDNA, Anti-Sm and Anti-RNP Antibodies in a Group of Healthy Blood Donors. *Asian Pac J Allergy Immunol* 1996;14:125-128.
20. Alessandri C, Conti F, Conigliaro P, Mancini R, Massaro L, Valesini G. Seronegative Autoimmune Diseases. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1173:52-59.
21. Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann Rheum Dis* 2010;69(8):1420-1422.
22. Tan EM, Feltkamp TEW, Smolen JS, Butcher B, Dawkins R, Fritzler MJ, et al. Range of antinuclear antibodies in "healthy" individuals. *Arthritis Rheum* 1997;40(9):1601-1611.
23. Slater CA, Davis RB, Shmerling RH. Antinuclear Antibody Testing: A Study of Clinical Utility. *Arch Intern Med* 1996;156(13):1421-1425.
24. Marin GG, Cardiel MH, Cornejo H, Viveros ME. Prevalence of Antinuclear Antibodies in 3 Groups of Healthy Individuals: Blood Donors, Hospital Personnel, and Relatives of Patients With Autoimmune Diseases. *J Clin Rheumatol* 2009;15(7):325-329.
25. Zarmbinski MA, Messner RP, Mandel JS. Anti-dsDNA antibodies in laboratory workers handling blood from patients with systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1992;19(9):1380-1384.
26. Goemaere S, Ackerman C, Goethals K, De Keyser F, Van der Straeten C, Verbruggen G, et al. Onset of symptoms of rheumatoid arthritis in relation to age, sex and menopausal transition. *J Rheumatol* 1990;17(12):1620-1622.
27. Molazadeh M, Karimzadeh H, Azizi MR. Prevalence and clinical significance of antinuclear antibodies in Iranian women with unexplained recurrent miscarriage. *Iran J Reprod Med* 2014;12(3):221-226.
28. Dewan SK, Zheng SB, Xia SJ, Bill K. Senescent remodeling of the immune system and its contribution to the predisposition of the elderly to infections. *Chin Med J (Engl)* 2012;125(18):3325-3331.
29. Kumar Y, Bhatia A, Minz RW. Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagnostic Pathology* 2009;4:1-10.
30. Arnaiz-Villena A, Moscoso J, Granados J, Serrano-Vela JI, de la Peña A, Reguera R, et al. HLA Genes in Mayos Population from Northeast Mexico. *Curr Genomics* 2007;8(7):466-475.
31. Infante E, Olivo A, Alaez C, Williams F, Middleton D, de la Rosa G, et al. Molecular analysis of HLA class I alleles in the Mexican Seri Indians: implications for their origin. *Tissue Antigens* 1999;54(1):35-42.
32. Payán-Rentería R, Garibay-Chávez G, Rangel-Ascencio R, Preciado-Martínez V, Muñoz-Islas L, Beltrán-Miranda C, et al. Effect of Chronic Pesticide Exposure in Farm Workers of a Mexico Community. *Arch Environ Occup Health* 2012;67(1):22-30.
33. Meza-Montenegro MM, Valenzuela-Quintanar AI, Balderas-Cortés JJ, Yañez-Estrada L, Gutiérrez-Coronado ML, Cuevas-Robles A, et al. Exposure Assessment of Organochlorine Pesticides, Arsenic, and Lead in Children From the Major Agricultural Areas in Sonora, Mexico. *Arch Environ Contam Toxicol* 2013;64(3):519-527.
34. Rosenberg AM, Semchuk KM, McDuffie HH, Ledingham DL, Cordeiro DM, Cessna AJ, et al. Prevalence of antinuclear antibodies in a rural population. *J Toxicol Environ Health A* 1999;57(4):225-236.
35. Cooper GS, Martin SA, Longnecker MP, Sandler DP, Germolec DR. Associations between Plasma DDE Levels and Immunologic Measures in African-American Farmers in North Carolina. *Environ Health Perspect* 2004;112(10):1080-1084.