



¿CUÁNDO SOLICITAR LOS ANTICUERPOS ANTICITOPLASMA DE NEUTRÓFILO?

MARTA GARCÍA-CASTRO, FRANCISCO JAVIER LÓPEZ-LONGO, MARÍA DOLORES CASAS, IRENE DÍEZ-MERCHÁN,

MARÍA CARPENA Y LUIS CARREÑO PÉREZ

Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid. España.

RESUMEN

Los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo (ANCA) son inmunoglobulinas (Ig), habitualmente IgG, dirigidos contra proteínas de los gránulos primarios de los leucocitos polimorfonucleares y de los lisosomas de los monocitos. Se detectan en pacientes con vasculitis de pequeño vaso, pero se desconoce su verdadero papel en la patogenia de estas enfermedades y no siempre se relacionan con la actividad clínica. Diversos estudios demuestran la existencia de ANCA en otras enfermedades, como infecciones o neoplasias, y hasta en un 2% de los individuos sanos. En estos casos podrían considerarse como epifenómenos de la inflamación.

Los ANCA se detectan habitualmente con técnicas de inmunofluorescencia indirecta (IFI) que definen patrones tales como el periférico (P-ANCA), el citoplasmático (C-ANCA) o el atípico (A-ANCA). El antígeno se identifica posteriormente mediante técnicas de enzimoimmunoanálisis (ELISA). La sensibilidad y la especificidad de ambas técnicas varían dependiendo de la extensión de la vasculitis, de la actividad clínica y de la metodología utilizada en la IFI o en el ELISA.

La utilidad de los ANCA en el seguimiento de la enfermedad es un tema controvertido. Se aconseja su determinación seriada ya que, en un 58% de los casos por IFI y un 75% por ELISA, su aumento anticipa la reactivación de la enfermedad.

Palabras clave: Vasculitis. Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos. Inmunofluorescencia indirecta. Enzimoimmunoanálisis.

ABSTRACT

Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) are autoantibodies, usually IgG, directed against azurophilic granules in neutrophils and lysosomes in monocyte components. ANCA are found in patients with small-vessel vasculitides but their true role in the pathogenic cascade remains unclear and these autoantibodies are not always related to disease activity. Several studies demonstrate the existence of ANCA in other diseases, such as infections or neoplasia, and in up to 2% of healthy individuals. In these situations, ANCA could be considered as an inflammation epiphenomenon.

ANCA are usually detected by indirect immunofluorescence (IIF) on smears of ethanol-fixed human neutrophils that define patterns such as peripheral (P-ANCA), cytoplasmic (C-ANCA) or atypical (A-ANCA). The antigen is subsequently identified by means of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The sensitivity and specificity of both techniques depend heavily on the extent of the vasculitides, clinical activity when the test is performed, and the methodology used in IFI or ELISA.

The utility of ANCA in the classification, diagnosis and monitoring of disease is controversial. ANCA determination is recommended at regular intervals during follow-up because an increase in these autoantibodies detected by IFI and ELISA anticipates disease reactivation in 58% and 75% of patients, respectively.

Key words: Vasculitides. Antineutrophil cytoplasmic antibodies. Indirect immunofluorescence. Enzyme-linked immunosorbent assay.

INTRODUCCIÓN

En la mayoría de enfermedades autoinmunes se han demostrado autoanticuerpos, aunque su relación con el desarrollo de la enfermedad es variable y su papel patogénico real resulta controvertido. Parece claro que la presencia de autoanticuerpos por sí misma no supone enfermedad. Y valores bajos de inmunoglobulinas especialmente de baja afinidad y de clase IgM son un hecho fisiológico en la respuesta inmune. Sólo cuando aumenta su con-

centración y afinidad, y cambia el subtipo, pueden considerarse directamente patológicos. En estos casos deben cumplirse los criterios básicos que asocian causalmente los anticuerpos con la patogenia de la enfermedad, esto es, que se correlacionen con la actividad y las manifestaciones clínicas, que se detecten en las lesiones y que su transferencia pasiva reproduzca la enfermedad¹.

Los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo (ANCA) son, generalmente, de clase IgG y reaccio-

nan con antígenos localizados en los gránulos primarios de los leucocitos polimorfonucleares neutrófilos y en los lisosomas de los monocitos humanos. En 1982 se detectaron en pacientes con glomerulonefritis paucimmune², asociados inicialmente con infecciones del virus Ross River. Se descubrieron de forma accidental en un estudio pormenorizado de anticuerpos antinucleares (AAN) con técnicas de inmunofluorescencia sobre leucocitos humanos. En 1984³ se identificaron anticuerpos similares en 4 pacientes diagnosticados de vasculitis sistémica y en 1985 se relacionaron con la granulomatosis de Wegener⁴. Posteriormente, otros estudios confirmaron esta asociación y la ampliaron a la poliangeítis microscópica y al síndrome de Churg-Strauss, sugiriéndose la existencia como entidad propia de la denominada vasculitis sistémica asociada a los ANCA⁵⁻⁷.

TÉCNICAS DE DETECCIÓN DE LOS ANCA

Para que la interpretación de los ANCA sea correcta en la práctica clínica es necesario conocer las diferentes técnicas de detección.

Inmunofluorescencia indirecta (IFI)

La detección inicial de ANCA se realiza habitualmente mediante IFI sobre neutrófilos fijados en etanol. Se utilizan neutrófilos de sangre periférica humana de individuos sanos, aislados en condiciones estériles por centrifugación, que se depositan sobre placas de vidrio y se fijan con etanol o formalina. Una vez incubados con el suero del paciente, se lavan para eliminar la unión inespecífica y se incuban con anticuerpos anti-Ig humanos marcados con un fluorocromo. Se vuelven a lavar y se analiza la muestra con un microscopio de fluorescencia. Se considera positivo si a una dilución 1:16-1:50 se detecta fluorescencia en el citoplasma de la mayoría de los neutrófilos.

Dependiendo de la conformación, la carga y la distribución citoplasmática de los diferentes antígenos reconocidos por los ANCA pueden detectarse: patrones citoplasmáticos (C-ANCA), perinucleares (P-ANCA) y atípicos o mixtos (A-ANCA). El patrón C-ANCA se debe a una fluorescencia difusa, fina y granulosa en el citoplasma, con un refuerzo en las zonas interlobulares del núcleo. El patrón perinuclear se caracteriza por una tinción alrededor del

perímetro nuclear difícil de diferenciar en ocasiones del patrón producido por los AAN específicos de granulocitos (GS-ANA). Este patrón es, en realidad, un artefacto provocado por la fijación de los neutrófilos en etanol, la cual permite la migración de la mieloperoxidasa y otras proteínas básicas de carga positiva desde los gránulos a la región perinuclear, donde se unen a la membrana nuclear cargada negativamente. Cuando las células se fijan con acetona-formalina se evita este artefacto, y los sueros P-ANCA producen un patrón citoplasmático difuso. Esta circunstancia permite diferenciar los P-ANCA de los GS-ANCA.

Existe otro patrón, llamado atípico (A-ANCA), que suele estar presente en otras enfermedades autoinmunes distintas a las vasculitis sistémicas, como la enfermedad inflamatoria intestinal o las hepatitis autoinmunes.

La IFI es una técnica sencilla, pero no es capaz de identificar los diferentes antígenos reconocidos por los ANCA y la interpretación de los resultados es subjetiva, por lo que la variabilidad interobservador es alta. Además, la metodología varía según los laboratorios y no hay una estandarización ni referencias con respecto a los rangos normales⁸. En la mayoría de los estudios publicados las determinaciones se han realizado en laboratorios especializados, y es difícil trasladar sus conclusiones a la práctica clínica habitual. Finalmente, pueden observarse patrones C-ANCA y P-ANCA en sueros de pacientes con enfermedades autoinmunes, así como en infecciones, neoplasias, reacciones farmacológicas y hasta en el 2% de individuos sanos, por lo que la especificidad para el diagnóstico de vasculitis puede ser baja.

Enzimoimmunoanálisis (ELISA)

La técnica de ELISA con antígenos purificados permite identificar los diferentes ANCA conocidos. Existen 2 variantes, según el antígeno se una directamente al pocillo de plástico (ELISA estándar) o se una a anticuerpos monoclonales de ratón o policlonales de conejo adheridos al pocillo de plástico (ELISA de captura o tipo sándwich). El más utilizado es el ELISA estándar, pero el tipo sándwich ofrece mayor sensibilidad.

El 80-90% de los sueros C-ANCA por IFI reconocen la enzima proteinasa 3 (PR3), una glucoproteí-

Download English Version:

<https://daneshyari.com/en/article/3391150>

Download Persian Version:

<https://daneshyari.com/article/3391150>

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