



Sociedad Española
de Reumatología -
Colegio Mexicano
de Reumatología

Reumatología Clínica

www.reumatologiaclinica.org



Editorial

Ni los anticuerpos antinucleares ni los anticuerpos dirigidos contra antígenos extraíbles del núcleo son lo que solían ser. Un futuro cambio de nomenclatura y recomendaciones para su determinación en práctica clínica habitual

Neither the anti-nuclear antibodies nor the anti-extractable nuclear antigens Are What They Used to Be. A Future Change of Nomenclature

Diana Hernández-Flórez^{a,b} y Lara Valor^{a,b,c,*}

^a Servicio de Reumatología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, España

^b Instituto de Investigación Biomédica del Hospital Gregorio Marañón, Madrid, España

^c Reumatología e Inmunología, Universidad Friedrich-Alexander, Erlangen-Nürnberg, Alemania

Anticuerpos antinucleares

Los anticuerpos antinucleares (ANA) fueron descritos por primera vez por Coons y Kaplan¹, y aunque su nombre no lo indique, incluyen autoanticuerpos (AAc) dirigidos contra estructuras citoplasmáticas y de la superficie celular, es decir, se trata de un término sostenido por razones históricas desde hace más de 60 años. En la clasificación de los patrones de tinción ANA positivo detectados por inmunofluorescencia (IF) se reportan tanto patrones nucleares como citoplasmáticos y mitóticos²⁻⁴.

Anticuerpos dirigidos contra antígenos extraíbles del núcleo

Los anticuerpos dirigidos contra antígenos extraíbles del núcleo (*extractable nuclear antigens* [ENA]) fueron descritos en 1959 por Holman y Robbins⁵, quienes mediante la utilización de soluciones salinas de baja fuerza iónica consiguieron extraer 4 antígenos proteicos del núcleo: SSA/Ro60, SSB/La, RNP-U1 y Sm.

Con el tiempo, este espectro se ha ido ampliando y es posible detectar AAc dirigidos contra otros antígenos citoplasmáticos, nucleares y de otros compartimentos celulares, como los receptores de la lámina B en la membrana nuclear, las histonas, otras ribonucleoproteínas y proteínas que se expresan únicamente cuando la célula está en mitosis (Sp100, Ku, Mi-2, ciclina, Scl-70, huso mitótico, centriolos y cinetocoros). Esto ha favorecido la introducción de pruebas de detección múltiple que varían dependiendo de la casa comercial, según sea la plataforma tecnológica y el perfil de AAc a evaluar^{2,3}. Actualmente, los paneles de detección de AAc

suelen incluir antígenos nucleares (ADN de doble cadena, ENA) y citoplasmáticos (antígenos ribosomales-P, Jo-1). En España existen al menos 5 casas comerciales que ofrecen plataformas de antígenos específicos (llamado perfil ENA) donde se utilizan diversas proteínas nativas, purificadas o recombinantes humanas, como Ro60 kDa, Ro52 kDa, La, U1-RNP, Sm, histonas, centrómero-B, Scl70 y Jo-1.

Metodología para la determinación de anticuerpos antinucleares y anticuerpos dirigidos contra antígenos extraíbles del núcleo

En la mayoría de laboratorios de autoinmunidad, tanto los ANA como los ENA se detectan por IF utilizando la línea celular de carcinoma laríngeo Hep-2 o alguna de sus variantes (por ejemplo, la línea celular Hep-2000), reportándose la dilución máxima en la cual la reacción antígeno-anticuerpo es observable y el patrón de tinción IF. Se considera que un ANA es positivo a partir de la dilución 1/80 en adultos (aunque algunas guías recomiendan considerar el límite inferior a partir de la dilución 1/160) y en pediatría a partir de las diluciones 1/10 o 1/20^{3,6-8}. Posteriormente se realiza una segunda determinación para evaluar la especificidad del AAc mediante técnicas como la inmunotransferencia (*immunoblotting*) o ensayos de absorción inmunoenzimática (*enzyme-linked immunosorbent assay* [ELISA]). Debido a la amplia variabilidad de las pruebas multiensayos comercializadas, se hace indispensable conocer los antígenos que han sido evaluados en cada determinación y deben informarse todos aquellos utilizados tanto si son negativos como si son positivos^{2,3,6}.

Estas determinaciones nos proporcionan una información extremadamente valiosa dado que los AAc pueden aparecer años antes de las manifestaciones clínicas de lupus eritematoso sistémico,

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: larissa.valormendez@uk-erlangen.de (L. Valor).

síndrome de Sjögren, esclerodermia, enfermedad mixta de tejido conectivo y miopatías idiopáticas inflamatorias (MII). Los hallazgos son potencialmente relevantes para realizar el diagnóstico y establecer el pronóstico, las diferentes formas de evolución clínica y las eventuales complicaciones de dichas enfermedades⁷⁻¹⁰.

¿Nuevos autoanticuerpos y nueva nomenclatura?

El uso de la nomenclatura de ANA y ENA se considera actualmente impreciso; algunos autores los definen ya como AAC dirigidos contra antígenos celulares específicos⁶⁻⁸, y se recomienda el cambio de la nomenclatura⁶. El consenso de estandarización para la evaluación de AAC ha sido desarrollado por dos grupos: el *European Autoimmunity Standardization Initiative* (EASI) y el *International Union of Immunologic Societies/World Health Organization/Arthritis Foundation/Centers for Disease Control and Prevention* (IUIS/WHO/AF/CDC). El resultado es la propuesta de cambio en la nomenclatura y 25 recomendaciones para armonizar aspectos clínicos y técnicos de la determinación de AAC, solventar discrepancias entre los métodos de detección y resaltar la importancia de la comunicación entre especialistas clínicos y de laboratorio⁶.

Ahora bien, ¿qué sentido tiene adaptarnos a emplear una nueva nomenclatura cuando estamos cómodos con la que ya conocemos? En los últimos años hemos experimentado como el número de nuevos AAC asociados a entidades clínicas específicas ha ido *in crescendo*, lo que nos obliga a ser cada vez más precisos al referirnos a ellos. Es de destacar que algunos de estos nuevos AAC específicos de las MII, como los anticuerpos anti-MDA5 (*anti-melanoma differentiation-associated gene 5*) y anti-HMGCR (*anti-3-hydroxy-3-methylglutaryl-coenzyme A reductase*), no se asocian a ningún patrón de IF^{11,12}.

Otro ejemplo válido para ilustrar esto son los anticuerpos anti-Ro: la distinción de Ro52 y Ro60 no se definió hasta el año 1988, y difieren en su localización celular¹³. Los anticuerpos anti-Ro60 presentan un patrón nuclear moteado fino en la IF, mientras que el anti-Ro52 no muestra ninguna tinción nuclear definida¹⁴: ¿no sería en este caso más útil decir entonces que se trata de anticuerpos específicos?

Por otro lado, el patrón IF citoplasmático se define como cualquier tinción del citoplasma en células HEP-2, independientemente de la tinción positiva o negativa de los núcleos o células mitóticas, con 5 subgrupos principales de patrón: 1) fibrilar; 2) moteado; 3) reticular/ mitocondrial; 4) polar/aparato de Golgi, y 5) barras/anillos. Todos deben ser incluidos en los informes del laboratorio, incluyendo la reactividad observada en el citoplasma y la estructura citoplasmática que se reconoce²⁻⁴. Ante esta diversidad, tal vez merece la pena cambiar la forma en la que nos referimos a los AAC en lugar de seguir utilizando el término ANA.

El caso especial de las miopatías idiopáticas inflamatorias: autoanticuerpos cada vez más específicos

La formación de AAC tiene un papel cardinal en la patogénesis de las MII y son marcadores que contribuyen a su diagnóstico. Con la descripción relativamente reciente de nuevos AAC específicos en MII, se ha podido demostrar que alrededor de un 60% de estos pacientes tienen AAC específicos, como anti-Jo1, anti-MDA5, anti-HMGCR, anti-Mi-2, anti-TIF1 (*transcription intermediary factors-1*), anti-NXP2 (*nuclear matrix protein 2*), anti-SAE (*SUMO-activating enzyme*) y anti-SRP (*signal recognition particle*). Actualmente se considera que su detección en fases tempranas podría ser útil para predecir el curso clínico de la enfermedad^{11,12}. Es importante señalar que solo alguno de estos AAC se asocia con un patrón IF citoplasmático moteado o moteado fino, otros no se detectan mediante IF, esto es, son ANA negativos.

Debido a la notable asociación entre estos AAC y los distintos fenotipos clínicos, se postula que estos son importantes no solo para las clasificaciones de las MII, sino también como factores implicados en el mecanismo que subyace a su patogénesis, como la inducción, la perpetuación del daño muscular y la asociación entre autoinmunidad y oncogénesis¹¹. Entre estos, el anti-MDA5 se ha relacionado con ciertos fenotipos de dermatomiositis (DM), especialmente con la DM clínicamente amiopática y con un mayor riesgo de enfermedad pulmonar intersticial aguda rápidamente progresiva^{15,16}. El anti-MDA5 es mutuamente excluyente con otros AAC representativos detectados en DM, en la miopatía asociada al cáncer y en la polimiositis^{11,12,15,16}.

La perspectiva

Queda bastante claro que no dejaremos de utilizar la nomenclatura que conocemos en un futuro cercano, pero merece la pena conocer las nuevas propuestas y adaptarnos a ellas; los cambios vendrán posiblemente desde los informes de laboratorio en la medida en que avancemos en la descripción de nuevos AAC.

El cambio de nomenclatura no es una situación nueva en reumatología, de tal forma que hemos visto como la comprensión de las características clínicas y anatomopatológicas de las vasculitis sistémicas obligó a modificar en el año 2012 los conceptos existentes en la Conferencia de Consenso Internacional de Chapel Hill con el objetivo de proporcionar una nomenclatura más apropiada. A esta nueva nomenclatura hemos ido adaptándonos paulatinamente, y ya es la que utilizamos en práctica clínica habitual¹⁷.

Entonces, si la especificidad de un AAC nos puede ir señalando el camino hacia la definición de características clínicas más claras, hacia el pronóstico y el desenlace de ciertas entidades, deberíamos ser más específicos con la terminología. Esto, además, podría facilitar la comunicación entre los clínicos y los profesionales del laboratorio, así como el diseño de nuevos y más dinámicos algoritmos diagnósticos.

Agradecimientos

Las autoras agradecen a los Dres. Lina Martínez-Estupiñán (Servicio de Reumatología, Fundación Jiménez Díaz, Madrid) y Francisco Javier López-Longo (Servicio de Reumatología, Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid) por la lectura crítica y las correcciones realizadas a este manuscrito.

Bibliografía

- Coons AH, Kaplan MH. Localization of antigen in tissue cells; improvements in a method for the detection of antigen by means of fluorescent antibody. *J Exp Med.* 1950;91:1-13.
- Damoiseau J, von Mühlen CA, Garcia-de la Torre I, Carballo OG, de Melo Cruvinel W, Francescantonio PLC, et al. International consensus on ANA patterns (ICAP): the bumpy road towards a consensus on reporting ANA results. *Auto Immun Highlights.* 2016;7:1-8.
- Tozzoli R, Villalta D, Bizzaro N. Challenges in the standardization of autoantibody testing: a comprehensive review. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2017;53:68-77.
- Chan EK, Damoiseaux J, Carballo OG, Conrad K, de Melo Cruvinel W, Francescantonio PL, et al. Report of the First International Consensus on Standardized Nomenclature of Antinuclear Antibody HEP-2 Cell Patterns 2014-2015. *Front Immunol.* 2015;6:412.
- Holman H, Robbins W. Antinuclear antibodies in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1959;2:468-71.
- Agmon-Levin N, Damoiseaux J, Kallenberg C, Sack U, Witte T, Herold M, et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis.* 2014;73:17-23.
- Wiik AS, Hoier-Madsen M, Forslid J, et al. Antinuclear antibodies: a contemporary nomenclature using HEP-2 cells. *J Autoimmun.* 2010;35:276-90.
- Meroni PL, Schur PH. ANA screening: an old test with new recommendations. *Ann Rheum Dis.* 2010;69:1420-2.
- Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV, Scofield RH, Dennis GJ, James JA, et al. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2003;349:1526-33.

10. Eriksson C, Kokkonen H, Johansson M, Hallmans G, Wadell G, Rantapää-Dahlqvist S. Autoantibodies predate the onset of systemic lupus erythematosus in northern Sweden. *Arthritis Res Ther.* 2011;13:R30.
11. McHugh N, Tansley SL. Autoantibodies in myositis. *Nat Rev Rheumatol.* 2018;14:290–302.
12. Palterer B, Vitiello G, Carraresi A, Giudizi MG, Cammelli D, Parronchi P. Bench to bedside review of myositis autoantibodies. *Clin Mol Allergy.* 2018;7:5.
13. Ben-Chetrit E, Chan EKL, Sullivan KF, Tan EM. A 52-kD protein is a novel component of the SS-A/Ro antigenic particle. *J Exp Med.* 1988;167:1560–71.
14. Dellavance A, Alvarenga RR, Rodrigues SH, Barbosa SH, Camilo AC, Shigue-domi HS, et al. Autoantibodies to 60kDa SS-A/Ro yield a specific nuclear myriad discrete fine speckled immunofluorescence pattern. *J Immunol Methods.* 2013;390:35–40.
15. Ceribelli A, Fredi M, Taraborelli M, Cavazzana I, Tincani A, Selmi C, et al. Prevalence and clinical significance of anti-MDA5 antibodies in European patients with polymyositis/dermatomyositis. *Clin Exp Rheumatol.* 2014;32:891–7.
16. Labrador-Horrillo M, Martinez MA, Selva-O'Callaghan A, Trallero-Araguas E, Balada E, Vilardell-Tarres M, et al. Anti-MDA5 antibodies in a large Mediterranean population of adults with dermatomyositis. *J Immunol Res.* 2014;2014:290797.
17. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA, Basu N, Cid MC, Ferrario F, et al. 2012 revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of Vasculitides. *Arthritis Rheum.* 2013;65:1–11.