

Caracterização do padrão AC-28 em FAN HEp-2

Henrique Jorge Barbotti
João Victor de Souza Esteves
Wilson de Melo Cruvinel (Orientador)

Curso de Medicina da Escola de Ciências Médicas e da Vida (ECMV)
Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás)

Resumo

Os autoanticorpos podem estar associados a doenças autoimunes, como o lúpus eritematoso sistêmico e a esclerose sistêmica, embora também possam ser detectados em indivíduos sem evidência de autoimunidade. A pesquisa desses marcadores por imunofluorescência indireta (IFI) em células HEp-2 representa um importante recurso no apoio diagnóstico dessas condições. No Brasil, a padronização da investigação do Fator Antinuclear (FAN) em células HEp-2 é conduzida por consensos nacionais, enquanto o *International Consensus on ANA Patterns* (ICAP) estabelece diretrizes internacionais. Recentemente, o padrão mitótico AC-28 (“cromossomos mitóticos”) foi incorporado ao VII Consenso Brasileiro de Autoanticorpos (CBA), embora sua relevância clínica ainda seja pouco compreendida. Este estudo revisou criticamente a literatura disponível sobre o AC-28, abordando sua identidade imunológica, as características morfológicas observadas na IFI e os relatos de possíveis associações clínicas. Evidências sugerem que esse padrão, relacionado a autoanticorpos contra a histona H3 modificada e à proteína MCA-1, pode estar vinculado a doenças autoimunes. No entanto, sua baixa frequência e o reduzido valor preditivo positivo requerem cautela na interpretação dos achados. A inclusão do AC-28 no CBA visa alinhar a classificação nacional às diretrizes internacionais e estimular novas pesquisas que possam esclarecer sua importância clínica.

Palavras-chave: autoanticorpos, padrão de cromossomos mitóticos, AC-28, imunofluorescência indireta, células HEp-2.

19 de Maio de 2025

Abstract

Autoantibodies may be associated with autoimmune diseases such as systemic lupus erythematosus and systemic sclerosis, although they can also be detected in individuals without clinical evidence of autoimmunity. The detection of these markers through indirect immunofluorescence (IIF) on HEp-2 cells is a valuable diagnostic tool in the investigation of such conditions. In Brazil, the standardization of antinuclear antibody (ANA) testing using HEp-2 cells is guided by Brazilian consensus statements, while the *International Consensus on ANA Patterns* (ICAP) provides international guidelines. Recently, the mitotic pattern AC-28 (“mitotic chromosomal”) was incorporated into the 7th Brazilian Consensus on Autoantibodies (CBA), although its clinical relevance remains poorly understood. This study critically reviewed the literature on AC-28, addressing its immunological identity, the morphological features observed by IIF, and reports of possible clinical associations. Evidence suggests that this pattern, related to autoantibodies targeting modified histone H3 and the MCA-1 protein, may be associated with autoimmune diseases. However, its low frequency and limited positive predictive value warrant cautious interpretation. The inclusion of AC-28 in the CBA aims to align the national classification with international standards and to encourage further research to clarify its clinical significance.

Keywords: autoantibodies, mitotic chromosome pattern, AC-28, indirect immunofluorescence, HEp-2 cells.

Abbreviations

AC - Anti-cell antibody
 AC-28 – Padrão de Cromossomos Mitóticos (Mitotic Chromosomal Pattern)
 ANA – Fator Antinuclear (Antinuclear Antibody)
 CBA – Consenso Brasileiro de Autoanticorpos
 DCA-1 – Autoanticorpo contra cromossomos em divisão (Dividing Cell Antibody-1)
 FAN – Fator Antinuclear
 HEp-2 – Linhagem celular derivada de carcinoma epidermoide de laringe humana
 ICAP – International Consensus on ANA Patterns
 IFI – Imunofluorescência Indireta
 LES – Lúpus Eritematoso Sistêmico
 MCA – Autoanticorpos contra cromossomos mitóticos (Mitotic Chromosome Autoantibodies)
 MCA-1 – Autoantígeno associado a cromossomos mitóticos

INTRODUÇÃO

Autoanticorpos são glicoproteínas produzidas pelo sistema imunológico que, em vez de direcionarem-se a patógenos externos, como bactérias e vírus, reconhecem componentes do próprio organismo podendo relacionar-se à respostas fisiológicas relacionadas à manutenção da homeostase imunológica (**SILÓSI *et al.*, 2016**) ou ainda podem resultar em lesão tecidual e inflamação, podendo estar intimamente associados à fisiopatologia de doenças autoimunes, como por exemplo o lúpus eritematoso sistêmico e a esclerose sistêmica (**BURBELO *et al.*, 2021**). Nesses casos, quando há associação do autoanticorpo com uma enfermidade autoimune, a detecção e a caracterização desses marcadores podem desempenhar um papel importante no diagnóstico e no acompanhamento clínico dessas doenças (**ENOCSSON *et al.*, 2024**).

A Imunofluorescência Indireta (IFI) em células HEp-2 é uma das técnicas laboratoriais mais amplamente empregadas na identificação de autoanticorpos. Desenvolvida inicialmente na década de 1950, essa metodologia revolucionou o campo da autoimunidade ao possibilitar a caracterização de autoanticorpos em substratos celulares (**TAN EM., 1989**). Na técnica, células HEp-2, originadas de carcinoma epidermóide de laringe humana com abundante expressão de autoantígenos, são utilizadas como substrato antigênico. Após a incubação com o soro do paciente, os autoanticorpos, quando presentes, ligam-se aos componentes celulares específicos e são revelados por meio de anticorpos secundários conjugados a fluorocromos, que emitem fluorescência quando expostos à luz ultravioleta (**TAN EM., 1989**). Além de identificar a presença de autoanticorpos, a IFI permite a análise de padrões de fluorescência a depender da região celular fluorescente, sendo que muitos padrões estão associados a enfermidades autoimunes específicas, oferecendo subsídios na investigação clínica (**CHAN *et al.*, 2015**).

No Brasil, a utilização do teste de FAN (Fator Antinuclear) por IFI em células HEp-2 tem sido padronizada por meio dos consensos nacionais de autoanticorpos. O primeiro Consenso Brasileiro para padronização dos laudos de FAN HEp-2 foi realizado no ano 2000 (**DELLAVANCE *et al.*, 2001**) e desde então, outros seis consensos foram organizados (**CRUVINEL *et al.*, 2019, 2022**; **DELLAVANCE *et al.*, 2003, 2009**; **FRANCESANTONIO *et al.*, 2014**). Os

objetivos iniciais dos consensos foram de estabelecer uniformidade na nomenclatura e classificação dos padrões de fluorescência, garantindo que os laudos laboratoriais fossem padronizados em todo o país, facilitando a comunicação entre laboratórios e profissionais clínicos (**DELLAVANCE et al., 2001, 2003, 2009**).

A partir dos primeiros consensos foram realizados outros com o objetivo de aprimorar não só os aspectos técnicos da identificação dos padrões, a estruturação dos laudos e o controle de qualidade, mas também foram discutidas e atualizadas as associações clínicas dos padrões reconhecidos (**DELLAVANCE et al., 2009, FRANCESCANTONIO et al., 2014**).

No ano de 2014 foi realizado o *International Consensus on ANA Patterns* (ICAP) que desempenhou um papel fundamental na padronização da pesquisa de autoanticorpos em células HEp-2 em âmbito internacional (**CHAN et al., 2015**). O ICAP surgiu da necessidade de uniformizar globalmente a nomenclatura e a interpretação dos padrões de FAN (Fator Antinuclear). Sua primeira atividade ocorreu durante o 12º Workshop Internacional sobre Autoanticorpos e Autoimunidade, realizado em São Paulo, Brasil. Essa iniciativa consolidou as primeiras diretrizes que orientam os laboratórios em todo o mundo (**CHAN et al., 2015**) tendo sido responsável pelo aprimoramento do sistema de classificação morfológica denominado "Árvore de classificação dos padrões de FAN", que organiza os diferentes padrões em grandes categorias: nuclear/nucleolar, citoplasmático e mitótico, agregando um código alfanumérico para cada um dos padrões dos diferentes grupos de classificação. O objetivo do ICAP é de harmonizar a metodologia e facilitar o reconhecimento e a interpretação dos resultados de IFI em células HEp-2, facilitando a classificação de modo uniforme e assegurando que os padrões relevantes contribuam com as investigações clínicas (**CHAN et al., 2015; DAMOISEAUX et al., 2016**).

No grupo dos padrões mitóticos tanto o Consenso Brasileiro quanto o ICAP reconhecem o padrão AC-24 (Centrosomo), AC-25 (Fuso mitótico do tipo NuMAII), AC-26 (Nuclear pontilhado fino com fluorescência do aparelho mitótico - (NuMa-like) e o AC-27 (Ponte intercelular) (**CHAN et al., 2015; CRUVINEL et al., 2022**). Por outro lado, o *International Consensus on ANA Patterns* (ICAP) apresenta ainda dentro da árvore de classificação dos padrões mitóticos o padrão AC-28, denominado "Cromossomos mitóticos" (**CHAN et al., 2016**), não

contemplada na árvore de classificação do CBA até o sexto consenso (**CRUVINEL et al., 2022**) mas incorporada na reunião do sétimo consensos (Dados não publicados).

A demora na incorporação do padrão AC-28 na árvore de classificação do Consenso Brasileiro é atribuída à baixa frequência desse padrão nas amostras sorológicas e ao baixo valor preditivo positivo para o diagnóstico de doenças autoimunes. No entanto, após discussões no VII Consenso Brasileiro, realizado em 2023, o padrão AC-28 foi finalmente incluído (Dados não publicados). Mesmo sendo considerado um padrão raro e ainda carecendo de evidências que comprovem sua relevância clínica, especialmente quanto à associação com doenças autoimunes, o AC-28 foi incluído na árvore de classificação do VII CBA, considerando que analistas e clínicos podem eventualmente se deparar com sua ocorrência na prática cotidiana. (**STARUSZKIEWICZ et al., 2023**).

Nesse contexto, diante da recente inclusão do padrão AC-28 na árvore de classificação do Consenso Brasileiro de Autoanticorpos (CBA), este estudo teve como objetivo revisar criticamente a literatura disponível sobre esse padrão, reunindo evidências sobre sua identidade imunológica, suas características morfológicas em imunofluorescência indireta em células HEp-2 e suas potenciais associações clínicas. Ao oferecer uma síntese atualizada e direcionada, pretende-se contribuir para o reconhecimento preciso do padrão AC-28 pelos analistas e para a adequada interpretação de seus achados pelos profissionais da área médica.

METODOLOGIA

Este estudo teve como objetivo revisar a literatura com relação ao padrão AC-28, explorando sua identidade imunológica, os aspectos morfológicos na imunofluorescência indireta em células HEp-2 e suas associações clínicas. Para isso, foi realizada uma busca sistemática nas bases de dados PubMed, Scopus e Web of Science, abrangendo artigos publicados até março de 2025. Os descritores utilizados foram os termos livres "mitotic chromosomal pattern", "AC-28", "HEp-2 cells", "modified histone H3" e "MCA-1", combinados com o operador booleano "AND". Foram incluídos estudos que apresentavam caracterização imunológica do padrão AC-28 por IFI em células HEp-2, bem como aqueles que abordavam sua associação clínica por meio de estudos observacionais ou descritivos que detalharam o grupo estudado e os possíveis desfechos clínicos. Foram considerados artigos publicados em inglês, português e espanhol, sendo excluídos aqueles sem texto completo disponível.

A seleção dos estudos ocorreu em duas etapas. Inicialmente, foi realizada a triagem dos títulos e resumos por dois revisores independentes, com inclusão baseada nos critérios de elegibilidade. Em seguida, os textos completos dos artigos selecionados foram avaliados, sendo as discordâncias resolvidas por um terceiro revisor. Os dados foram extraídos de forma padronizada por meio de um formulário pré-definido contendo informações sobre os autores, ano de publicação, população do estudo e associações clínicas descritas. A análise dos dados foi conduzida de maneira qualitativa e estruturada em três seções principais do presente artigo: descrição do padrão AC-28, caracterização dos autoantígenos envolvidos e relevância clínica e implicações diagnósticas.

PADRÃO DE IMUNOFLUORESCÊNCIA EM CÉLULAS HEp-2

Considerando as peculiaridades das células HEp-2, para a compreensão das características do padrão AC-28 é fundamental revisar as características básicas do ciclo celular, um processo altamente coordenado, composto por quatro fases principais: G1, S, G2 e mitose (**REECE et al, 2011**). Durante a interfase, que engloba as fases G1, S e G2, ocorrem, respectivamente, a síntese de proteínas e RNA, a duplicação do material genético e a preparação para a divisão celular, incluindo a produção dos componentes do fuso mitótico (**RAVEN et al, 2014**). A seguir, a célula entra no estágio de mitose, que é subdividida em prófase, metáfase, anáfase e telófase (**REECE et al, 2011**). Na prófase, observa-se a condensação do DNA, a formação do fuso mitótico, a desintegração do envoltório nuclear e o desaparecimento dos nucléolos (**RAVEN et al., 2014**). Durante a metáfase, os cromossomos atingem o grau máximo de condensação e se alinham na placa equatorial celular, sendo esta a fase mais adequada para observação microscópica (**REECE et al, 2011**). Na anáfase, as cromátides irmãs migram para os polos opostos da célula (**RAVEN et al., 2014**). Por fim, na telófase, os cromossomos descondensam e se posicionam nos polos da célula (**REECE et al, 2011**).

O padrão AC-28 é caracterizado por uma coloração pontilhada dos cromossomos nas fases da prófase e metáfase da mitose, enquanto as células em interfase não apresentam coloração visível. Conforme pode ser observado na **Figura 1**, a coloração pontilhada nos cromossomos é um aspecto distintivo desse padrão associado à ausência de reatividade das células em intérfase (**CHAN et al., 2015**). Na figura 1 pode ser observado os detalhes do padrão provenientes de imagens de referência da página oficial do *International Consensus on Ana Patterns* (www.ANAPatterns.org).

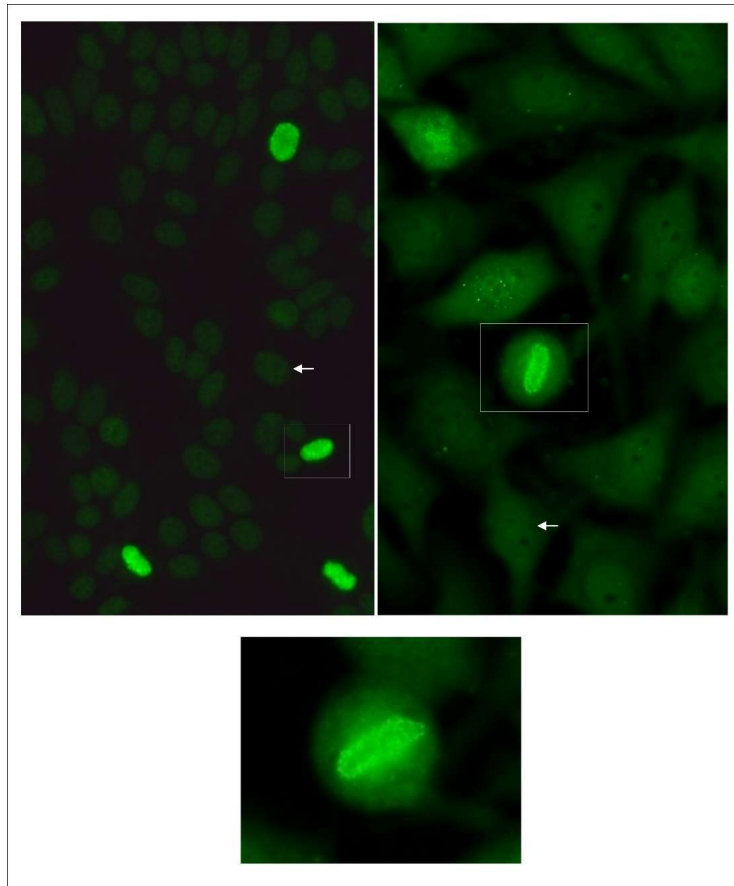


Figura 1. Padrão AC-28 em imunofluorescência indireta em células humanas. Crédito de imagens: ANAPatterns.org com imagens de Werner Klotz & Manfred Herold e Kai Fechner. As setas indicam as células em intérfase e o retângulos brancos a placa metafásica cromossômica caracteristicamente corada.

CARACTERIZAÇÃO DOS AUTOANTÍGENOS RELACIONADOS AO PADRÃO AC-28

Os principais autoantígenos sugeridos com correlação com o padrão AC-28 são os autoantígenos MCA-1 e a proteína histona H3 modificada (CHAN *et al.*, 2015). A proteína MCA-1 é encontrada no centrômero em uma estrutura que auxilia na separação dos cromossomos durante a divisão celular. Já a proteína histona H3 é uma histona central que, juntamente com outras histonas, forma o nucleossomo, uma unidade fundamental da cromatina, também essencial para a divisão celular.

Atualmente, diversas categorias de autoantígenos cromossômicos mitóticos (MCA) são reconhecidas, sendo o MCA-1 de particular importância na correlação com o padrão AC-28. Estudos demonstram que a injeção de autoanticorpos reativos ao MCA-1 em células vivas resulta na parada do ciclo celular em metáfase, sem alterar a morfologia do fuso mitótico ou dos cromossomos metafásicos. Esse achado sugere que o MCA-1 desempenha um papel importante na separação das cromátides irmãs durante o ciclo celular (RAYZMAN; SENTRY, 2006). A histona H3, quando sofre fosforilação de serina 10 por aurora B, torna-se susceptível à ligação pelos os anticorpos reativos ao MCA-1, ampliando a compreensão do seu papel na mitose (TORU HIROTA, JESSE J. LIPP, 2005).

A caracterização do antígeno reconhecido pelos autoanticorpos do tipo anti-MCA (mitotic chromosome autoantibodies) revelou que esses autoanticorpos IgG reagem exclusivamente com componentes proteicos dos cromossomos em mitose (GITLITS *et al.*, 2000). Em um estudo que analisou 60.000 soros para detecção de anticorpos antinucleares por imunofluorescência, foram identificados três autoanticorpos distintos da classe IgG com reatividade seletiva a estruturas cromossômicas mitóticas. Esses autoanticorpos não reconheceram a cromatina condensada em espermatozoides nem em células HeLa apoptóticas, e sua reatividade foi abolida por tratamento com protease, mas não com RNase, indicando que os antígenos alvo são proteínas e não contêm epítomos baseados em RNA. As diferenças nos padrões de coloração, nos estágios mitóticos reconhecidos e na sensibilidade a DNase 1, extração salina e fosfatases sugerem que os três autoanticorpos reconhecem antígenos

distintos. Evidências apontam que MCA1 e MCA2 apresentam epítomos fosforilados em serina/treonina, enquanto MCA3 reconhece epítomos fosforilados em tirosina. Além disso, a perda da reatividade de MCA2 após tratamento com DNase 1 e sua preservação após extração salina sugerem que se trata de uma proteína estrutural do arcabouço cromossômico. A sensibilidade de todos os três antígenos ao tratamento ácido reforça a hipótese de que sejam proteínas semelhantes a histonas ou associadas às histonas (**GITLITS et al., 2000**).

Em um estudo que avaliou a prevalência desse padrão, 182 amostras de soro de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES) foram testadas por imunofluorescência indireta, das quais 10 (5 %) apresentaram anticorpo anti-DCA-1; entre 39 soros de pacientes com púrpura trombocitopênica imune (PTI), apenas um (2 %) foi positivo, enquanto nenhum anticorpo anti-DCA-1 foi detectado em soros de outras doenças do tecido conjuntivo ou em controles saudáveis. (**BLASCHEK et al., 1993**).

RELEVÂNCIAS CLÍNICAS DO AC-28

O padrão AC-28, identificado como um padrão raro de fluorescência em células HEp-2 segundo o ICAP, ainda é pouco compreendido quanto à sua real aplicabilidade clínica. Trata-se de um achado infrequente na imunofluorescência indireta e, até o momento, não possui valor diagnóstico ou prognóstico estabelecido na prática médica. A literatura científica descreve esse padrão como associado à marcação dos cromossomos durante a metáfase, frequentemente vinculado à presença de autoanticorpos contra a histona H3, e a proteína MCA-1. Apesar de alguns relatos pontuais sugerirem correlações entre o padrão AC-28 e doenças como o lúpus eritematoso sistêmico (LES), leucemias e outras condições autoimunes e malignas (**BLASCHEK et al., 1993; STUMMVOLL et al., 2009**), essas associações são baseadas em amostras pequenas e não conferem a esse padrão um papel clínico consolidado.

No estudo de Blaschek e colaboradores foi avaliada a prevalência desse padrão, 182 amostras de soro de pacientes com lúpus eritematoso sistêmico (LES) foram testadas por imunofluorescência indireta, das quais 10 (5 %) apresentaram anticorpo anti-DCA-1; entre 39 soros de pacientes com púrpura trombocitopênica imune (PTI), apenas um (2 %) foi positivo, enquanto nenhum anticorpo anti-DCA-1 foi detectado em soros de outras doenças do tecido conjuntivo ou em controles saudáveis (**BLASCHEK et al., 1993**).

Dessa forma, o padrão AC-28 é considerado, até o presente momento, um achado laboratorial inespecífico, com importância maior em estudos imunológicos experimentais e em pesquisas voltadas à caracterização de autoanticorpos. Sua presença isolada raramente tem implicação diagnóstica direta e deve ser interpretada com cautela, sempre em conjunto com outros parâmetros clínicos e laboratoriais. Embora a investigação contínua sobre esse padrão possa futuramente esclarecer seu significado imunológico, atualmente o AC-28 não constitui uma ferramenta de rotina no manejo clínico de doenças autoimunes ou neoplásicas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A inclusão do padrão AC-28 na árvore de classificação do CBA reflete a crescente necessidade de harmonização das recomendações nacionais com as diretrizes internacionais de pesquisa de autoanticorpos em células HEp-2. Essa inserção não apenas contribui para a uniformização do diagnóstico laboratorial, mas também ressalta a importância de uma abordagem mais sistemática e fundamentada na detecção de anticorpos raros, como o AC-28, que possuem implicações clínicas ainda pouco exploradas e somente a partir de seu reconhecimento e classificação, será possível correlacionar dados clínico-laboratoriais compreendendo a dinâmica desse marcador.

O reconhecimento desse padrão no Brasil no âmbito laboratorial não representa um grande desafio tendo em vista tratar-se de uma padrão bem característico do ponto de vista morfológico (**CHAN et al., 2015**). Contudo, o seu reconhecimento pode ser tornar altamente complexo se estiver associado a outros padrões que decoram a placa metafásica cromossômica como o padrão AC-1 nuclear homogêneo e o padrão AC-2 nuclear pontilhado fino denso.

O maior desafio restringe-se à aplicabilidade e ao impacto que pode ter o AC-28 na prática clínica, uma vez que, apesar de raro, foi associado a condições autoimunes graves e a alguns tipos de neoplasias (**BLASCHEK et al., 1993; STUMMVOLL et al., 2009**). Contudo, seu baixo valor preditivo positivo e a infrequência com que é detectado na rotina diagnóstica evidenciam a necessidade de maior investigação sobre seu papel em doenças autoimunes, como o lúpus eritematoso sistêmico e doenças neoplásicas.

Este trabalho visou disseminar informações básicas fundamentais para a caracterização do padrão AC-28, estimulando ainda as futuras investigações que possam esclarecer melhor suas implicações clínicas. O primeiro passo foi dado pelo VII Consenso que o incluiu na árvore de classificação no grupo dos padrões mitóticos e espera-se que progressivamente surjam evidências que demonstrem a relevância desse padrão.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. BLASCHEK, M.; MULLER, S.; YOUINOU, P. Anti-"dividing cell antigen" autoantibody: A novel antinuclear antibody pattern related to histones in systemic lupus erythematosus. *Journal of Clinical Immunology*, v. 13, n. 5, p. 329–338, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF00920241>.
2. BURBELO, P. D. et al. Autoantibodies targeting intracellular and extracellular proteins in autoimmunity. *Frontiers in Immunology*, v. 12, p. 1–13, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.548469>.
3. CHAN, E. K. L. et al. Report of the first international consensus on standardized nomenclature of antinuclear antibody HEp-2 cell patterns 2014–2015. *Frontiers in Immunology*, v. 6, p. 1–13, 2015. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2015.00412>.
4. CHAN, E. K. L. et al. Report on the second International Consensus on ANA Pattern (ICAP) workshop in Dresden 2015. *Lupus*, v. 25, n. 8, p. 797–804, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1177/0961203316640920>.
5. CRUVINEL, W. de M. et al. V Brazilian consensus guidelines for detection of anti-cell autoantibodies on HEp-2 cells. *Advances in Rheumatology*, v. 59, n. 1, p. 1–11, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1186/s42358-019-0069-5>.
6. CRUVINEL, W. de M. et al. VI Brazilian consensus guidelines for detection of anti-cell autoantibodies on HEp-2 cells. *Advances in Rheumatology*, v. 62, n. 1, p. 1–11, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1186/s42358-022-00266-z>.
7. DELLAVANCE, A. et al. II consenso Brasileiro de fator antinuclear em células HEp-2: Definições para a padronização da pesquisa de auto-anticorpos contra constituintes do núcleo (FAN HEp-2), nucléolo, citoplasma e aparelho mitótico e suas associações clínicas. *Revista Brasileira de Reumatologia*, v. 43, n. 3, p. 129–140, 2003.
8. DELLAVANCE, A. et al. I Consenso Nacional para Padronização dos Laudos de FAN HEp-2. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, v. 38, n. 3, p. 207–216, 2001.
9. DELLAVANCE, A. et al. 3º Consenso Brasileiro para pesquisa de autoanticorpos em células HEp-2 (FAN): recomendações para padronização do ensaio de pesquisa de autoanticorpos em células HEp-2, controle de qualidade e associações clínicas. *Revista Brasileira de Reumatologia*, v. 49, n. 2, p. 89–98, 2009. Disponível em: <http://www.hep-2.com.br/>.
10. ENOCSSON, H. et al. Editorial: Autoantibodies for diagnostics,

- prognostics, and surveillance in autoimmune disease. *Frontiers in Medicine*, v. 11, p. 4–6, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmed.2024.1491035>.
11. FRANCESCANTONIO, P. L. C. et al. IV Consenso Brasileiro para pesquisa de autoanticorpos em células HEp-2. *Revista Brasileira de Reumatologia*, v. 54, n. 1, p. 44–50, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rbr.2013.10.001>.
 12. GITLITS, V. M. et al. Novel human autoantibodies to phosphoepitopes on mitotic chromosomal autoantigens (MCAs). *Journal of Investigative Medicine*, v. 48, p. 172–182, 2000.
 13. HIROTA, T.; LIPP, J. J.; TÖH, B. H.; PETERS, J.-M. Histone H3 serine 10 phosphorylation by Aurora B causes HP1 dissociation from heterochromatin. *Nature*, Londres, v. 438, p. 1176–1180, 2005.
 14. RAVEN, P. H. et al. The cell cycle. In: RAVEN, P. H. et al. *Biology*. 10. ed. Boston: McGraw-Hill, 2014. p. 187–206.
 15. RAYZMAN, V. M.; SENTRY, J. W. MCA1 detection of Histone H3 serine 10 phosphorylation, a novel biomarker for determination of mitotic indices. *Human Antibodies*, Amsterdam, v. 15, n. 3, p. 71–80, 2006.
 16. REECE, J. B. et al. The cell cycle. In: REECE, J. B. et al. *Campbell biology*. 10. ed. San Francisco: Pearson Benjamin Cummings, 2011. p. 232–250.
 17. SANTOS, W. F. S. et al. Complex patterns on HEp-2 indirect immunofluorescence assay in a large sample referred for anti-cell autoantibodies detection. *Frontiers in Immunology*, Lausanne, v. 14, p. 1–16, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2023.1256526>.
 18. SILOȘI, I. et al. The role of autoantibodies in health and disease. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, București, v. 57, n. 2, p. 633–638, 2016.
 19. STARUSZKIEWICZ, M.; PITUCH-NOWOROLSKA, A.; SKOCZEN, S. Uncommon types of autoantibodies – Detection and clinical associations. *Autoimmunity Reviews*, Amsterdam, v. 22, n. 3, p. 1–8, 2023.