



Actualització en patologies mèdiques prevalents

Malalties sistèmiques



Hospital Universitari
Mútua Terrassa



Hospital Universitari
MútuaTerrassa



Anticossos anti-nuclears

Quan cal demanar-los?

Mireia Fonolleda
Especialista en Immunologia
Secció d'autoimmunitat





Dr. Malcom Halgraves
(Mayo Clinic)



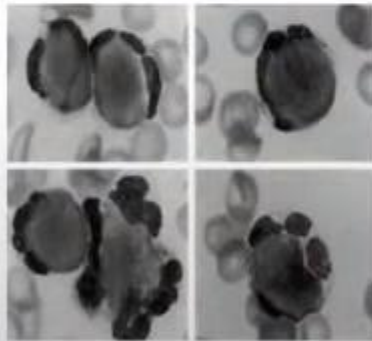
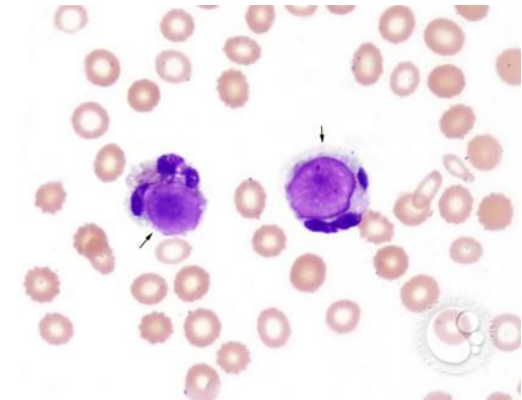
Dr. EJ Holborow
(Taplow, England)



Dr. Henry Kunkel
(Rockefeller University)



Dr. Eng M. Tan
(Rockefeller University)

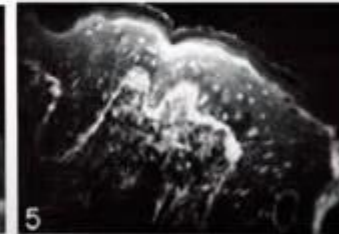
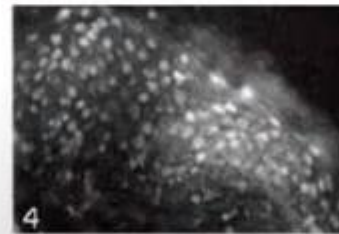


Discovered L.E. cell
phenomenon in patients
with SLE.
Proc Mayo Clinic 1948

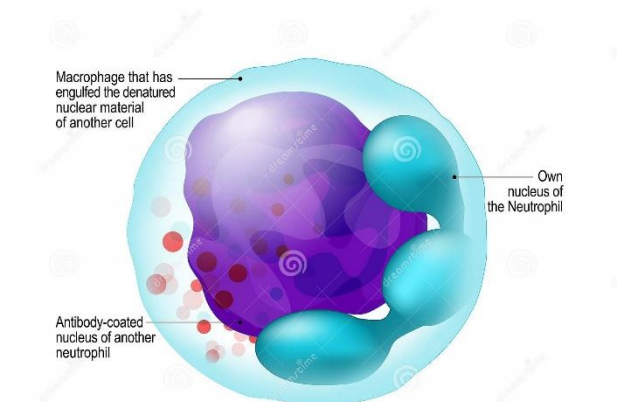


FIG. 4.—Same tissue as Fig. 3: section
pretreated with L.E. positive serum.
Bright nuclear staining on treatment with
conjugate. ($\times 160$.)

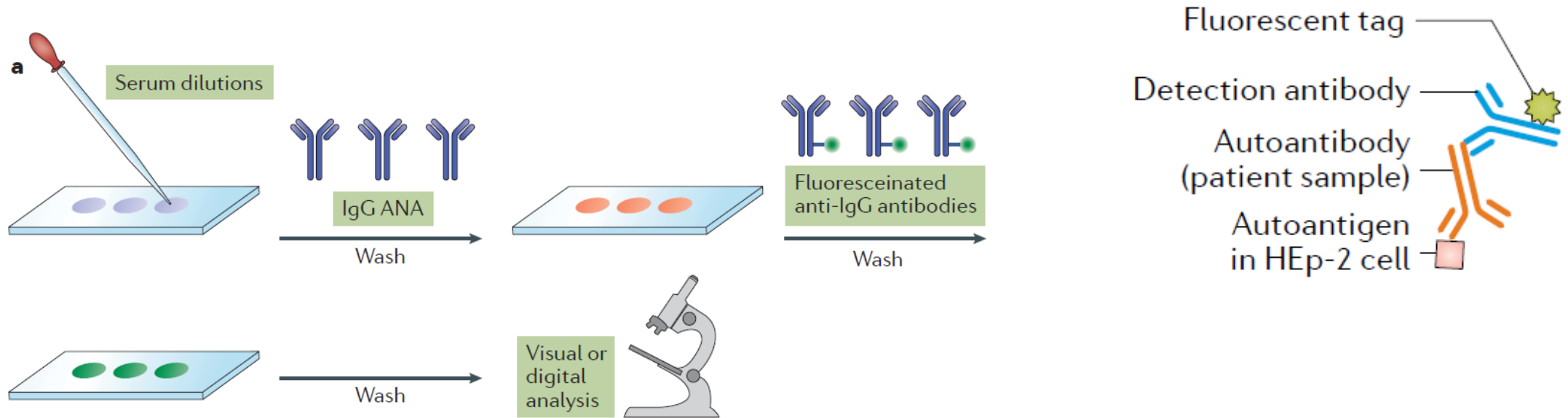
L.E. positive patient serum
gives nuclear fluorescence
staining in thyroid tissue.
British Medical Journal 1957



SLE patient serum contains Anti-Nuclear Factor
(ANF) that reacts with nuclei of lupus skin lesions,
as visualized by indirect immunofluorescence (IIF)
microscopy.
Arthritis & Rheumatism 1966



Com es detecten els ANA?



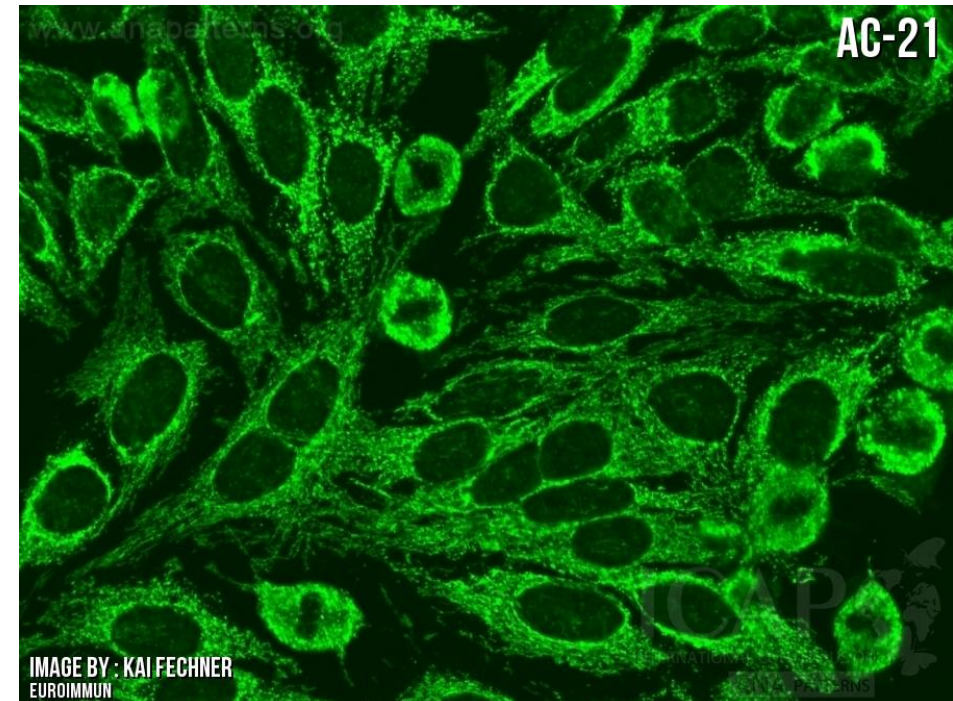
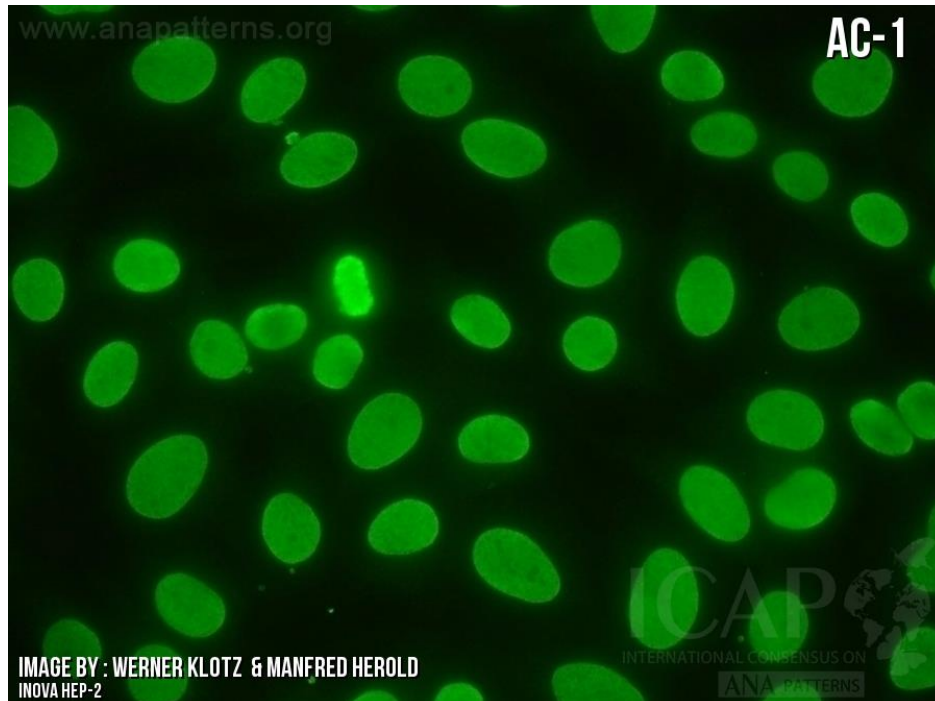
- La immunofluorescència indirecta és el mètode de referència amb cèl·lules Hep2. Qualsevol altre mètode l'ha d'igualar en sensibilitat (ACR 2015).
- La IFI detecta els ANA amb una elevada sensibilitat (excepte els Ac anti-Ro en <1%).
- La informació que aporta la IFI és el patró de tinció i el títol de la dilució a la qual s'observa la última tinció positiva del sèrum.



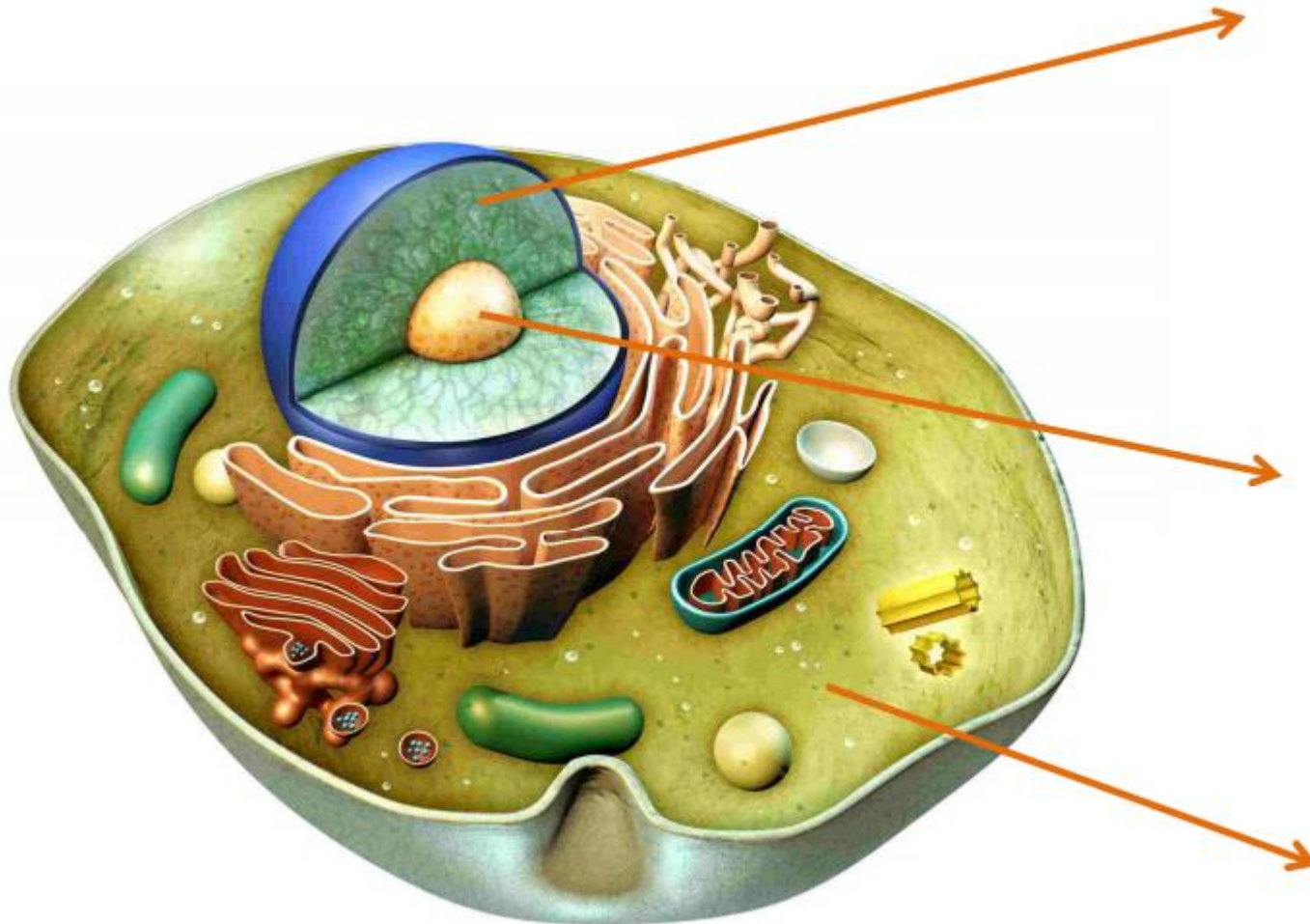
Anticossos antice·l·lulars: ANA i ENA

ANA: immunoglobulines contra diferents antígens nuclears i citoplasmàtics

ENA: Antígens extraïbles del nucli (Ro/La/Sm/RNP/Jo1/DNA, Scl70, centròmer...)



Estructura de la cèl·lula



NUCLI

- Nucleoplasma

- Proteïnes no histones associades a DNA: nucleosomes
- Proteïnes no histones associades a RNA: U1-RNP, SSA/Ro, SSB/La

- Nuclèol Th/To, fibrilarina (U3-RNP),..

- Cromatina dsDNA, histones

CITOPLASMA

SRP, t-RNA sintetases, SSA/Ro, Ribosomal P



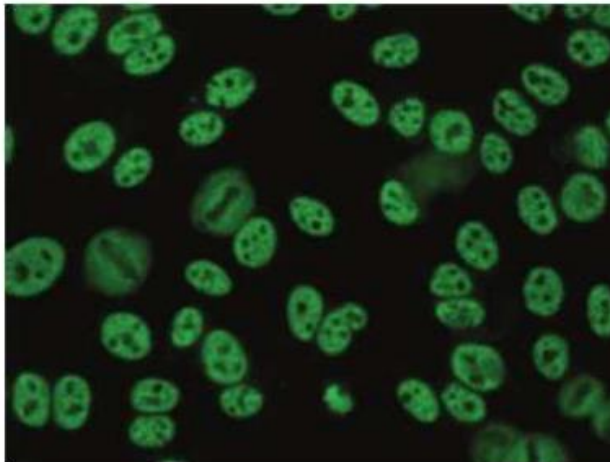
Nucleoplasma

snRNPs → U1 a U6

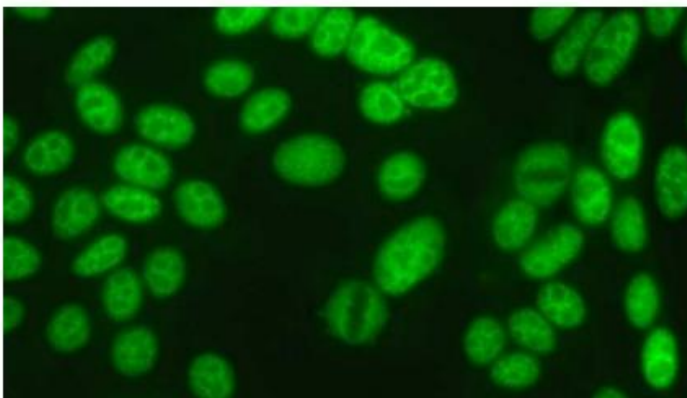
SSB-La/SSA-Ro (+tRNA)



EMTC



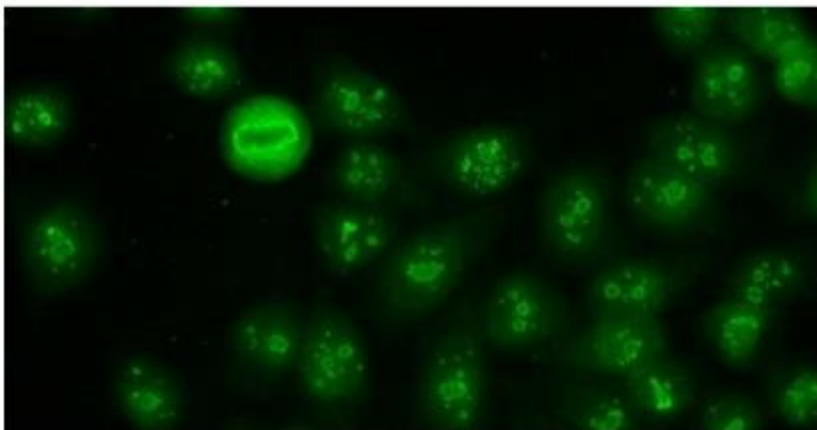
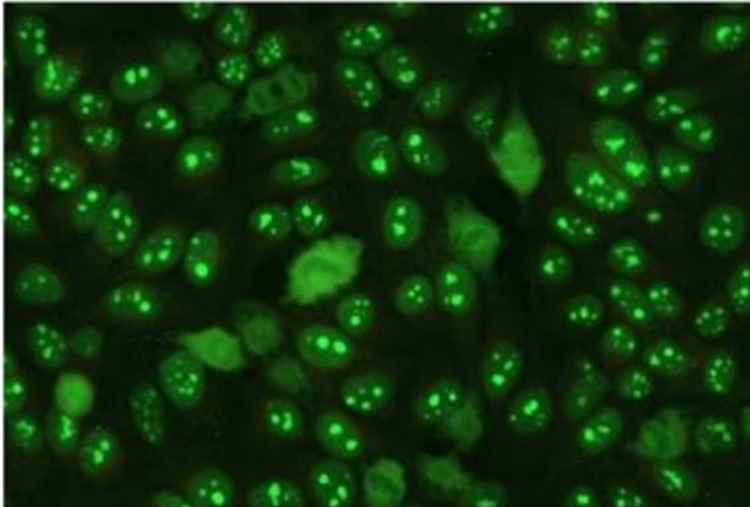
LES



SSj/LES

Nucleol

Ribonucleasa P (Th/To)
snRNPs → U3-RNP (Fibrilarina)



Esclerosi sistèmica

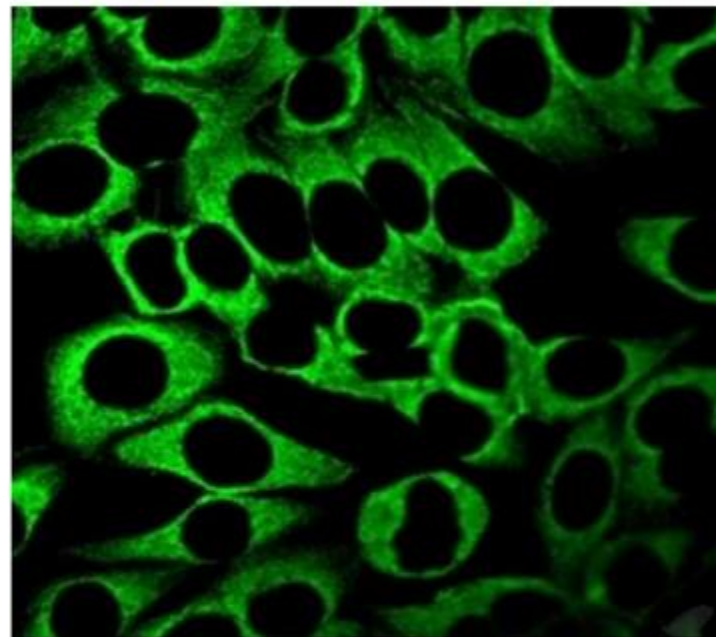
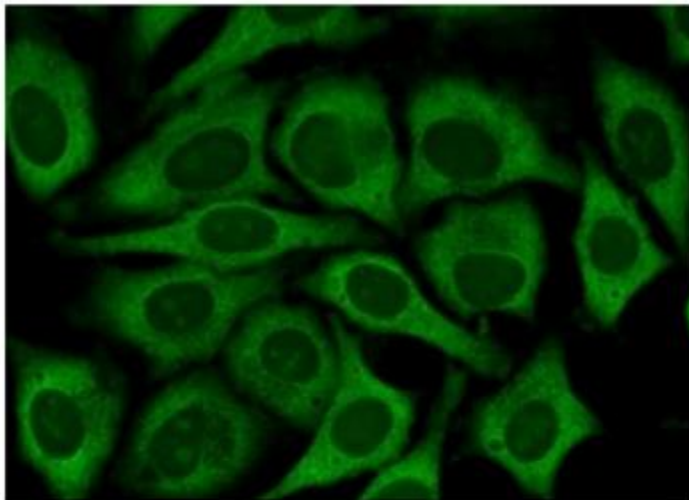


Citoplasma

Ribosoma

SRP

tRNA-sintetasa



Neurolupus

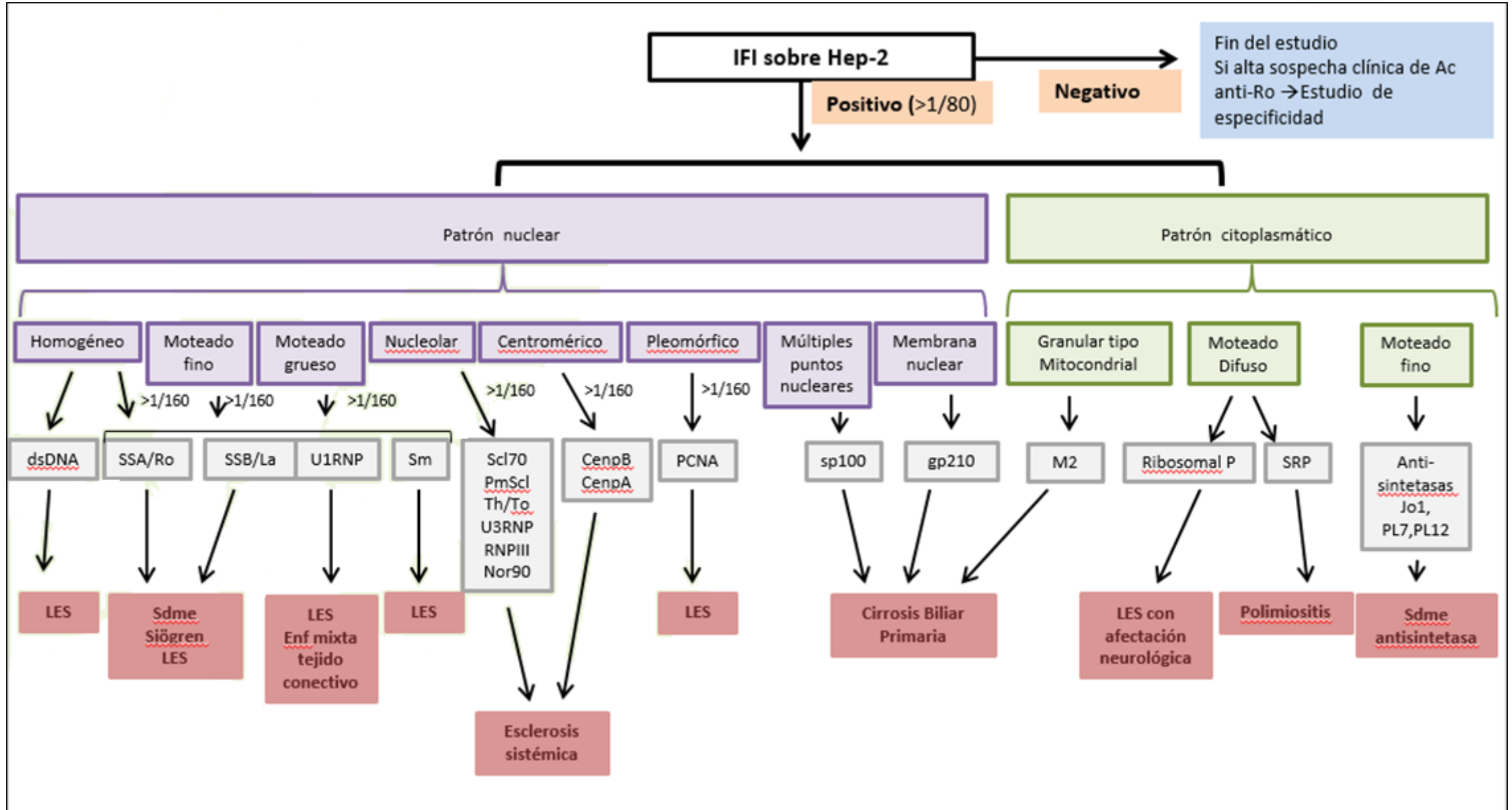


Miopatia necrotizant



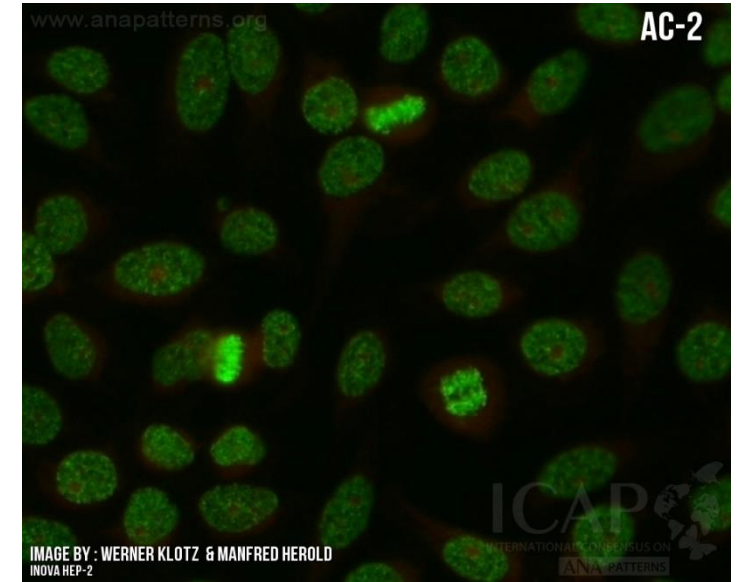
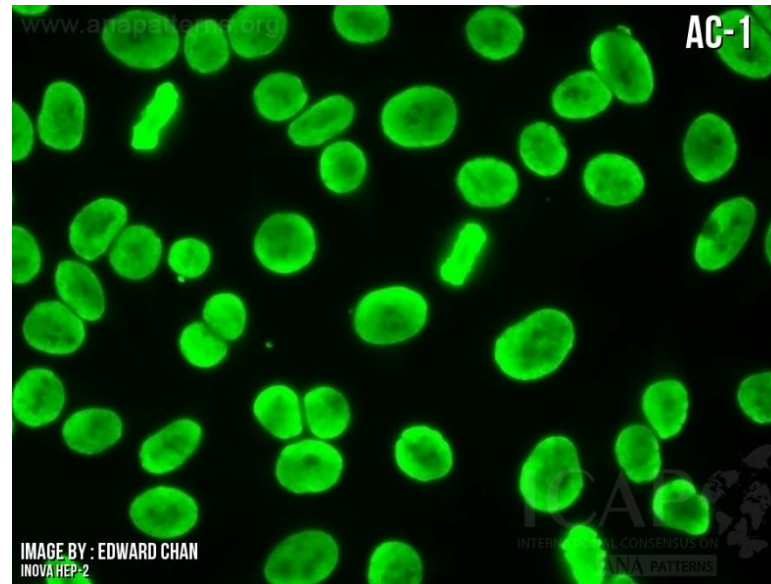
SAS



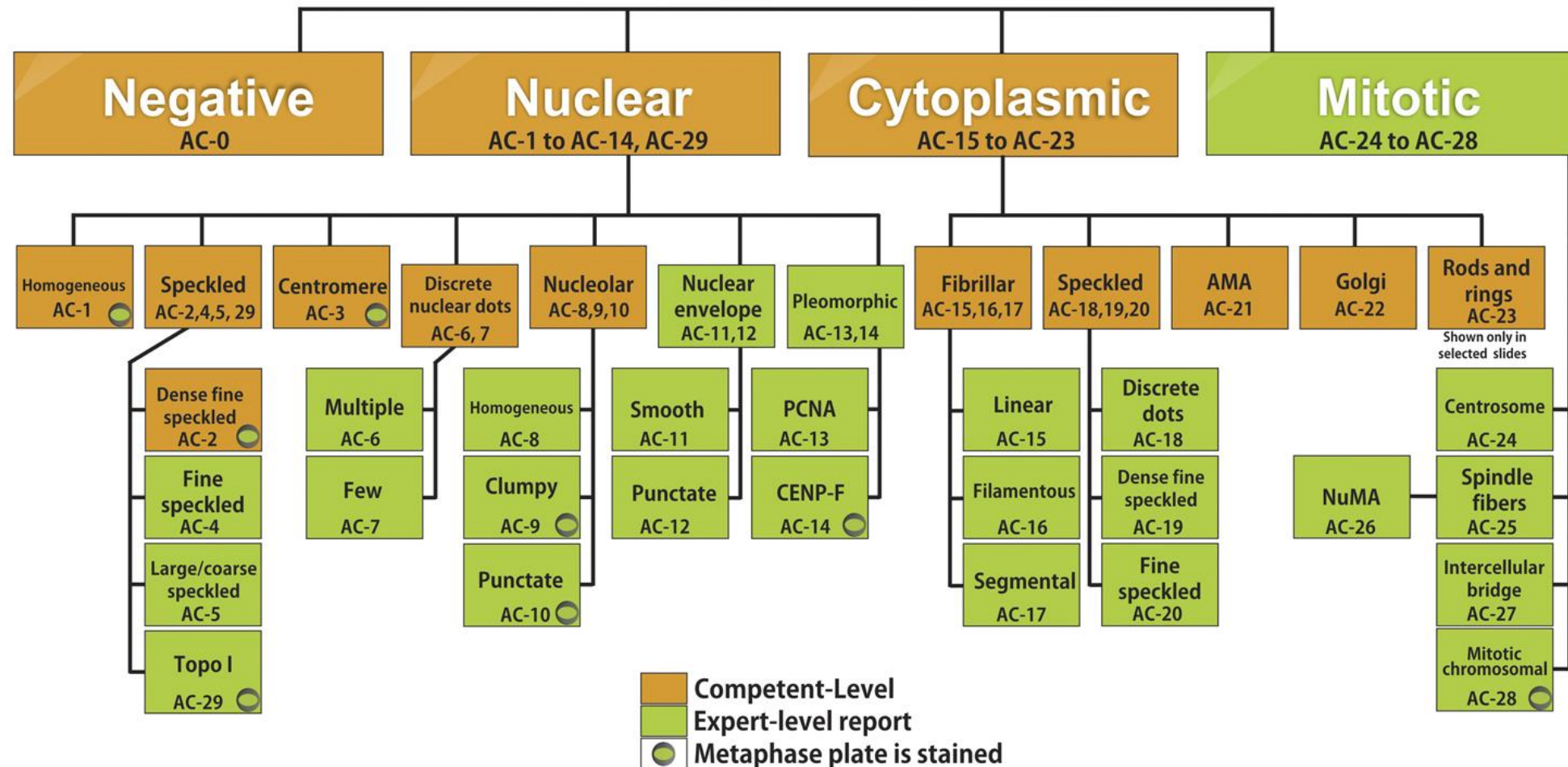


Patró de tinció

<https://www.anapatterns.org/>



HEp-2 cell patterns



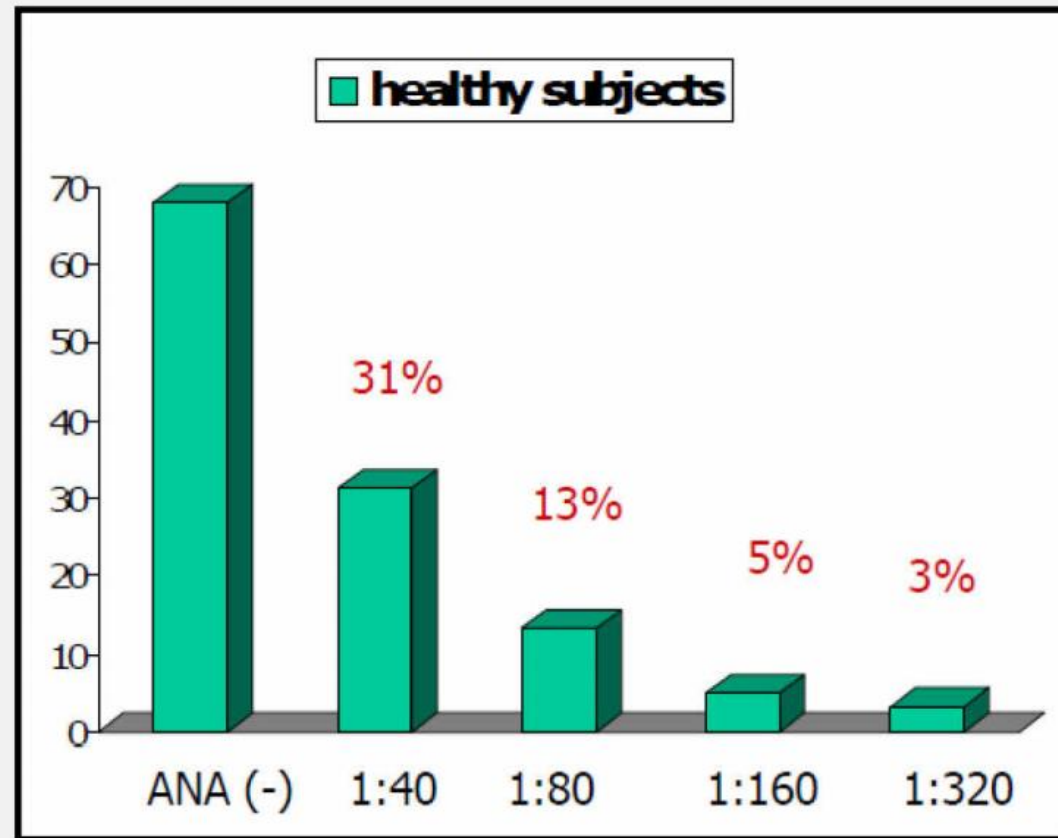
- El **patró** ens dóna una idea general de l'especificitat dels anticossos
- El **títol** és proporcional a la concentració d'anticossos
(Títol = última dilució de sèrum que dóna un resultat positiu)

LIMITACIONS ANA PER IFI

- Subjectivitat de la tècnica (diferència +/- 1 títol no rellevant)
- Un patró pot emmascarar-ne un altre i diferents dilucions poden donar diferents patrons
- Diferents patologies poden donar el mateix patró



Títol dels ANA i valor del títol



Tan EM et al. Range of antinuclear antibodies in "healthy" individuals.
Arthritis Rheum 1997;40:1601-11.



Valor predictiu positiu

Table 1 Positive Predictive Value of +Antinuclear Antibody Screen, by Titer				
ANA Titer	No. of Patients (Total = 232; Total With Available Titer at Time of Evaluation = 227)*	No. of Patients with ANA-Associated Rheumatic Diseases (and No. With SLE)	PPV (for any AARD) of +ANA Test Using This Titer as Cutoff Value	PPV of +ANA Test for SLE
≥1:40	227	20 (5)	8.8%	2.2%
≥1:80	200	20 (5)	10%	2.5%
≥1:160	172	20 (5)	11.6%	2.9%
≥1:320	101	19 (4)	18.9%	4%
≥1:640	67	18 (4)	26.9%	6%
≥1:1280	36	14 (2)	38.9%	5.6%
≥1:2560	13	6 (0)	46.2%	N/A
≥1:5120	7	4 (0)	57.1%	N/A
No titer	5	1 (0)	N/A	N/A

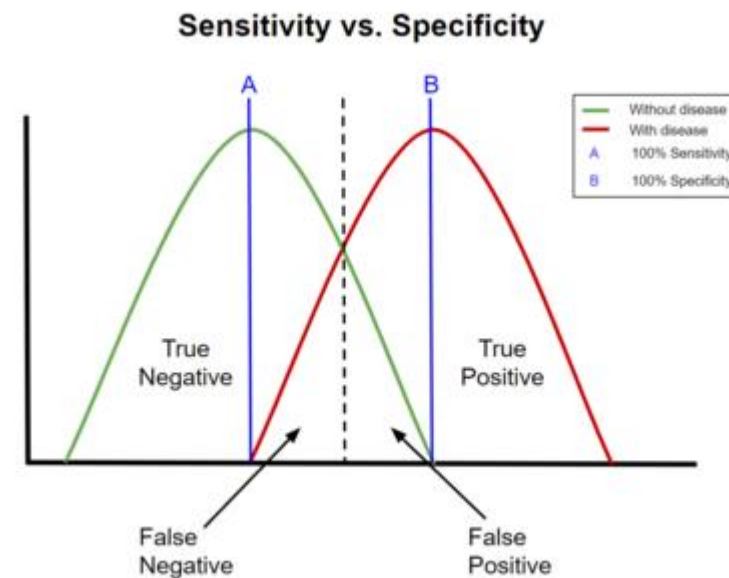
ANA = antinuclear antibody; AARD = antinuclear antibody-associated rheumatic disease; PPV = positive predictive value; SLE = systemic lupus erythematosus.

*Number of all patients in cohort with ANA positivity of at least this titer (ie, in this table, all patients with a titer ≥ 1:40, including those with titers up to > 1:5120, are included in the first row, all those with a titer of ≥1:80 are included in the second row, and so forth).



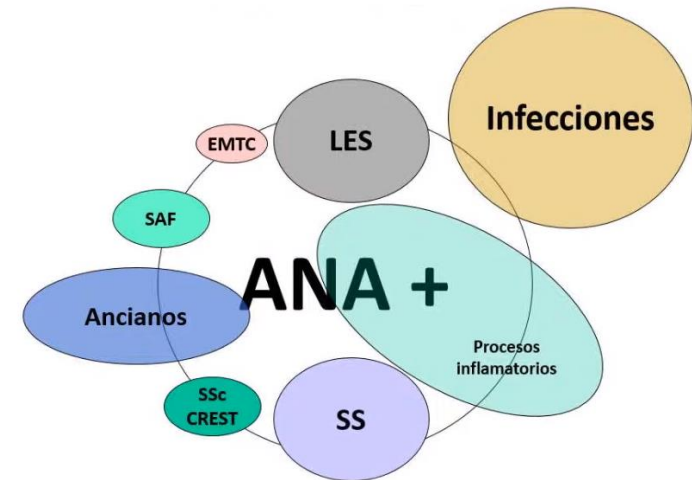
Títol dels ANA i valor del títol

- Dilució de cribratge 1/80
- Es recomana el canvi a 1/160
- Criteris classificació ACR/EULAR 2019 de LES demana ANA $\geq 1/80$ com a criteri d'entrada
 - Sensibilitat 97,8%
 - Especificitat 74,7%



Significació clínica del ANA

- ANA freqüents en gent sana, especialment a títol baix:
 - 1/40 32% de sans
 - 1/80 13% de sans
 - 1/160 5% de sans
- La gent gran tenen major prevalença d'ANA+ sense significat clínic, degut a l'increment de l'autoimmunitat per l'envelliment
(la majoria MAS debuten en edats més joves i en dones)
- Els ANA es detecten freqüentment en MAS (LES, Sjögren, MMTTC, SSc,...) però també en altres condicions

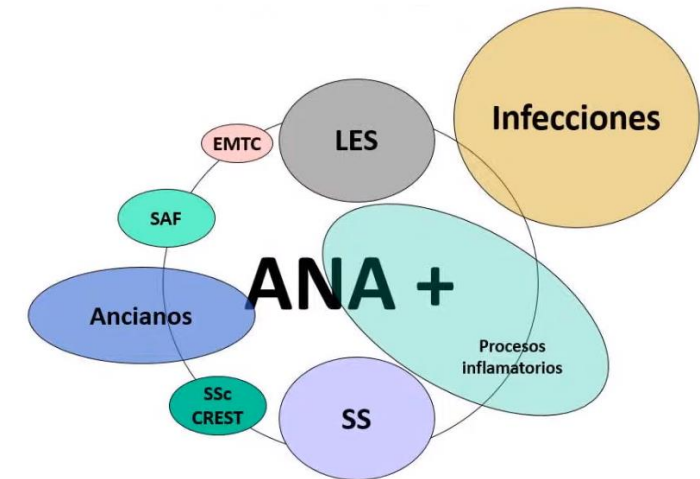


Infecciones	Enfermedades autoinmunes órgano-específicas
Virus: HIV, HCV, EBV, CMV, B19 Infecciones bacterianas crónicas Infecciones por micobacterias	<i>Tiroiditis de Hashimoto</i> (46%) Graves-Basedow (50%) Colangitis autoinmune (30%) Hepatitis autoinmune (91-100%) CBP (10-40%) HAP idiopática (40%) FPI (10%) Esclerosis múltiple (25%) PTI (20-30%)
Fármacos	
Hidralazina, procainamida, antitiroideos, beta-bloqueantes, minociclina, anti-TNFα , isoniazida, penicilamina, inmunomoduladores	
Neoplasias	Miscelánea
Hematológicas (linfomas) Tumores sólidos (adenocarcinomas)	PM/DM (40-80%) AIJ (20-50%) Artritis reumatoide (30-50%) Implantes de silicona (15-25%)



Significació clínica del ANA

- Els ANA no són molt específics però recolzen el diagnòstic de les MAS
- Inclús a títol elevat (1/640, 1/1280 o superior) tenen un VPP <30% per a les MAS i <10% per al LES
- En 4 de cada 5 resultats d'ANA positius per IFI no es detecta l'antigen amb rellevància clínica que reconeixen



Estudi de l'especificitat dels ANA

Patró de ANA → ENA (*extractable nuclear antigen*)



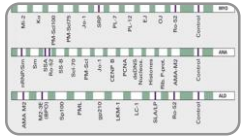
FEIA (fluoroimmunoanàlisi)

- Substrat: CAP cel·lós
- Conjugat: Anti-Ig humana-enzim (β -galactosidasa)



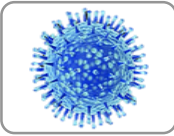
ELISA (enzimimmunoassaig)

- Substrat: Microplaca
- Conjugat: Anti-Ig humana-enzim (peroxidasa rave, fosfatasa alcalina)



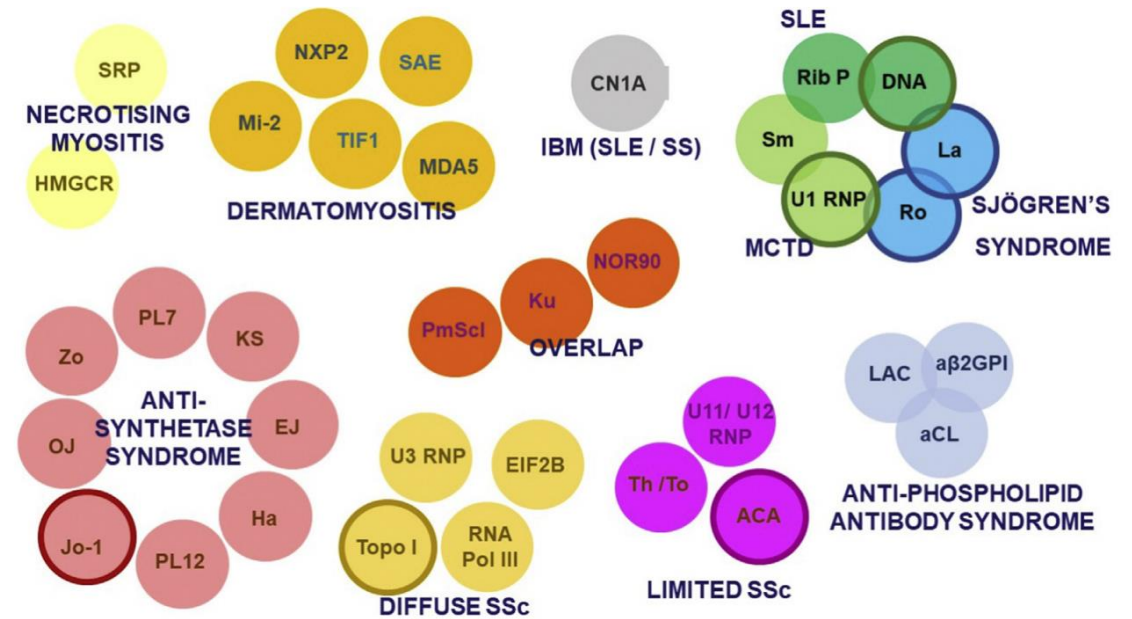
IMMUNOBLOT (*line or dot blot*)

- Substrat: Membrana nitrocel·lulosa
- Conjugat: Anti-Ig humana-enzim (peroxidasa rave, fosfatasa lcalina)



CLIA (quimioluminescència)

- Substrat: Partícula paramagnètica
- Conjugat: Anti-Ig humana-isoluminol



Rellevància dels ANA negatius per IFI

- Anticossos no sempre detectables per IFI:

Ro60

Ro52

ribosomal P

Jo1

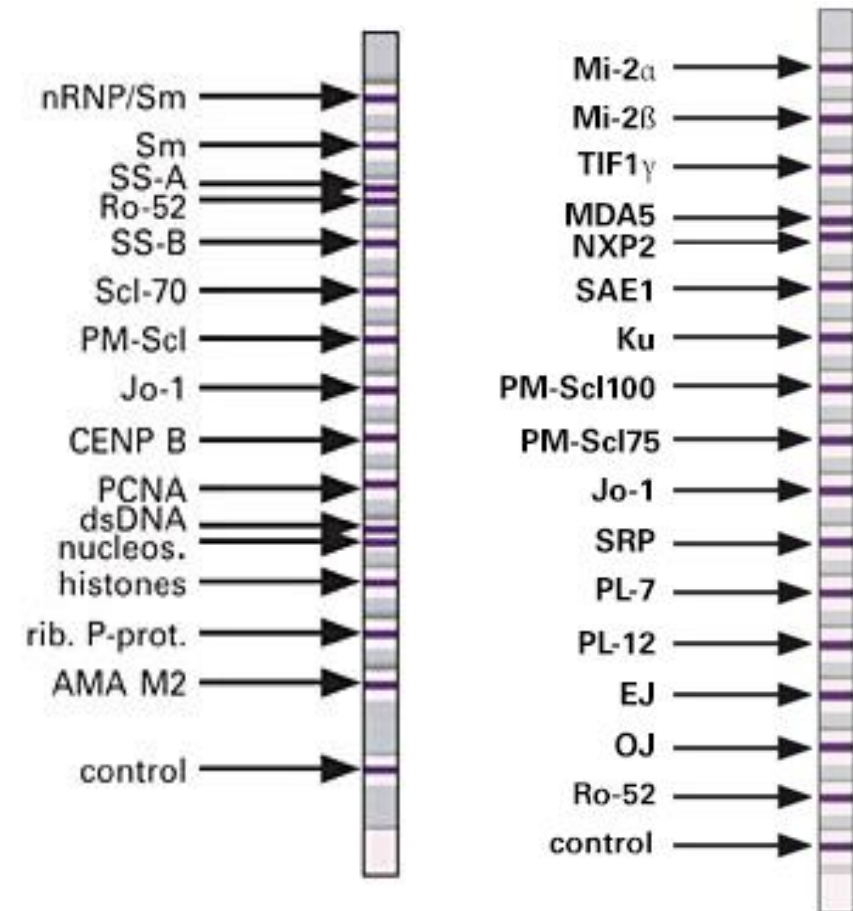
T-RNA sintetases

SRP

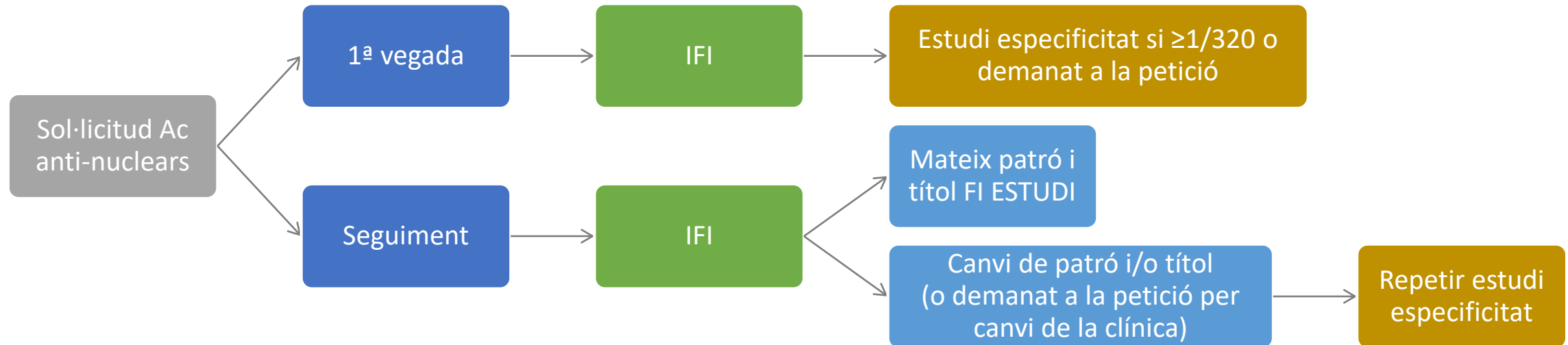
HMGCoAR

NXP

MDA5



Algoritme d'estudi dels ANA



- Els ANA no serveixen per al seguiment de les MAS
- No repetir abans de 3-6 mesos
- En cas d'elevada sospita clínica, sol·licitar l'estudi de l'antigen específic
- Incloure a les observacions la clínica del/la pacient



Proves complementàries en cas d'ANA positiu

Revisar els
resultats en
l'informe en PDF

PATRÓ/TÍTOL	PROVES COMPLEMENTÀRIES
Homogeni $\geq 1/320$ (AC-1)	Cribratge ENA (Ro, La, Sm, RNP, dsDNA) i/o histones, nucleosomes
Granular $\geq 1/320$ (AC-4,5)	Cribratge ENA (Ro, La, Sm, RNP, dsDNA) i/o Ac anti-RNA polimerasa, Mi2, Ku, ..
Topoisomerasa $\geq 1/320$ (AC-29)	Cribratge ENA (Ro, La, Sm, RNP, dsDNA), anti-Scl70
Nucleolar $\geq 1/320$ (AC-8,9,10)	Cribratge ENA (Ro, La, Sm, RNP, Scl70) i/o immunoblot especificitats relacionades amb l'esclerosi sistèmica
Citoplasma granular (AC-20)	Cribratge ENA (Ro, La, Sm, RNP, Scl70) i/o immunoblot especificitats relacionades amb les miositis autoimmunitàries
Citoplasma reticular (AC-21)	Anticossos anti-mitocondrials
Centromeric (AC-3)	Cribratge ENA (Ro, La, Sm, RNP, Scl70), Ac anti-centròmer B i/o immunoblot especificitats relacionades amb l'esclerosi sistèmica
Tipus PCNA (AC-13)	Cribratge ENA (Ro, La, Sm, RNP, Scl70) i immunoblot amb Ac anti-PCNA
Citoplasma granular fi dens (AC-19)	Cribratge ENA (Ro, La, Sm, RNP, Scl70) i/o immunoblot especificitats relacionades amb les miositis autoimmunitàries i/o Ac anti-rib P
Múltiples punts nuclears (AC-6)	Immunoblot hepatopaties autoimmunitàries (o miositis)
Membrana nuclear (AC-11,12)	Immunoblot hepatopaties autoimmunitàries
Citoplasma fibril·lar lineal (AC-15)	Ac anti-F actina, Ac anti-múscul llis i/o immunoblot hepatopaties autoimmunitàries



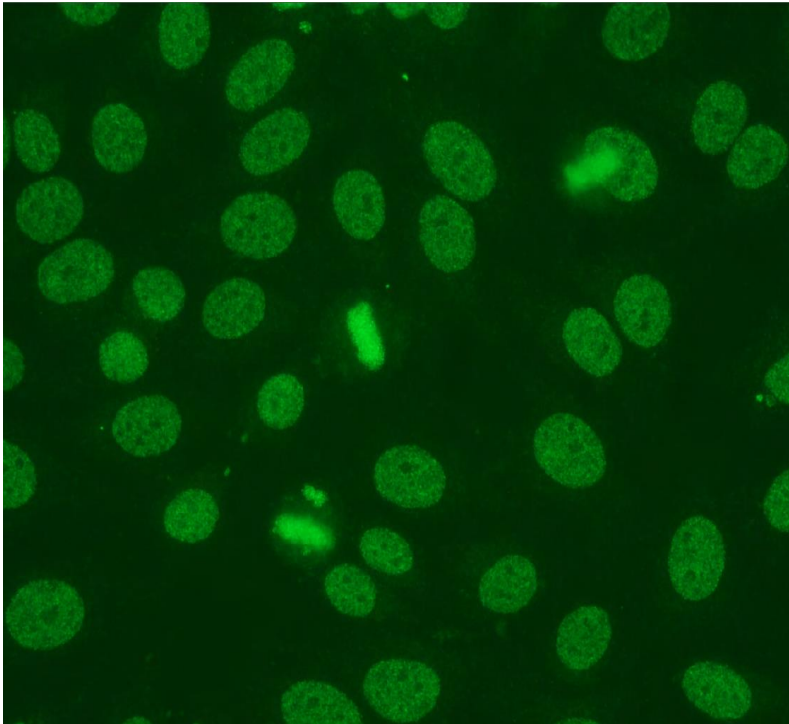
Proves complementàries segons la clínica

MANIFESTACIÓ	PROVES COMPLEMENTÀRIES
Sequedat oral o ocular persistent	Cribratge ENA (Ro, La, Sm, RNP)
Fenòmen de Raynaud i/o fotosensibilitat i/o leucopènia i/o artritis	Cribratge ENA (Ro, La, Sm, RNP) i Ac anti-dsDNA
Fenòmen de Raynaud i ANA patró nucleolar $\geq 1/320$	Ac anti-Scl70, Th/To, PM-Scl. Fibrilarina
Nucleolar $\geq 1/320$ (AC-8,9,10)	Cribratge ENA (Ro, La, Sm, RNP, Scl70) i/o immunoblot especificitats relacionades amb l'esclerosi sistèmica
Increment important de CPK i patró citoplasmàtic granular fi/dens	Ac anti-Jo1, PL7, PL12, EJ, OJ...
Clínica de trombosi i abortaments de repetició	Anticossos anti-fosfolipídics
Esteatosi hepàtica i ANA patró citoplasmàtic reticular	Anticossos anti-mitocondrials

Indicar la clínica a
les observacions
de la petició



ANA sense transcendència clínica



- Patró característic granular fi dens (AC-2)
- Especificitat detectada en pacients sans amb ANA positius
- En cas d'ENA negatiu, MAS poc probable
- En cas d'ENA positiu, millor pronòstic
- Evitar estudis successius

AC ANTI-DFS70



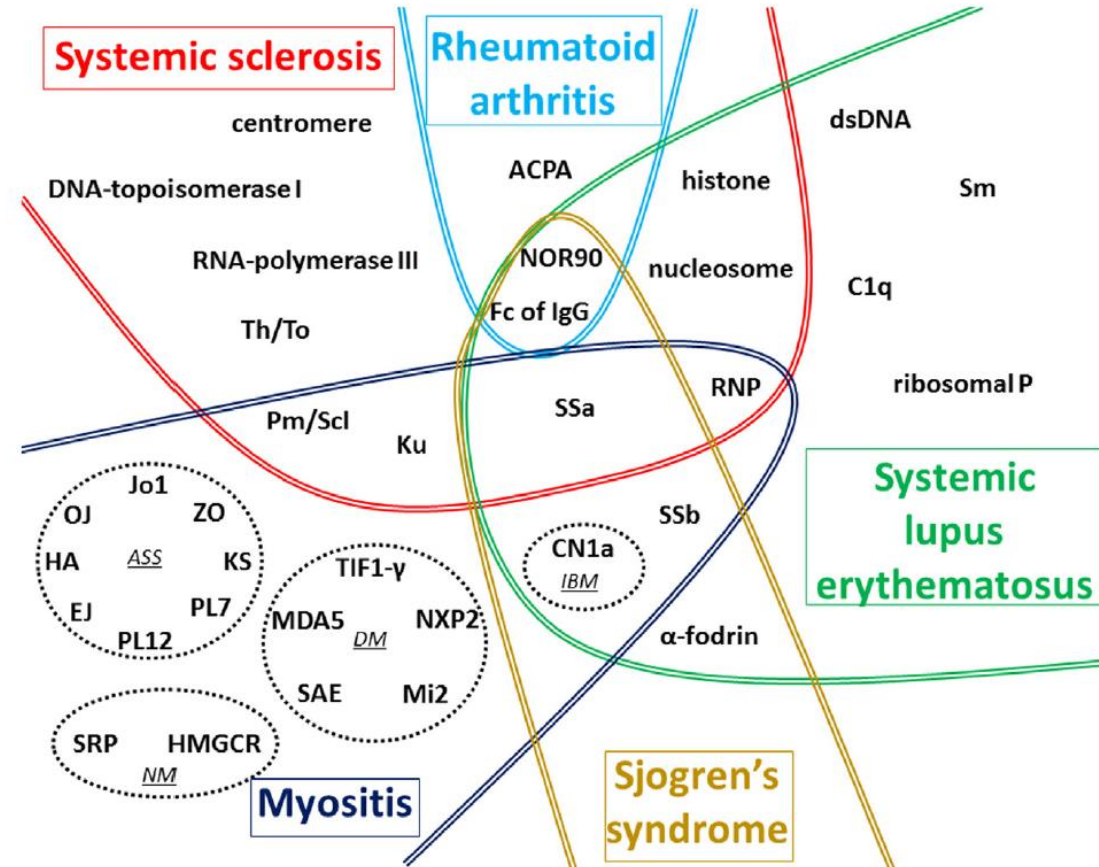
Quan demanar uns ANA?

- Sospita de MAS (artritis, aftes orals, Raynaud, alopecia, citopènies, fotosensibilitat, debilitat muscular, ...)
- Principalment en gent jove, excepte sospita d'ES
- Seguiment dels pacients amb ANA a títol alt sense especificitats
- Evitar sol·licitar durant processos inflamatoris

Els ANA són sensibles però poc específics. La detecció del l'antigen reconegut per l'anticòs és específica.

Cal tenir en compte les característiques dels mètodes de detecció per a la correcta interpretació dels resultats







Contacte

www.catlab.cat

Àrea d'IMMUNOLOGIA

Secció d'AUTOIMMUNITAT

Mireia FONOLLEDA

mfonolleda@catlab.cat – 68500

