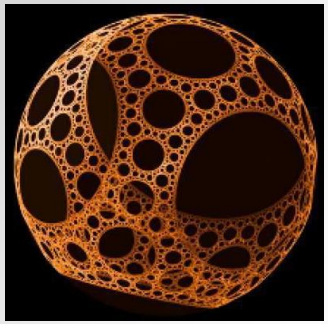
JORNADA
Actualización en LUPUS

ALICANTE 16 y 17 NOV
2018

ANTICUERPOS EN LA ENFERMEDAD AUTOINMUNE

Ángel Esteban Rodríguez
Hospital General U. de Alicante



ENFERMEDAD AUTOINMUNE

Lesión tisular y alteración funcional de la homeostasis fisiológica debido a una respuesta inmune permanente, caracterizada por la presencia AUTOANTICUERPOS

Órgano-específicas

Sistémicas

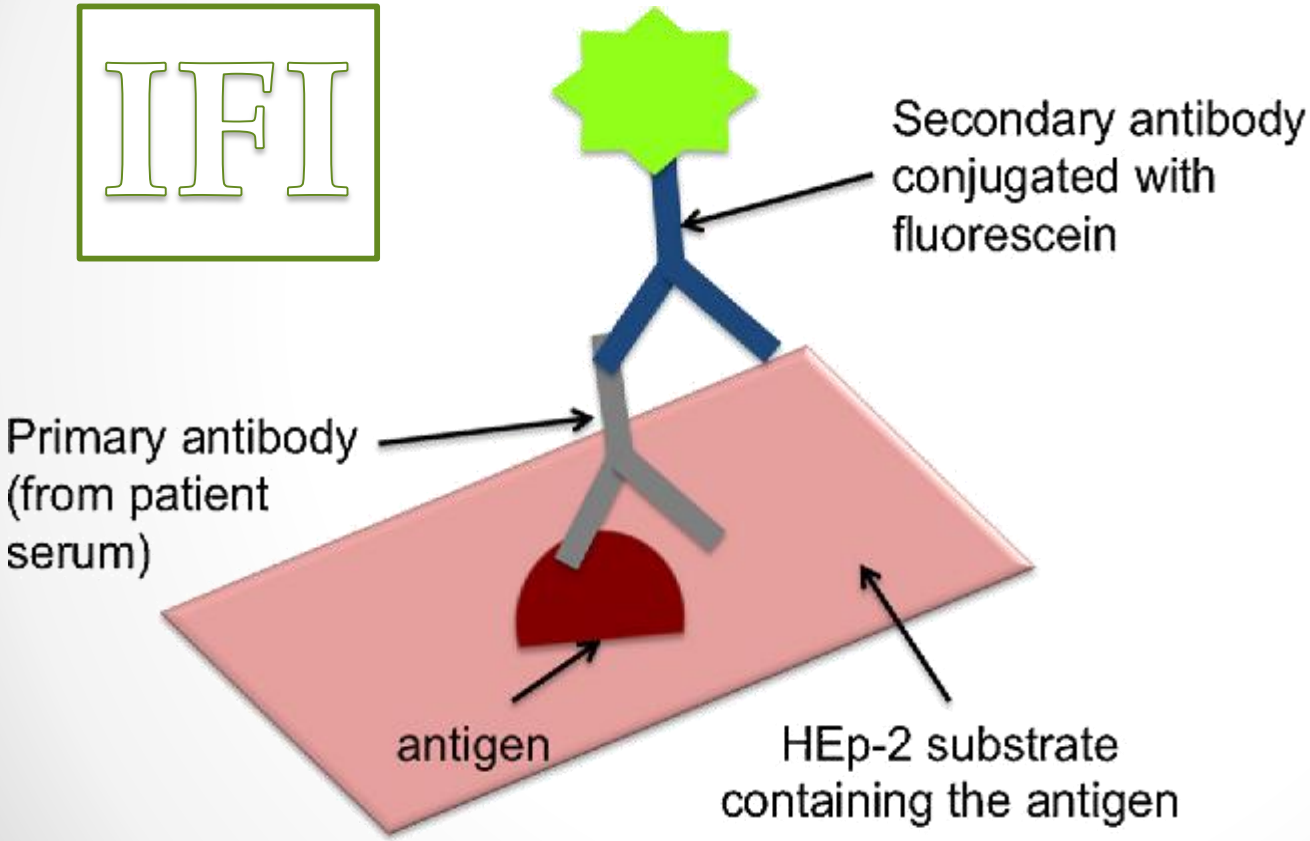
Organoespecíficas paradójicas

Tipos de autoanticuerpos

- Anticuerpos organoespecíficos
  - Anti-peroxidasa tiroidea (TPO), anti-tiroglobulina y anti-receptor de TSH
  - Anti-células parietales gástricas y anti-factor intrínseco
  - Anti-receptor de acetilcolina
- Anticuerpos no organoespecíficos, específicos de tejido:
  - Anti-músculo liso (ASMA)
  - Anti-membrana basal glomerular
  - Anti-endomisio
- Anticuerpos no organoespecíficos, no específicos de tejido:
  - **Anti-nucleares (ANA)**
  - Anti-mitocondriales
  - Anti-citoplasma de los neutrófios

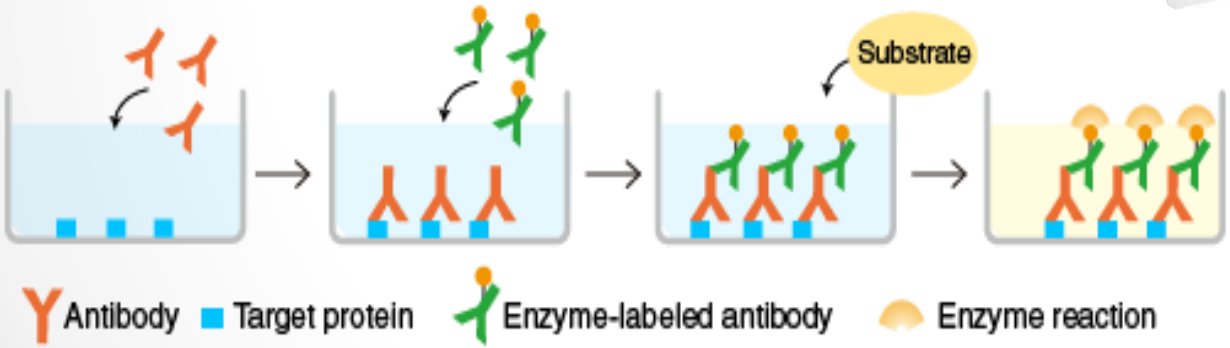
Métodos de detección de autoanticuerpos

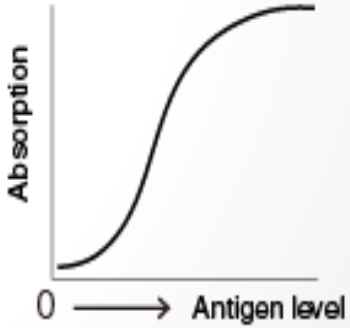
IFI



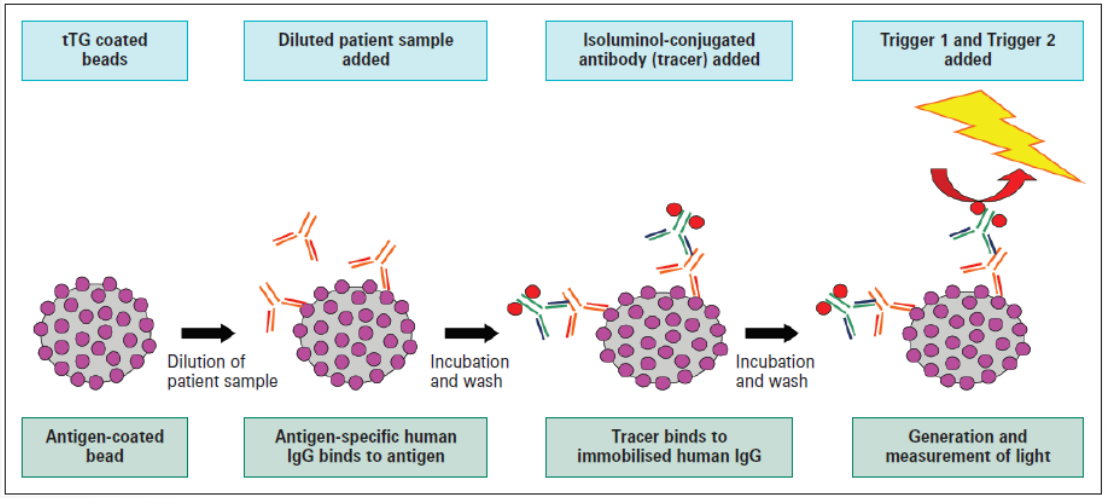
Métodos de detección de autoanticuerpos

ELISA



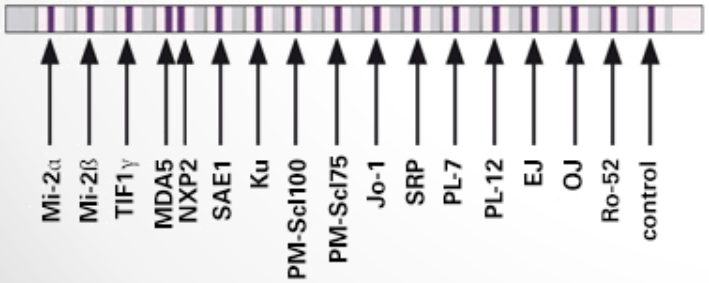


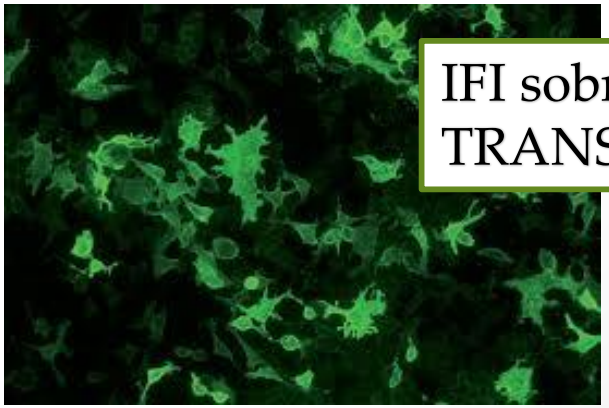
Métodos de detección de autoanticuerpos



CLIA

INMUNOBLOT





IFI sobre CÉLULAS TRANSFECTADAS

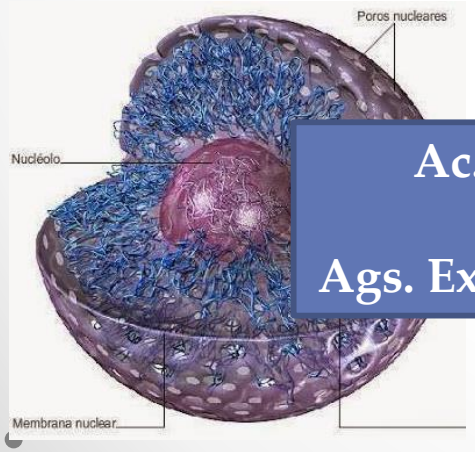
Recomendaciones internacionales para la evaluación de autoanticuerpos

Recommendation

International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies

Nancy Agmon-Levin,[1,2] Jan Damoiseaux,[3] Cees Kalle
Torsten Witte,[6] Manfred Herold,[7,8] Xavier Bossuyt,[9]
Ricard Cervera,[11] Aresio Plaza-Lopez,[12] Carlos Dias,
Antonella Radice,[15] Catharina Eriksson,[16] Olof Hulto

To cite: Agmon-Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, *et al. Ann Rheum Dis* 2014;**73**:17–23.



Ac. Antinucleares → Ac. Anticelulares

Ags. Extraíbles del Núcleo → Ags. Específicos

Algunas recomendaciones

- Diagnóstico EAS: ANA (1er nivel), anti-DNA y ENAs
- ANA: no útil en monitorización enfermedad
- IFI: método de referencia para cribado de ANA
- Si otro método, obligatorio retestar positivos con IFI
- Títulos >1/160 serán informados como "positivos" en adultos
- Los positivos se deben titular e informar del patrón con terminología estandarizada
- Informar de patrones nucleares, citoplasmáticos y mitóticos
- Si ANA positivo y de acuerdo a la sospecha clínica, determinar anti-DNA y/o ENAs.

Choosing wisely

Review

Choosing wisely: Review and commentary on anti-nuclear antibody (ANA) testing

Marvin J. Fritzler *

- Mal utilizados en la práctica clínica
- No solo confirman enfermedad: detección temprana y prevención
- Mejoran el gasto en salud
- Tienen poco valor clínico para monitorizar la actividad de la enfermedad o predecir un brote.

* Autoimmunity Reviews 15 (2016) 272–280

Choosing wisely

Choosing Wisely: The American College of Rheumatology's Top 5 List of Things Physicians and Patients Should Question

JINOOS YAZDANY,[1] GABRIELA SCHM
EDWARD YELIN,[1] JENNIFER BARTON,
LIANNE S. GENSLER,[1] VICTORIA KELI
THE AMERICAN COLLEGE OF RHEUM

82 *The Open Rheumatology Journal*, 2015, *9*, 82-87

Open Access

Applying Choosing Wisely: Antinuclear Antibody (ANA) and Sub-Serology Testing in a Safety Net Hospital System

Lisa Anne Davis[*,1,2], Barbara Goldstein[1,2,3], Vivian Tran[1,2], Angela Keniston[1], Jinoos Yazdany[4], Joel Hirsh[1,2], Amy Storfa[1] and JoAnn Zell[1,2,3]

- Un ANA negativo predice con alta probabilidad ENAs negativos (dsDNA, Sm, RNP, Ro, La, Scl-70 y centrómero)
- Excepción: Ro… y Jo-1

Choosing unwisely

OP0302

AN EVALUATION OF UTILISATION PATTERNS AND APPROPRIATENESS OF LABORATORY TESTS AMONG NEW REFERRALS TO RHEUMATOLOGISTS: CHOOSING UNWISELY!

A. Ahrari[1], S.S. Barrett[2], S. Rohekar[3], P. Basharat[3], G. Rohekar[3], S. Haig[3], J. Pope[3]. [1]*Internal Medicine*; [2]*Medicine, Schulich School of Medicine*;

- Antes de remitir al paciente a reumatología:
  - Prueba de ANA repetida
  - ENAs realizados simultáneos a ANA o con ANA negativo
  - ANA y ENAs solicitados sin sospecha clínica de EAS

Nomenclatura estandarizada

www.anapatterns.org

Report of the first international consensus on standardized nomenclature of antinuclear antibody HEp-2 cell patterns 2014–2015

*Edward K. L. Chan[1], Jan Damoiseaux[2], Orlando Gabriel Carballo[3,4], Karsten Conrad[5], Wilson de Melo Cruvinel[6], Paulo Luiz Carvalho Francescantonio[6], Marvin J. Fritzler[7], Ignacio Garcia-De La Torre[8], Manfred Herold[9], Tsuneyo Mimori[10,11], Minoru Satoh[12], Carlos A. von Mühlen[13] and Luis E. C. Andrade[14,15]**

Luis E.C. Andrade*, Werner Klotz, Manfred Herold, Karsten Conrad, Johan Rönnelid, Marvin J. Fritzler, Carlos A. von Mühlen, Minoru Satoh, Jan Damoiseaux, Wilson de Melo Cruvinel and Edward K.L. Chan, on behalf of the Executive Committee of ICAP[a]

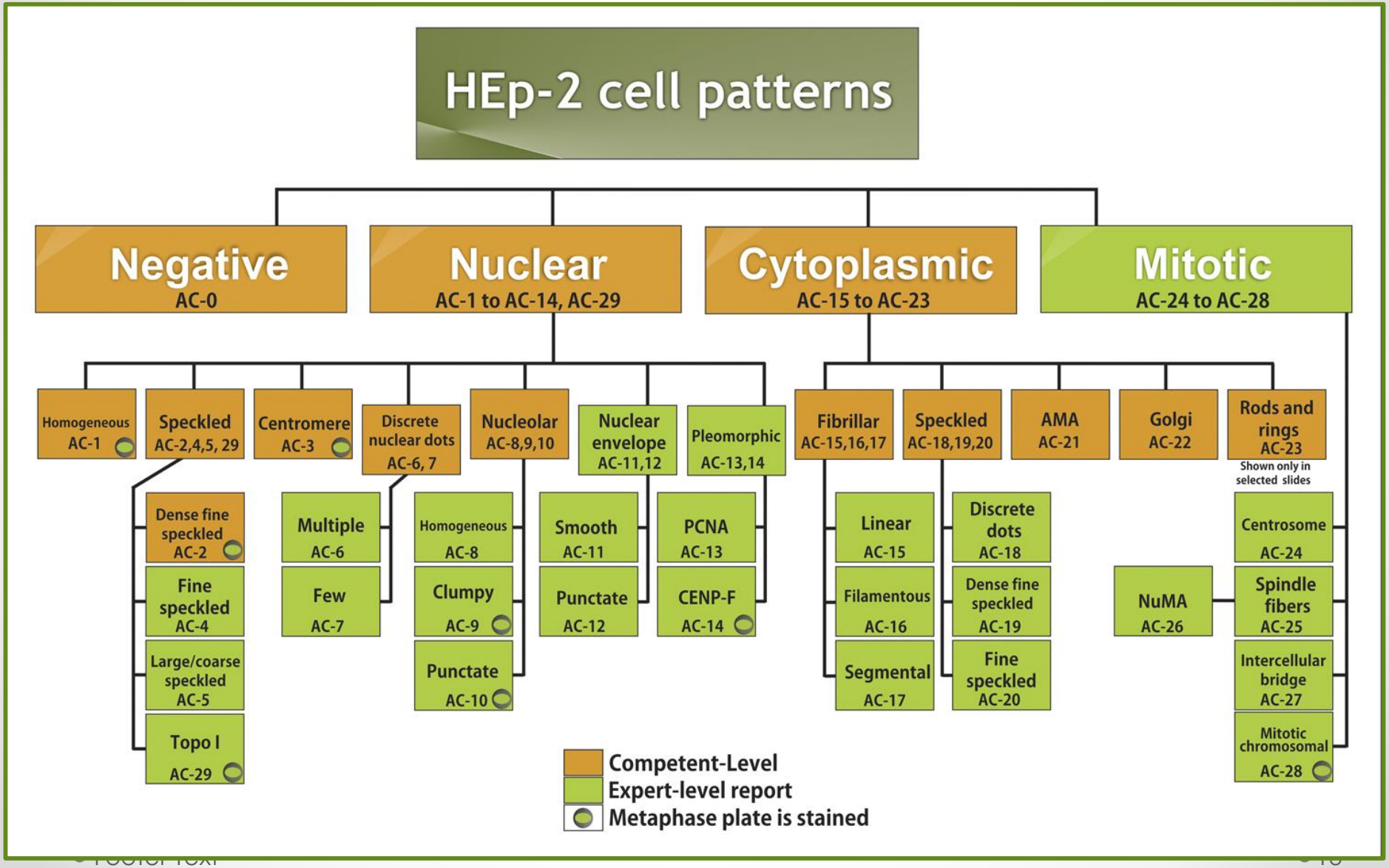
International consensus on antinuclear antibody patterns: definition of the AC-29 pattern associated with antibodies to DNA topoisomerase I

Manfred Herold*, Werner Klotz, Luis E.C. Andrade, Karsten Conrad, Wilson de Melo Cruvinel, Jan Damoiseaux, Marvin J. Fritzler, Carlos A. von Muhlen, Minoru Satoh and Edward K.L. Chan

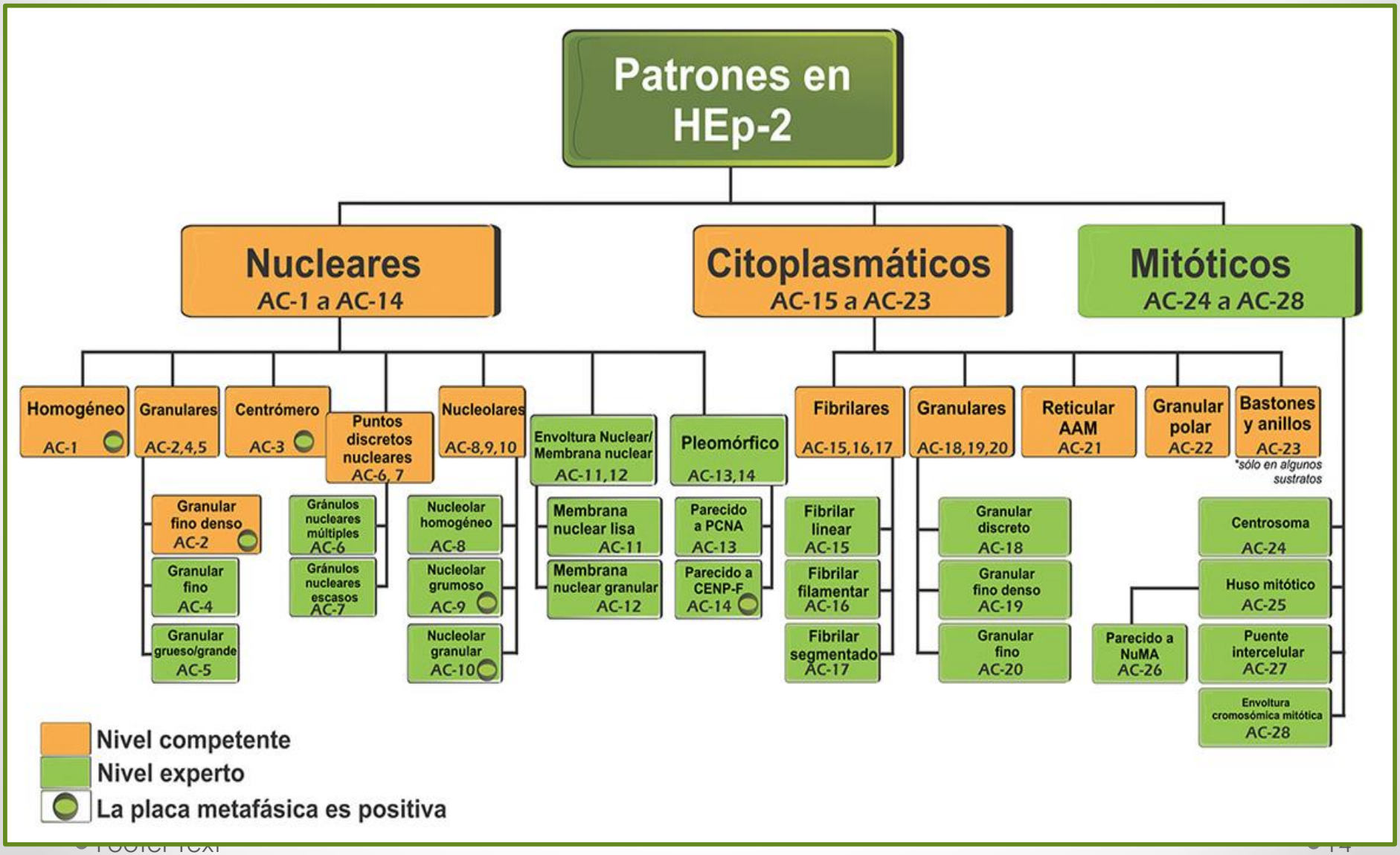
International Consensus on Antinuclear Antibody Patterns: defining negative results and reporting unidentified patterns

*Front Immunol 2015 6:412.
- *Clin Chem Lab Med 2018; 56(10): 1783–1788
*Clin Chem Lab Med 2018; 56(10): 1799–1802

Árbol de clasificación



Árbol de clasificación



Cómo informar los ANA

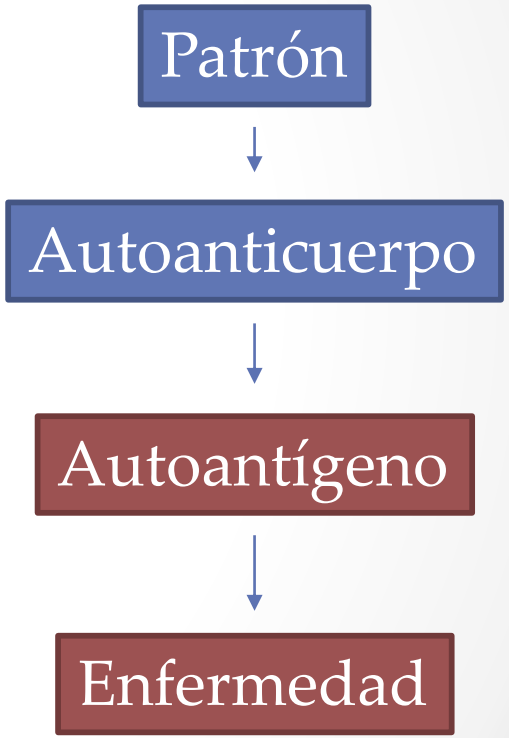
Examples illustrating the recommendations for reporting ANA test results

	Proposal 1: cytoplasmic & mitotic patterns considered ANA **positive**	*Proposal 2:* cytoplasmic & mitotic patterns considered ANA **negative**
A	Assay: ANA on HEp-2 cells Result: Negative Advice: -	Assay: ANA on HEp-2 cells Result: Negative Advice: -
B	Assay: ANA on HEp-2 cells Result: **Positive**, cytoplasmic speckled, 1:80 Advice: In case of suspicion of myositis, consider further testing for anti-synthetases, e.g. Jo-1	Assay: ANA on HEp-2 cells Result: **Negative**, cytoplasmic speckled, 1:80 Advice: In case of suspicion of myositis, consider further testing for anti-synthetases, e.g. Jo-1
C	Assay: ANA on HEp-2 cells Result: Positive, nuclear speckled, 1:160 and cytoplasmic reticular/AMA, 1:1280 Advice: In case of suspicion of autoimmune liver disease, consider confirmation of anti-mitochondrial antibodies	Assay: ANA on HEp-2 cells Result: Positive, nuclear speckled, 1:160 and cytoplasmic reticular/AMA, 1:1280 Advice: In case of suspicion of autoimmune liver disease, consider confirmation of anti-mitochondrial antibodies
D	Assay: ANA on HEp-2 cells Result: Positive, centromere, 1:1280 and nuclear homogeneous, 1:80 Advice: In case of suspicion of systemic sclerosis, consider confirmation of anti-CENP-B antibodies	Assay: ANA on HEp-2 cells Result: Positive, centromere, 1:1280 and nuclear homogeneous, 1:80 Advice: In case of suspicion of systemic sclerosis, consider confirmation of anti-CENP-B antibodies

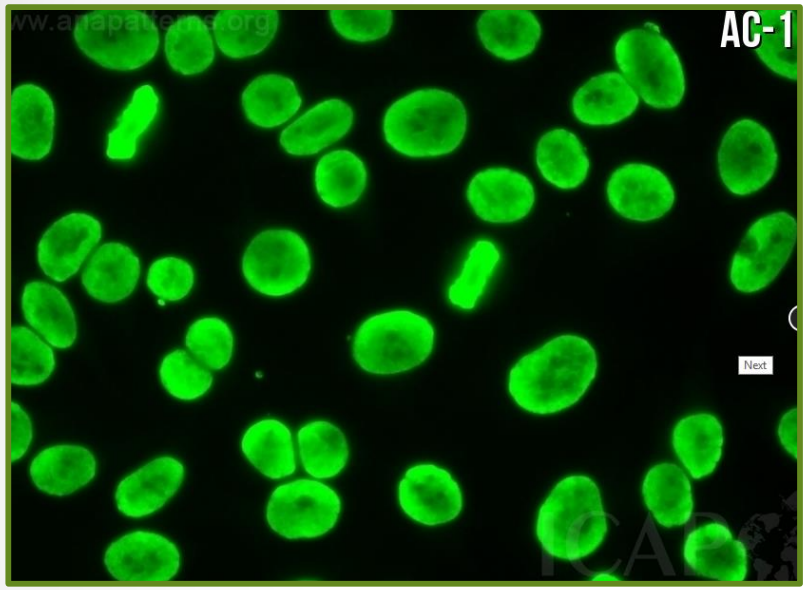
International consensus on ANA patterns (ICAP): the bumpy road towards a consensus on reporting ANA results. Autoimmun Highlights (2016) 7:1

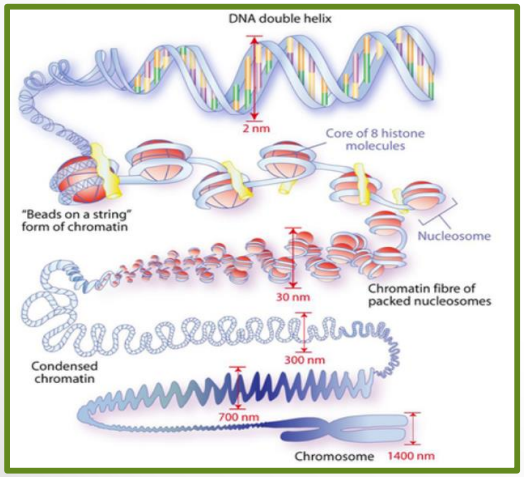
Patrones nucleares: interpretación

Patrón	Autoanticuerpo	Enfermedad
Homogéneo	Anti DNA	Lupus eritematoso sistémico
Homogéneo	Anti Nucleosomas	Lupus eritematoso sistémico
Homogéneo	Anti Histonas	Lupus inducido por fármacos
Centromérico	Centrómero B	Esclerodermia localizada (síndrome de CREST)
Moteado	Anti Ro / SSA Anti La / SSB	Síndrome de Sjogren
Moteado	Anti U1-RNP	Enfermedad mixta del tejido conectivo
Moteado	Anti-Ku	Solapamiento PM/ES
Moteado	Anti Mi-2	Dermatomiositis
Nucleolar	PM-Scl	Esclerosis Sistémica
Citoplásmatico	Anti Jo-1	Síndrome antisintetasa



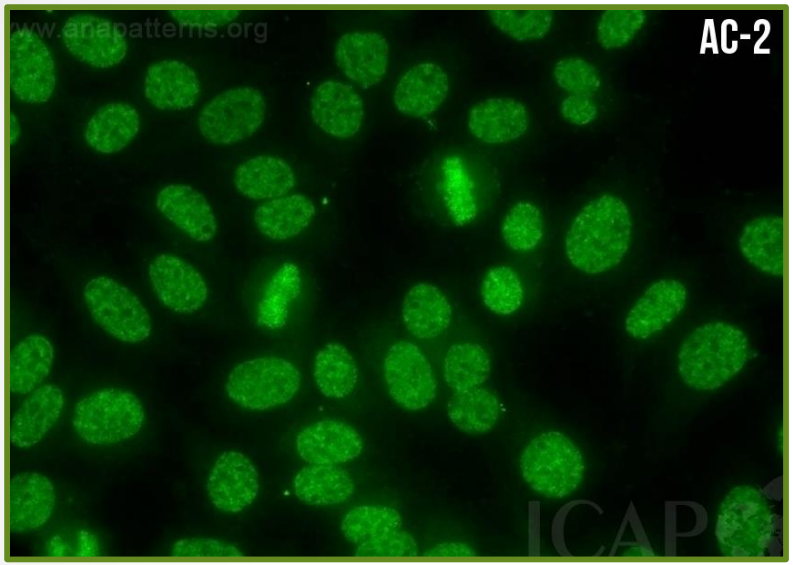
AC-1 Nuclear Homogéneo

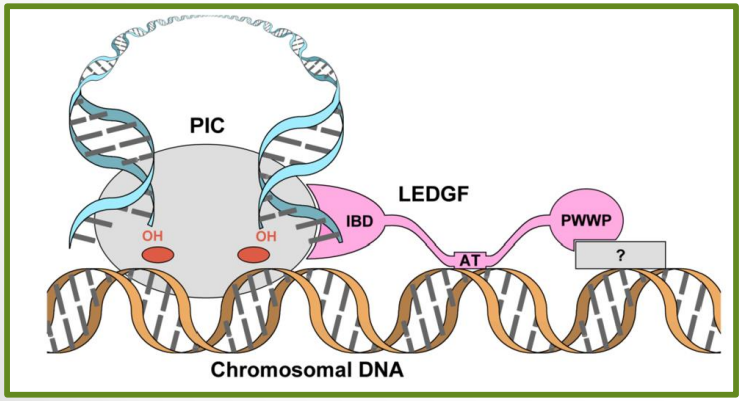




Antígenos asociados
dsDNA
Histonas
Nucleosomas
Enfermedades asociadas
LES
LES inducido por fármacos
Artritis idiopática juvenil

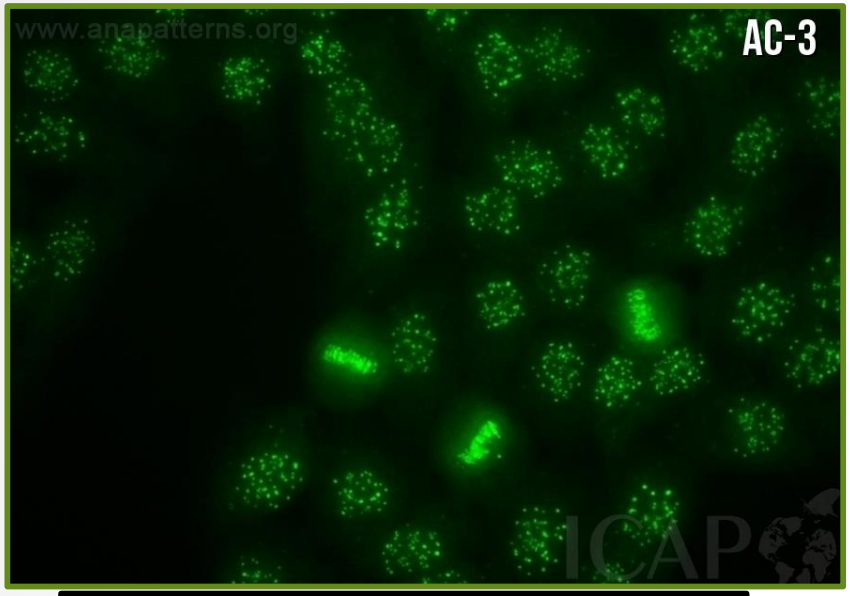
AC-2 Nuclear Moteado Fino Denso

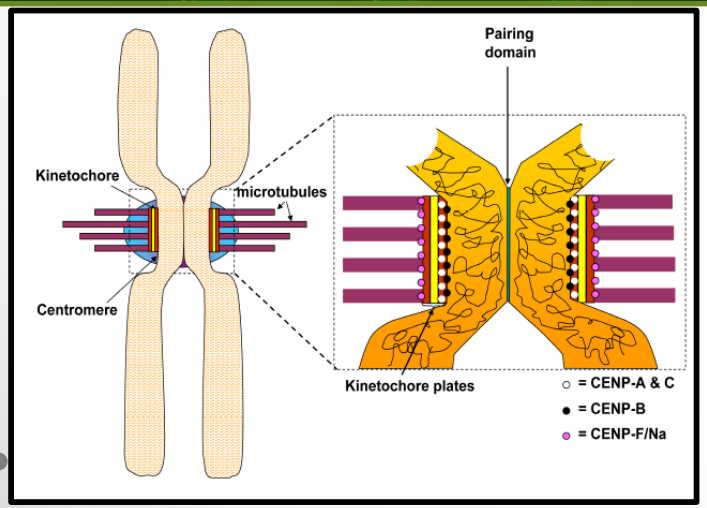




Antígenos asociados
DFS70 / LEDGF (Factor de crecimiento derivado del epitelio del cristalino y/o coactivador de transcripción del ADN p75, cofactor en la replicación del VIH)
Enfermedades asociadas
Raro en EAS

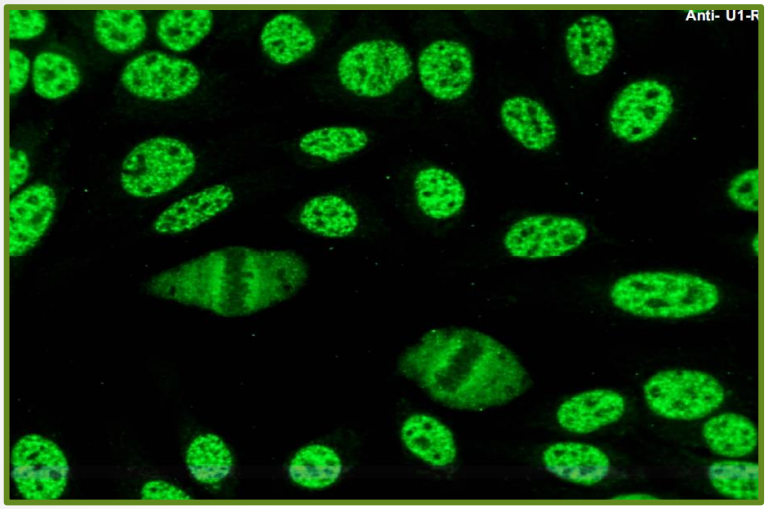
AC-3 Nuclear Centromérico

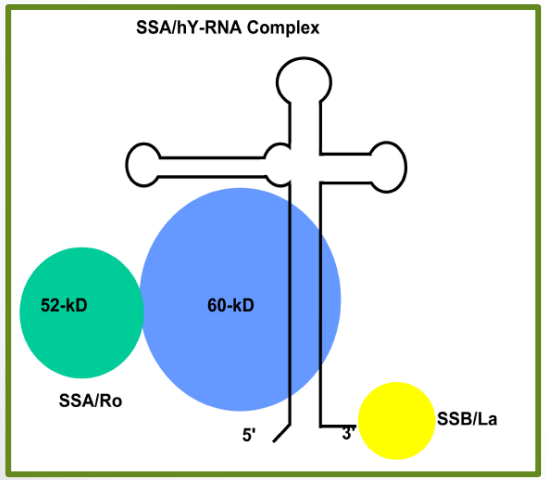




Antígenos asociados
Proteínas del centrómero: Cenp B, Cenp A y CenpC
Enfermedades asociadas
Esclerosis sistémica cutánea limitada Colangitis biliar primaria

AC-4 Nuclear Moteado Fino y AC-5 Moteado Grueso

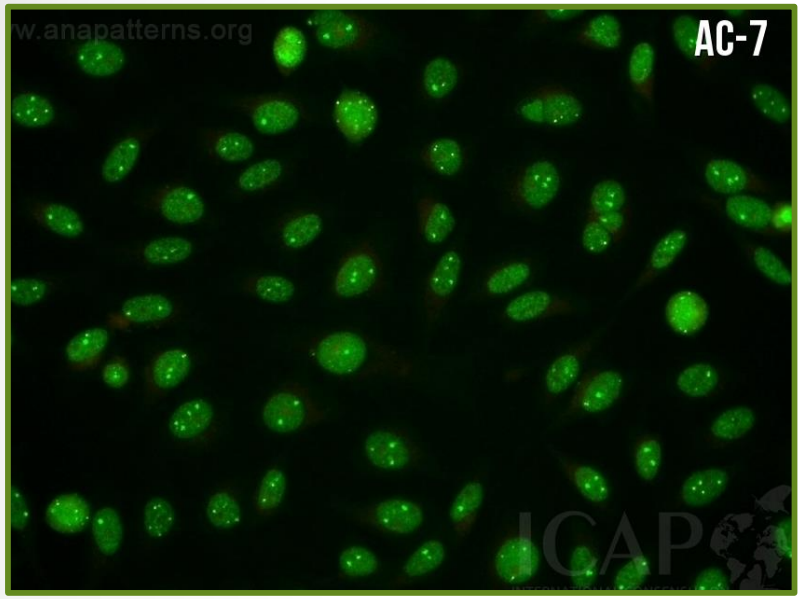




Antígenos asociados	
Mot. Fino:	**Mot. Grueso:**
SSA-Ro SSB-La Mi-2 TIF-1γ TIF-1ß Ku	hnRNP U1-RNP Sm RNA polimerasa III
Enfermedades asociadas	
Síndrome Sjögren LES Dermatomiositis Solapamiento DM/ES	EMTC LES ES

AC-6 y AC-7

Nuclear Puntos Discretos (Dot)

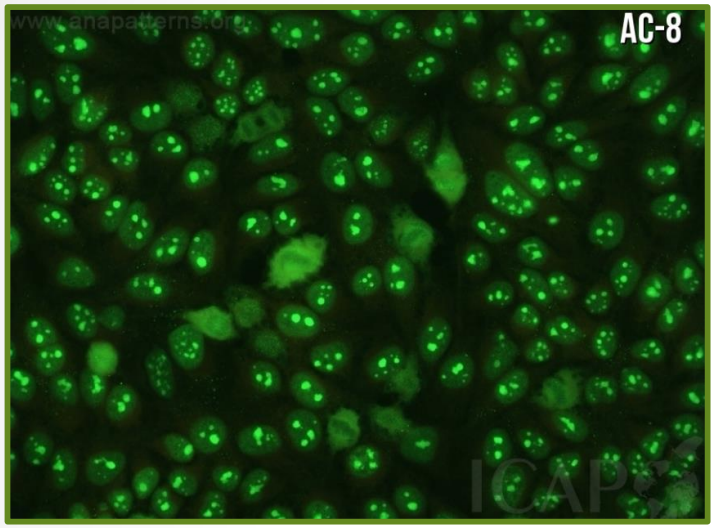


AC-7 Pocos puntos:
Cuerpos de Cajal, Cuerpo condensado (coiled body)

Antígenos asociados	
Pocos puntos (2-5) (AC-7): **p80-coilina** SMN (Survival Motor Neuron)	**Múltiples puntos (6-20) (AC-6):** Sp-100 proteínas PML MJ/NXP-2
Enfermedades asociadas	
SS LES PM **Individuos asintomáticos**	**CBP** EAS Dermatomiositis

AC-8, AC-9 y AC-10

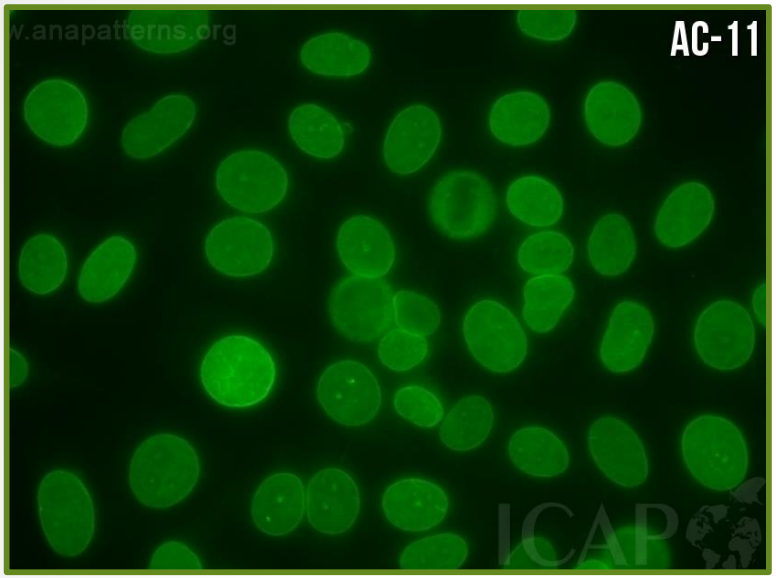
Nuclear Nucleolar

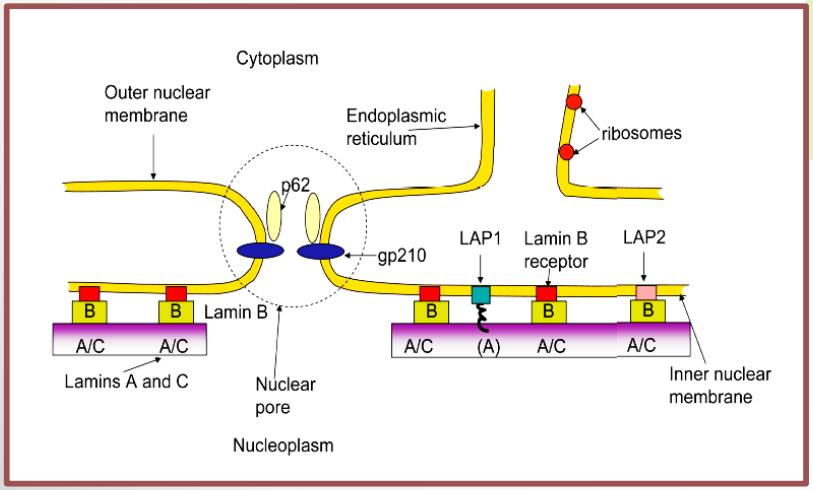


AC-8: Homogéneo
AC-9: Grumoso
AC-10: Moteado

Antígenos asociados		
AC-8: **PM/Scl-75** **PM/Scl-100** **Th/To** B23/nucleo-fosmina nucleolina No55/SC65	**AC-9:** **Fibrilarina** (U3-snRNP)	**AC-10:** ARN polimerasa I NOR-90
Enfermedades asociadas		
ES Solapamiento ES/PM	**ES**	**ES** SS

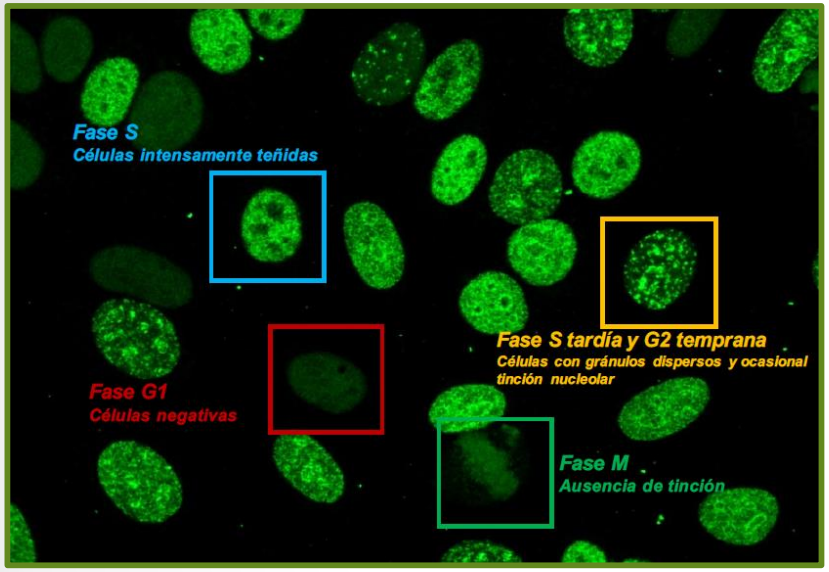
AC-11 y AC-12
Membrana Nuclear

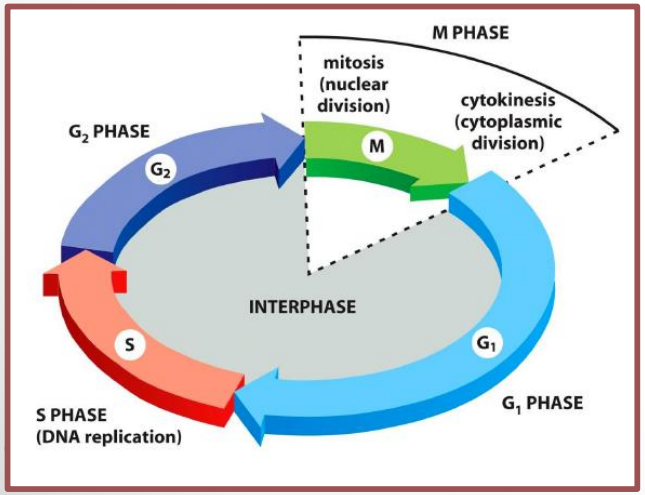




Antígenos asociados	
Lisa (AC-11): **Láminas A,B y C** y/o proteínas asociadas	**Porosa (AC-12):** Proteínas del poro nuclear **gp210**
Enfermedades asociadas	
LES SS artritis seronegativa	**CBP**

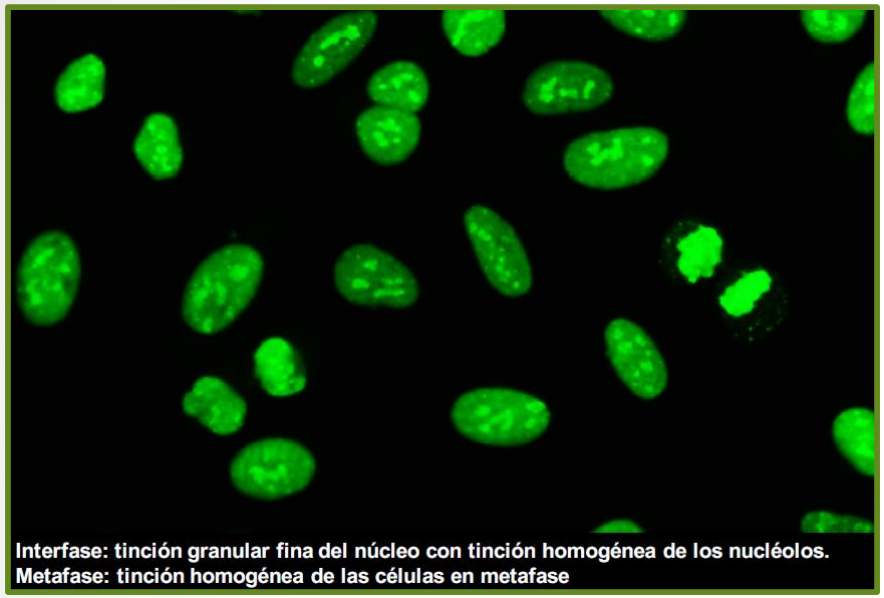
AC-13 y AC-14
Nuclear Pleomórfico

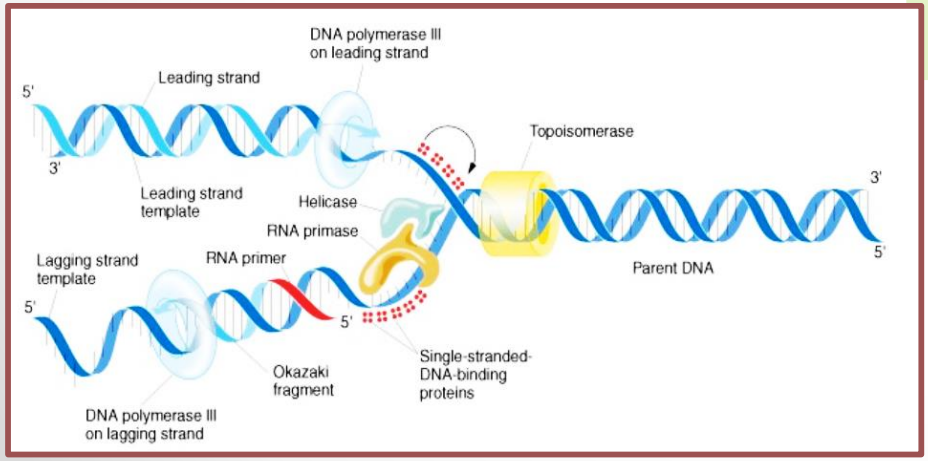




Antígenos asociados	
PCNA (AC-13): Antígeno nuclear de células proliferativas (**PCNA**)	**CENP-F (AC-14):** Proteína del centrómero F (**CENP-F**) (MSA-3, NSp-II)
Enfermedades asociadas	
LES (2-10%) Otras enfermedades	**Cáncer** (mama, pulmón, LNH) Otras enfermedades

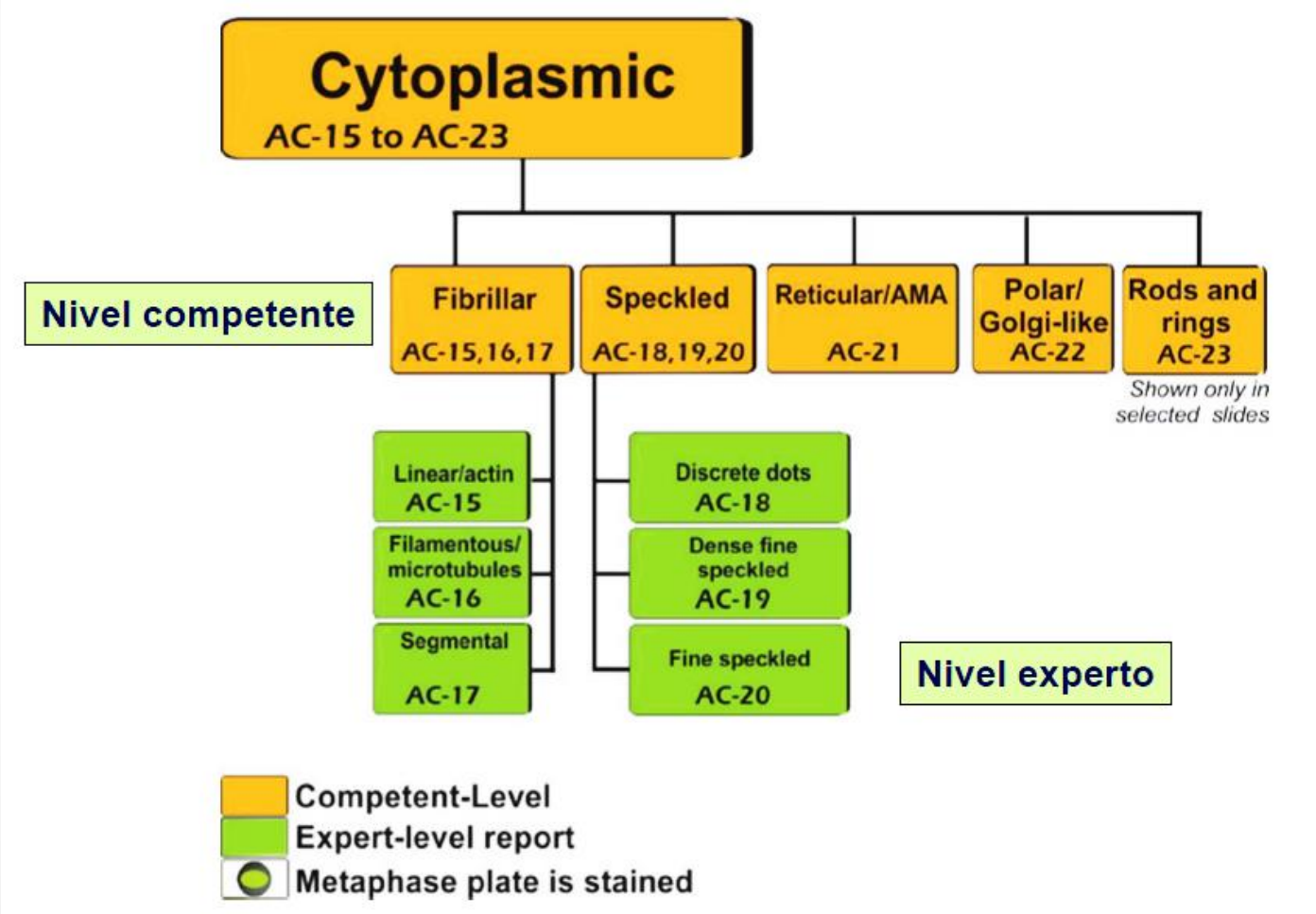
AC-29 Nuclear Topo I


Interfase: tinción granular fina del núcleo con tinción homogénea de los nucléolos.
Metafase: tinción homogénea de las células en metafase



Antígenos asociados
Topoisomerasa I /Scl70
Enfermedades asociadas
ES difusa (70%) **ES** limitada (13%)

Patrones citoplasmáticos



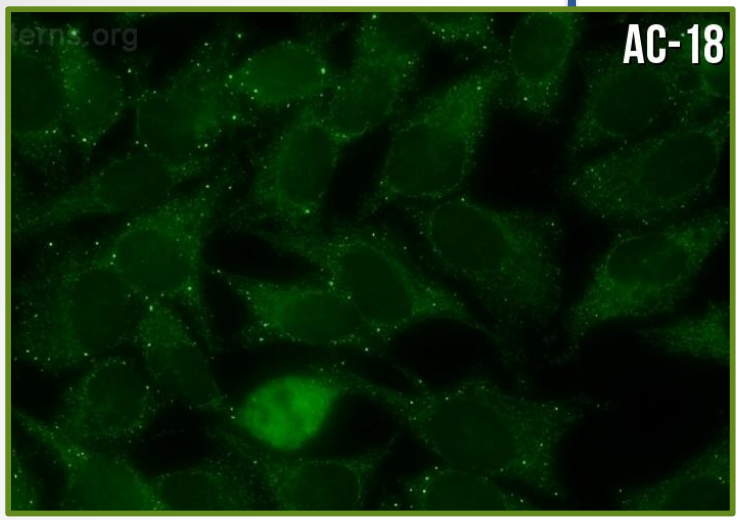
AC-15, AC-16 y AC-17
Citoplasmático Fibrilar

AC-15: Lineal
AC-16: Filamentoso
AC-17: Segmentado

AC-15: Lineal (Actina)
=
ASMA
(anti-músculo liso)

Antígenos asociados		
AC-15: **Actina** miosina no muscular	**AC-16:** Vimentina Citoqueratina Tropomiosina	**AC-17:** Actina alfa vinculina
Enfermedades asociadas		
HAI HCA Cirrosis Hep. CBP Miastenia G. EII HD (larga duración)	Enf. Infecciosas/ inflamatorias HD (l.d.) Enf. hepática alcohol EAS Sujetos sanos	Miastenia G. EII

AC-18, AC-19 y AC-20 Citoplasmático Moteado



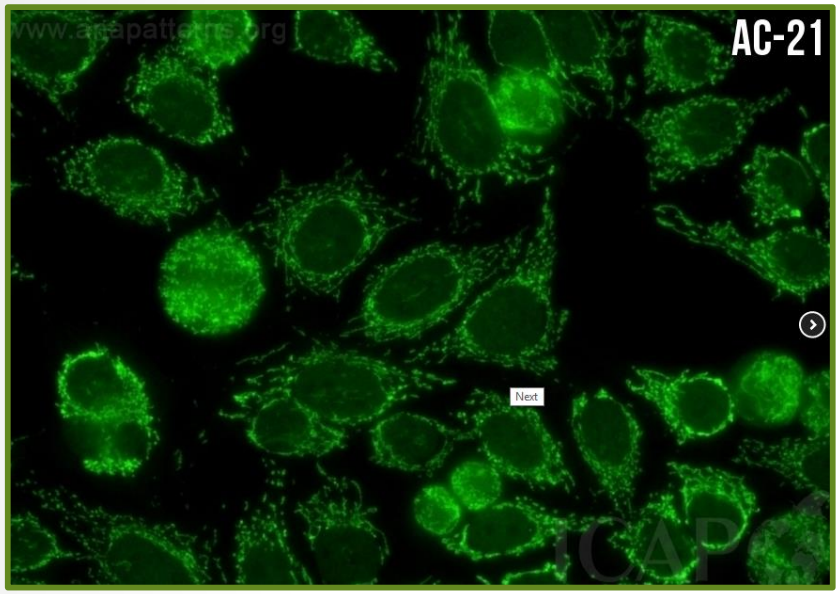
AC-18: Puntos discretos
AC-19: Fino Denso y Homogéneo
AC-20: Fino

Antígenos asociados		
AC-18: **Cuerpos glicina-triptófano (GWB)**	**AC-19:** **PL-7** **PL-12** **Proteína P ribosomal**	**AC-20:** **Jo-1**/ Histidil ARNt sintetasa
Enfermedades asociadas		
CBP EAS Enf. neurológicas autoinmunes	**Síndrome antisintetasa PM/DM** LES **LES neuro-psiquiátrico (*)**	**Síndrome antisintetasa PM/DM** ES limitada

*Proteína P ribosomal

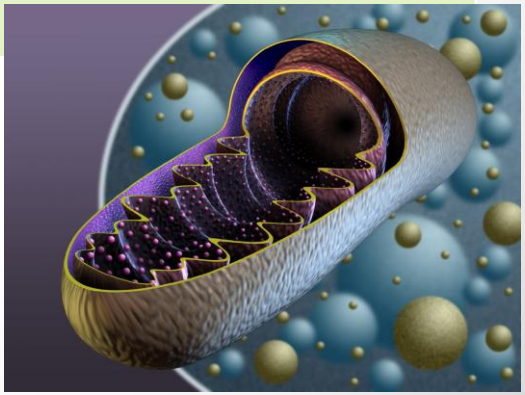
AC-21

Citoplasmático reticular tipo "AMA"



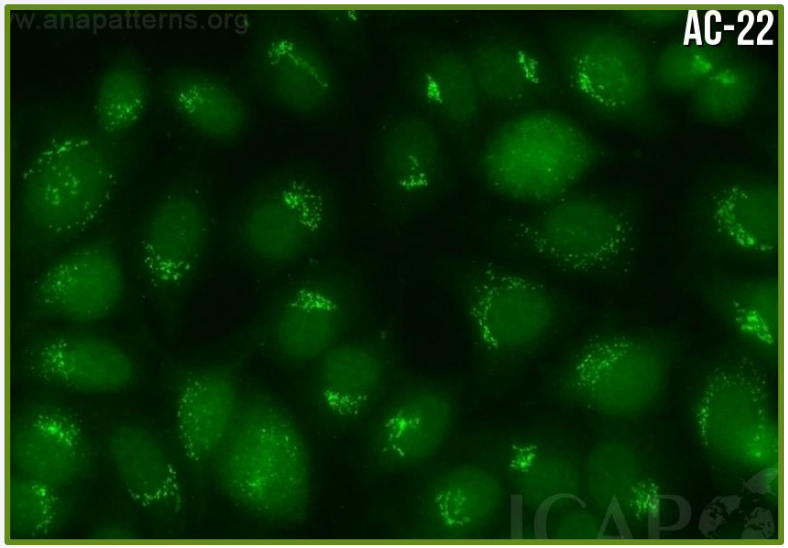
AC-21: Cit. reticular
=
AMA
(anti-mitocondriales)

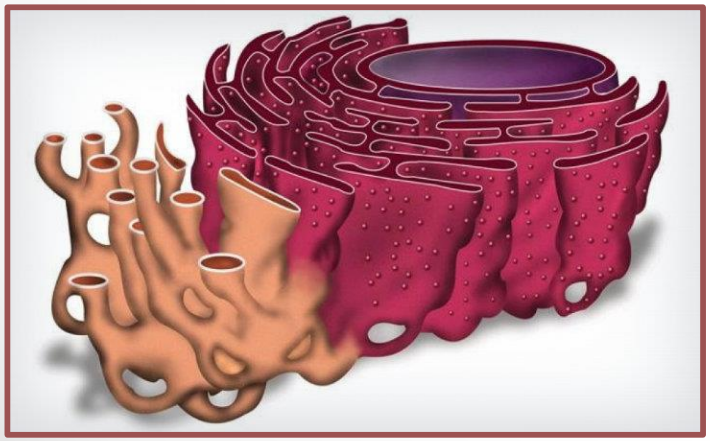
Antígenos asociados
Piruvato DHasa E2 (PDC-E2) (M2) Cadena ramificada complejo E2 2-oxoglutarato DHasa E2 Subunidad E1 del PDC /proteína X
Enfermedades asociadas
CBP ES (43%) Raro en EAS



AC-22

Citoplasmático polar/ap. de Golgi

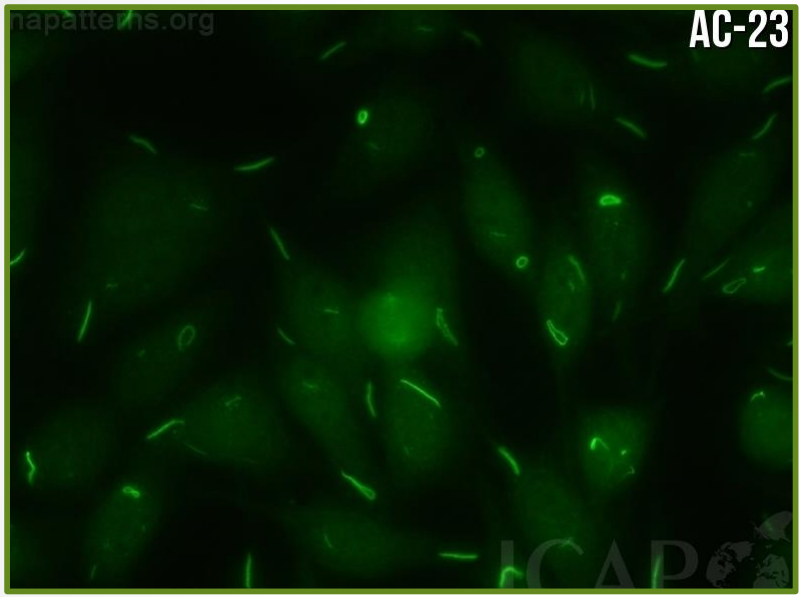




Antígenos asociados
Giantina/macrogolgina Golgina-95/GM130 Golgina-160 Golgina-97 Golgina 245
Enfermedades asociadas
Raro en: EAS Ataxia cerebelar idiopática Degeneración cerebelar paraneoplasica Infecciones virales

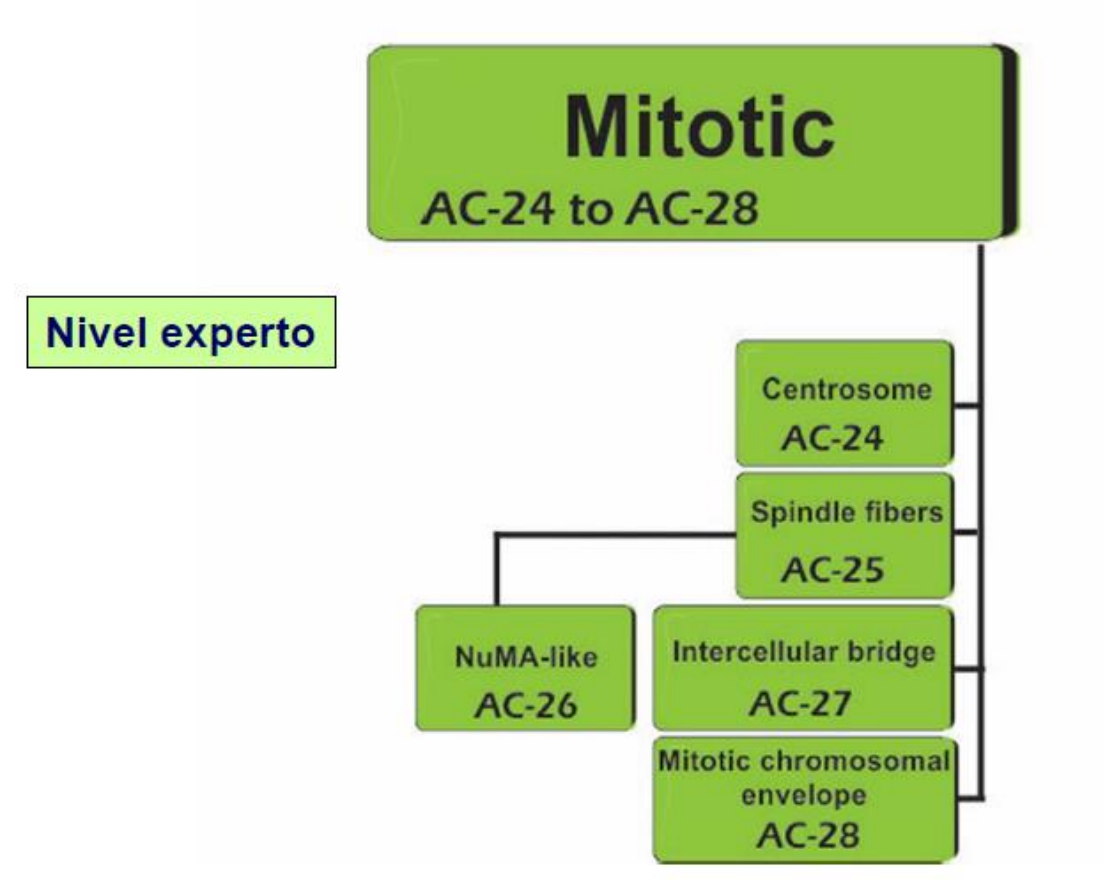
AC-23

Citoplasmático "Rods and Rings" (RR)



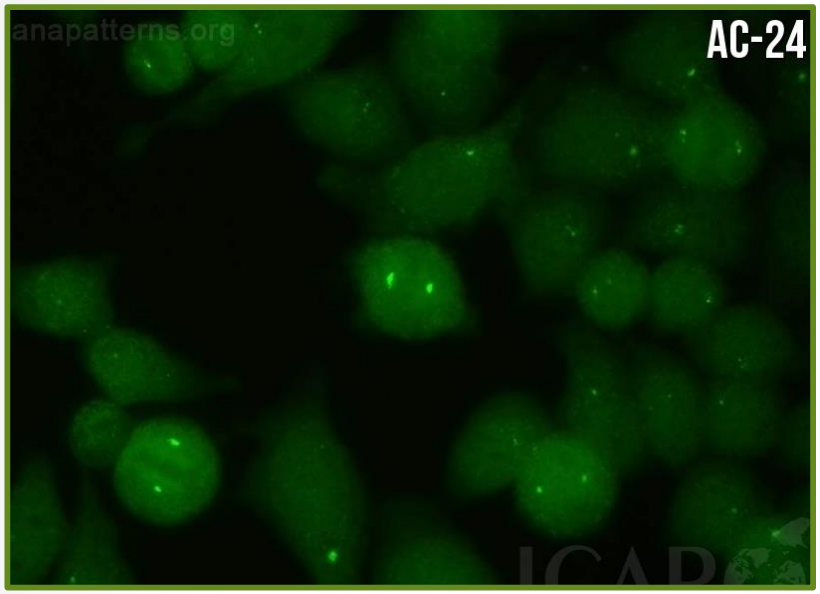
Antígenos asociados
IMPDH2 (Inosine-5'-monophosphate dehydrogenase 2)
Enfermedades asociadas
Algunos pacientes infectados por VHC tras tratamiento con IFN/ribavirina

Patrones mitóticos



AC-24

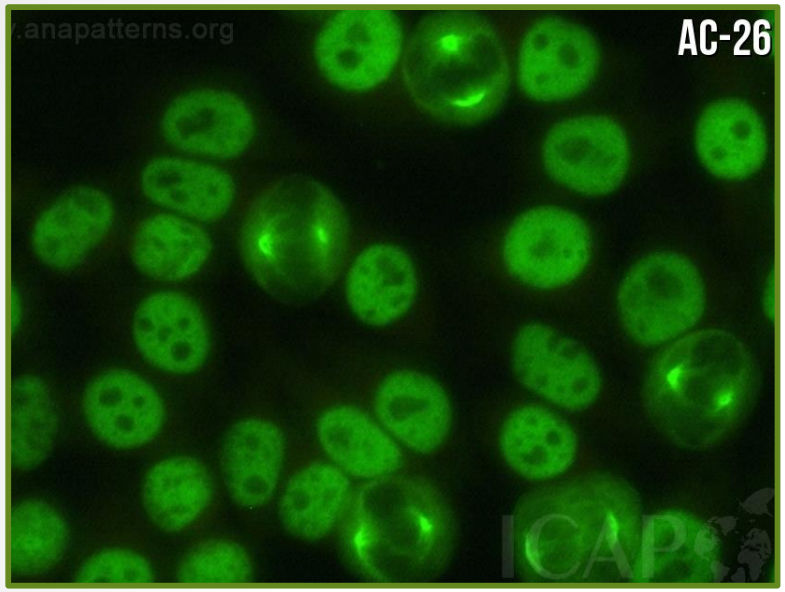
Mitótico Centrosoma (Centriolar)

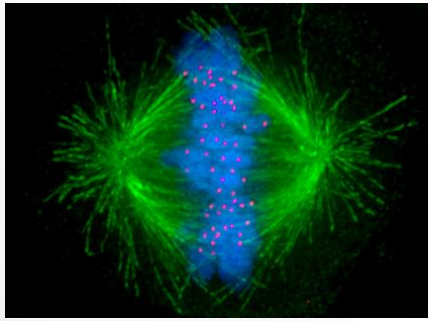


Antígenos asociados
Proteínas centriolares: Pericentrina Nineína Cep250 Cep110
Enfermedades asociadas
Raro en: ES Fenómeno de Raynaud Infecciones (virales y por micoplasmas)

AC-25 y AC-26

Huso mitótico y NuMA

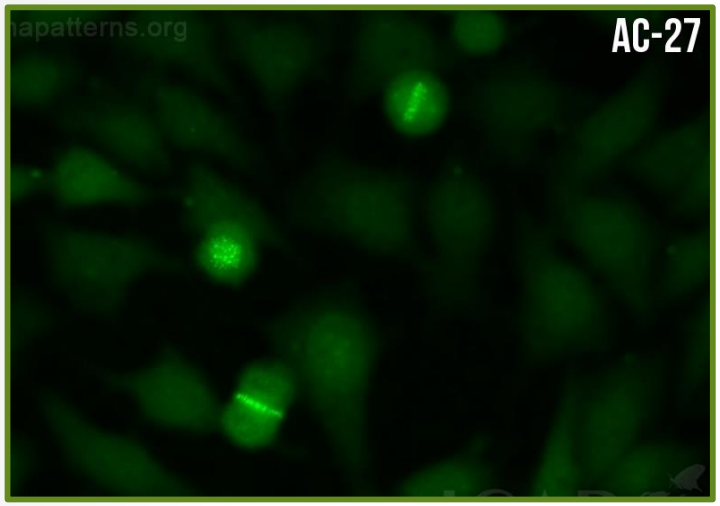




Antígenos asociados	
Huso mitótico(AC-25): HsEg5	**NuMa (AC-26):** **NuMA** (Anti-nuclear mitotic apparatus, MSA-1v, Centrofilina)
Enfermedades asociadas	
Raro en: SS LES	SS LES otros

AC-27 Mitótico Puente Intercelular

AC-28 Envoltura Cromosómica Mitótica



Antígenos asociados	
Puente Intercelular (AC-27): Puente que une las dos células hijas al final de la división celular, antes de que se separen	**Envoltura Cromosómica Mitótica (AC-28):** Histona H3 modificada, MCA-1
Enfermedades asociadas	
Raro en: ES Fenómeno Raynaud Tumores malignos	Raro en: Lupus discoide Leucemia linfocítica crónica (LLC) SS Polimialgia reumática

Enfermedades autoinmunes del tejido conectivo (EATC)

Característica presencia de **ANAs:**

- Presentes en EAS, pero también en órgano-específicas
- Presentes en infecciones crónicas, neoplasias, fármacos
- Presentes en individuos sanos (>60 años, mujeres…)
- Baja especificidad pero **alta sensibilidad**
- Solicitar siempre bajo sospecha clínica

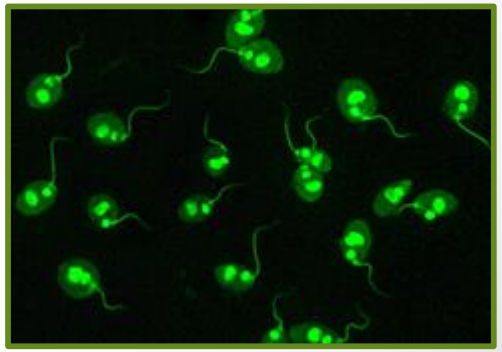
ANA ≠ EAS

Lupus Eritematoso Sistémico (LES)

- Criterios de clasificación según "Systemic Lupus International Collaborating Clinics" (2012):
  - Clínicos (incluyen criterios hematológicos):
    - Anemia hemolítica
    - Leucopenia o linfopenia
    - Trombocitopenia
  - Inmunológicos
- Para clasificar como LES: cumplir 4 criterios con al menos 1 criterio clínico y 1 inmunológico

LES: criterios inmunológicos

- Complemento bajo (C3, C4 o CH50)
- Coombs directo positivo (sin anemia hemolítica)
- ANA positivo
- Anti ds-DNA positivo (> 2 veces punto de corte)
- Sm positivo
- Anticuerpos anti-fosfolípidos:
  - AL
  - Anti-cardiolipina positivo medio/alto
  - Anti-ß2 glicoproteína I



LES y Autoanticuerpos

- ANA alta sensibilidad: casi todos los pacientes con LES presentan ANA
- En población general, muchos sujetos ANA positivos no padecen LES
- ANA negativo, descarta LES: alto VPN
- LES con ANA neg (3%): cardiolipinas, anti-dsDNA o anti-SSA (Ro)
- Los anti-dsDNA y anti-Sm solo en LES
- Los anti-dsDNA moderadamente relacionados con actividad enfermedad

LES. Autoanticuerpos.

Antígeno	*	Asociación clínica	Preva-lencia
dsDNA	✓	LES. Correlación con actividad y afectación renal	40-70
Sm	✓	LES	5-20
Nucleosoma		LES. Correlación con actividad y afectación renal	55-70
Histona		LES, Lupus por fármacos, AR y ES	>95
SS-A/Ro60		LES, Lupus cutáneo subagudo y L. neonatal. SS.	20-40
SS-B/La		LES, Lupus cutáneo subagudo y L. neonatal. SS.	10-20
U1-RNP		Lupus asociado a Sm. Diagnóstico EMTC.	30-40
Fosfolípidos	✓	Asociados a trombosis, abortos y trombocitopenia	30-40
Ribosomal P		Lupus con psicosis y/o depresión. Alta especificidad	10-30
PCNA		LES	2-10
Ku		LES. PM. ES.	10-30
C1q		Nefritis lúpica. Valor pronóstico.	20-60
* Criterio de clasificación			

Síndrome de Sjögren

- Diagnóstico
  - Criterios clínicos: sequedad ocular u oral…
  - Criterios inmunológicos: **anti-SSA (Ro60)** y anti-SSB (La)
- Los títulos NO se correlacionan con la actividad de la enfermedad
- "La" aislado es raro y no asociado al fenotipo típico de SS
- Ro52 aparece principalmente en: síndrome antisintetasa, PM/DM, y menos en SS y ES

Esclerosis sistémica

- Aparecen anticuerpos >90% de los pacientes
- **Anticuerpos específicos de ES:**
  - **Esd (difusa):** Scl-70, RNA polimerasas I y III y Fibrilarina (U3snRNP)
  - **ESl (limitada)**: Proteínas Centroméricas y Th/To
- **Anticuerpos no específicos de ES:**
  - Ku, PM/Scl, Ro52, NOR90, PDGFR

- El título no correlaciona con la actividad
- El tipo de ac. tiene valor pronóstico

Enfermedad mixta del tejido conectivo (EMTC)

- Enf. rara con manifestaciones clínicas de al menos dos EAS (LES, ES, PM/DM y AR): Raynaud, dedos o manos hinchadas, artritis, afectación pulmonar… Sin afectación renal.
- Evolución a otras EAS.
- Característica presencia de Anti- U1-snRNP (S y E de aprox. 100% a títulos altos)
- Pueden aparecer junto a dsDNA, Ro o cardiolipina, asociándose a manifestaciones clínicas de éstos

Miopatías Inflamatorias Idiopáticas (Polimiositis/Dermatomiositis)

- Enfermedades sistémicas raras con inflamación del músculo estriado y afectación cutánea
- Riesgo aumentado de neoplasias, sobre todo en DM
- La fibrosis pulmonar es frecuente
- Los autoanticuerpos en PM/DM están presentes en >80% de pacientes

Autoanticuerpos en PM/DM

- Son importantes herramientas en el diagnóstico (y pronóstico)
- Definen diversos subtipos (o fenotipos) de la enfermedad
- Están dirigidos contra proteínas intracelulares de amplia distribución en el cuerpo
- Según su precisión diagnóstica se clasifican en 2 grandes grupos
  - Anticuerpos específicos de la miositis: anti-sintetasa (ARS), Mi-2, SRP, MDA5, Tiff1γ, SAE, NXP-2, HMGCR
  - Anticuerpos asociados a la miositis: Ku, PM/Scl, Ro52.

MSA

Anticuerpo	Diana antigénica	Asociación clínica	Otra asociación (subgrupo)
Jo-1, PL7, PL12, EJ, OJ, KS…	Aa-ARNt sintetasas	PM (Síndrome antisintetasa)	EPI
Anti-Mi2 (α y β)	Subunidad NuRD	DM clásica	"Moderada"
Anti-SRP	Signal recognition particle	PM	Miositis necrotizante
Anti-MDA5	Melanoma differentiation-associated protein 5	DM	Amiopática + EPI rápid. progresiva
Anti-NXP-2	Nuclear matrix protein 2	DM	Calcinosis y cáncer
Anti-TIF-1γ	Transcriptional intermediary factor 1γ	DM severa	Cáncer
Anti-SAE	SUMO-1 activating enzyme	DM	Inicialmente amiopátca
Anti-HMGCR	3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase	Miopatía necrotizante	Asociada a estatinas
Anti-CN1A	5′-nucleotidasa citosólica	Miositis	Cuerpos de inclusión

Conclusiones

Los ANA son la primera elección en sospecha de EAS

Los ac. específicos sólo ante una alta sospecha clínica