



Original

Anticuerpos contra el citoplasma del neutrófilo: positividad y correlación clínica



Goitybell Martínez Téllez^{a,*}, Bárbara Torres Rives^a, Suchiquil Rangel Velázquez^a, Vicky Sánchez Rodríguez^a, María Antonia Ramos Ríos^a y Lisset Evelyn Fuentes Smith^b

^a Laboratorio de Inmunología, Centro Nacional de Genética Médica, La Habana, Cuba

^b Centro Nacional de Genética Médica, La Habana, Cuba

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 16 de abril de 2013

Aceptado el 28 de febrero de 2014

On-line el 7 de junio de 2014

Palabras clave:

Vasculitis

Anticuerpos contra el citoplasma del neutrófilo

Proteinasa 3

Mieloperoxidasa

Anticuerpos antinucleares

Valor diagnóstico

RESUMEN

Objetivo: Determinar la positividad y la correlación clínica de los anticuerpos contra el citoplasma del neutrófilo (ANCA), teniendo en cuenta la interferencia de los anticuerpos antinucleares (ANA).

Material y método: Se realizó un estudio prospectivo en el Laboratorio de Inmunología del Centro Nacional de Genética Médica de Cuba durante un año. Se incluyó a 267 pacientes con indicación de ANCA. Las determinaciones de ANCA a diferentes puntos de corte y de ANA se realizaron mediante inmunofluorescencia indirecta. Los anticuerpos antiproteinasa 3 y antimieloperoxidasa fueron determinados mediante ELISA.

Resultados: Nuestro estudio mostró que la mayor positividad de ANCA fue vista en pacientes con vasculitis asociadas a ANCA, artritis reumatoidea y lupus eritematoso sistémico. Fue superior la presencia de ANCA sin especificidad por la proteinasa 3 o la mieloperoxidasa en pacientes con ANA y se observó poca relación entre el patrón perinuclear confirmado en formalina y la presencia de anticuerpos frente a la mieloperoxidasa. Los mayores valores de sensibilidad y especificidad para el diagnóstico de las vasculitis se alcanzaron para la determinación de ANCA mediante inmunofluorescencia indirecta a un valor de corte de 1/80 y confirmando la especificidad antigénica mediante ELISA.

Conclusiones: Los ANCA pueden estar presentes en un amplio número de enfermedades asociadas a estados inflamatorios y autoinmunes en la población estudiada. Su determinación mediante inmunofluorescencia indirecta seguida de la determinación mediante ELISA tiene gran valor para el diagnóstico de las vasculitis. La determinación de anticuerpos antimieloperoxidasa tiene mayor utilidad que el ensayo en láminas de formalina cuando hay ANA.

© 2013 Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

Antineutrophil cytoplasm antibody: Positivity and clinical correlation

ABSTRACT

Keywords:

Vasculitis

Antineutrophil cytoplasmic antibodies

Proteinase 3

Myeloperoxidase

Antinuclear antibodies

Diagnostic value

Objective: To determine positivity and clinical correlation of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA), taking into account the interference of antinuclear antibodies (ANA).

Material and methods: A prospective study was conducted in the Laboratory of Immunology of the National Cuban Center of Medical Genetic during one year. Two hundred sixty-seven patients with indication for ANCA determination were included. ANCA and ANA determinations with different cut off points and assays were determined by indirect immunofluorescence. Anti proteinase 3 and antimyeloperoxidase antibodies were determined by ELISA.

Results: Most positivity for ANCA was seen in patients with ANCA associated, primary small-vessel vasculitides, rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. Presence of ANCA without positivity for proteinase 3 and myeloperoxidase was higher in patients with ANA and little relation was observed between the perinuclear pattern confirmed in formalin and specificity by myeloperoxidase. Highest sensibility and specificity values for vasculitides diagnostic were achieved by ANCA determination using indirect immunofluorescence with a cut off 1/80 and confirming antigenic specificities with ELISA.

Conclusion: ANCA can be present in a great number of chronic inflammatory or autoimmune disorders in the population studied. This determination using indirect immunofluorescence and following by ELISA

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: goity@infomed.sld.cu (G. Martínez Téllez).

had a great value for vasculitis diagnosis. Anti mieloperoxidasa assay has a higher utility than the formalin assay when ANA is present.

© 2013 Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

Los anticuerpos contra el citoplasma de los neutrófilos (ANCA) son un grupo de autoanticuerpos dirigidos frente a constituyentes citoplasmáticos de neutrófilos y monocitos. Constituyen una prueba diagnóstica de las vasculitis de pequeños vasos asociadas a ANCA (VAA) que incluyen la granulomatosis con poliangeítis (GPA), la poliangeítis microscópica (PAM), la granulomatosis eosinofílica con poliangeítis (GPEA) y la vasculitis limitada al riñón¹.

La determinación de ANCA se realiza a través de la inmunofluorescencia indirecta (IFI) a partir de neutrófilos fijados en láminas portaobjetos y la positividad de la fluorescencia se debe confirmar por el ensayo de inmunoadsorción ligado a enzima (enzyme-linked immunosorbent assay [ELISA]) para determinar la especificidad antigénica, aunque algunos autores plantean que la utilización simultánea de ambos métodos ha demostrado mayor valor diagnóstico².

Existen 2 patrones principales de fluorescencia según el objetivo de los ANCA. El patrón citoplasmático (cANCA) se refiere al patrón con el que se tiñe el citoplasma bajo el microscopio inmunofluorescente cuando los neutrófilos son fijados con etanol o acetona. El antígeno principal de cANCA es la proteinasa 3 (PR3). El patrón perinuclear (pANCA) se refiere al patrón de tinción de los neutrófilos, que ocurre solamente cuando son fijados en etanol o acetona, que permeabilizan la membrana de los gránulos citoplasmáticos, y permite que las proteínas altamente catiónicas como la mieloperoxidasa (MPO) salgan y se unan a la membrana nuclear cargada negativamente. Cuando los neutrófilos son fijados en formalina, este patrón pANCA se observa como cANCA porque se reduce el efecto de atracción de las proteínas catiónicas hacia el núcleo¹⁻³.

Más del 90% de los pacientes con GPA típica activa poseen anticuerpos identificables contra la PR3, con una sensibilidad del 28 a 92%, dependiendo de la expresión de la enfermedad, y una especificidad del 80 al 100%; mientras que entre el 80 y el 70% de los pacientes con PAM y entre el 70 y el 85% de los pacientes con GPEA poseen anticuerpos identificables contra la MPO^{4,5}.

Se ha confirmado que el patrón pANCA puede observarse cuando los anticuerpos reaccionan con otros antígenos diferentes a la MPO, denominándose patrón pANCA atípico. El patrón con fluorescencia perinuclear sin extensión nuclear también es conocido como pANCA atípico^{6,7}.

Algunos autores han planteado además la existencia del patrón cANCA atípico que combina la fluorescencia perinuclear con extensión nuclear y la fluorescencia citoplasmática. Este patrón se puede producir por la interferencia de anticuerpos antinucleares (ANA)^{6,7}.

De ahí la importancia de la determinación de ANA simultánea a la determinación de ANCA, aunque existen pocos estudios de prevalencia de los patrones de ANCA por IFI en distintas enfermedades, diferenciando la presencia o no de ANA.

Los patrones atípicos pueden tener especificidades antigénicas contra componentes nucleares, citosólicos o granulares y entre ellos se encuentran la elastasa, catepsina G, incrementador de la permeabilidad bactericida (BPI), betaglucuronidasa, lisozima, lactoferrina, catalasa, alfa enolasa, actina, histonas, entre otros^{7,8}.

Algunos autores plantean la utilidad de los ANCA no solo para diagnosticar las VAA, sino también para diagnosticar y evaluar el pronóstico de otros desórdenes inflamatorios o autoinmunes, donde el patrón de IFI asociado se describe usualmente como pANCA, aunque se han presentado patrones cANCA o atípicos^{1,7,9,10}. También se ha descrito la positividad de los ANCA en enfermedades infecciosas y trastornos hematológicos malignos^{1,11,12}.

El objetivo de este trabajo fue determinar la positividad y la correlación clínica de los ANCA, teniendo en cuenta la interferencia de los ANA, en los pacientes atendidos en el Laboratorio de Inmunología del Centro Nacional de Genética Médica (CNGM) de Cuba en el año 2012.

Material y método

Se realizó un estudio prospectivo con los pacientes remitidos al Laboratorio de Inmunología del CNGM de Cuba en el año 2012.

Pacientes

La muestra estuvo constituida por 267 pacientes con indicación de ANCA: 35 con sospecha de lupus eritematoso sistémico (LES), 60 con LES confirmado, 17 con sospecha de VAA, 13 con VAA, 91 con artritis reumatoidea (AR), 10 con hepatitis virales, 14 con esclerodermia, 8 con enfermedad mixta del tejido conectivo, 4 con síndrome de Sjögren, 5 con hepatitis autoinmune (HAI) tipo I, 3 con colitis ulcerativa (CU), 3 con fenómeno de Raynaud, 2 con dermatomiositis, uno con cirrosis biliar primaria y uno con espondiloartropatía. El diagnóstico de las VAA se realizó según los criterios establecidos por la conferencia de Chapel Hill¹³⁻¹⁵. El diagnóstico del resto de los pacientes se realizó por los clínicos e inmunólogos según los criterios establecidos para cada enfermedad.

Método

La determinación de ANA se realizó mediante la técnica de IFI, considerando la positividad a partir de 1/80 y utilizando un ensayo comercial (ORGENTEC, Alemania). La determinación de los ANCA se realizó mediante IFI sobre neutrófilos humanos fijados en etanol y formalina, considerando la positividad a partir de 1/20¹⁶ y las determinaciones de anticuerpos anti-PR3 y anti-MPO se realizaron mediante ELISA (ORGENTEC, Alemania) a los pacientes que presentaron positividad de ANCA mediante IFI, tomando como valor de corte 5 UI/mL. Se distinguieron 2 patrones de IFI: cANCA (fluorescencia citoplasmática), pANCA (fluorescencia perinuclear con y sin extensión nuclear). Las muestras positivas para ANCA fueron tituladas mediante IFI. Se consideró como título la mayor dilución a la que se observó nítidamente el patrón de ANCA. Se determinó la sensibilidad y especificidad de la determinación de ANCA mediante IFI utilizando diferentes puntos de corte y confirmando las especificidades antigénicas mediante ELISA.

Para el análisis estadístico se utilizaron los programas Statistica 7.0 y EPIDAT 3.1. Para el análisis de la influencia de la positividad del ANA en la determinación de ANCA, se calculó el estadístico χ^2 y se estimó la odds ratio (OR) como magnitud de asociación con su respectivo intervalo de confianza al 95%. Los diferentes puntos de corte se compararon en términos de capacidad de discriminación, mediante el área bajo la curva (ABC) de las curvas de características operacionales del receptor (receiver operating characteristic curve [curvas ROC]).

Para el desarrollo de la investigación se cumplieron los principios enunciados en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, que establece los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos¹⁷. El trabajo fue aprobado por el Comité de Ética del CNGM.

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3382836>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3382836>

[Daneshyari.com](https://daneshyari.com)