

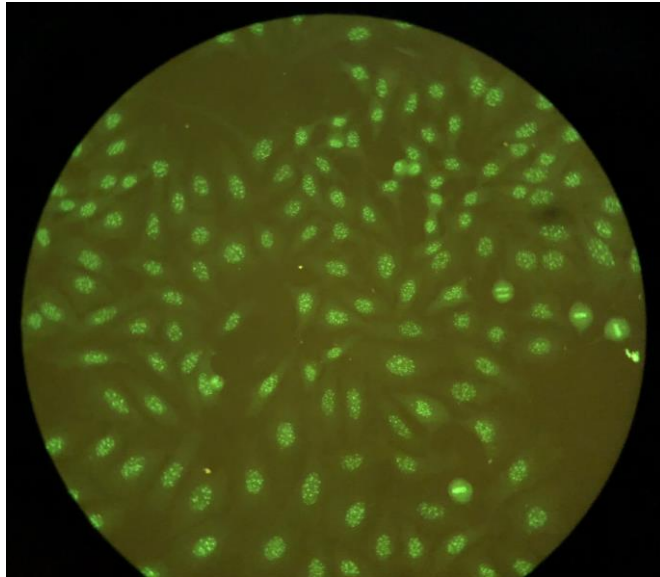


AEBM

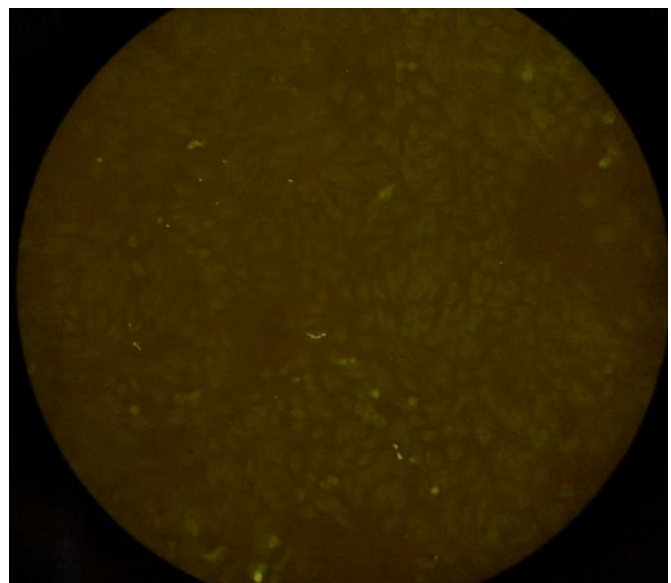
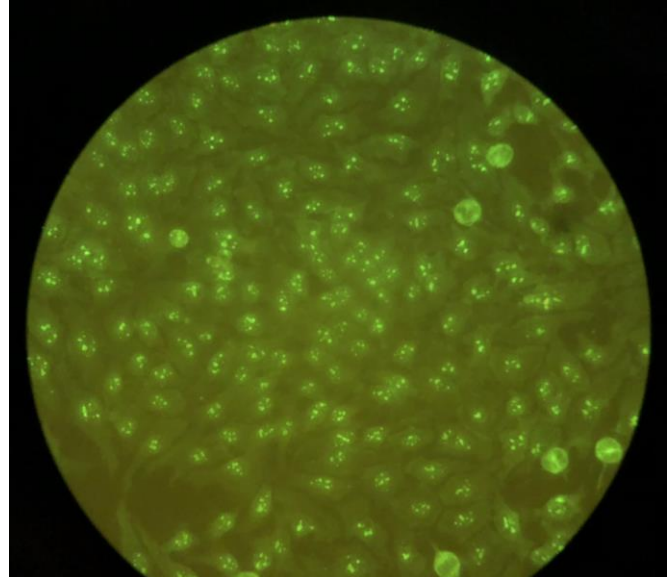
DIAGNÓSTICO DE ESCLERODERMIA MEDIANTE LA DETECCIÓN DE ANTICUERPOS ANTINUCLEARES POR INMUNOFLORESCENCIA

DIAGNOSIS OF SCLERODERMA THROUGH DETECTION OF ANTINUCLEAR ANTIBODIES BY IMMUNOFLORESCENCE

A



B



Autores

Pedro J. Espinosa Prados
Isabel Ródenas Garrido
José Miguel Urra Ardanaz

Filiación

Hospital General Universitario
de Ciudad Real..

Fecha de publicación

03 agosto 2018

Páginas

Páginas 11-14

Figura. A) Paciente 1. B) Paciente 2. C) Control negativo.

Figure. A) Patient 1. B) Patient 2. C) Negative control.

Se presentan dos imágenes, donde se muestran la detección de anticuerpos antinucleares (ANA) mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI), en suero de dos pacientes de 41 y 45 años, con sospecha clínica de esclerodermia.

La primera paciente se diagnosticó inicialmente como fenómeno de Raynaud y se inició tratamiento con antagonistas del calcio. Debido a la persistencia del cuadro clínico, se realizó un estudio de ANA, por *screening* mediante enzoinmunoensayo con un resultado positivo de 10.20 U/mL. En la imagen A se observa la detección, sobre células Hep-2, de ANA con un patrón anti-centrómero (ACA) con un título de 1/640, que es un criterio muy positivo para el diagnóstico de la Esclerodermia Sistémica Limitada (ESL). El paciente presenta únicamente afectación cutánea y se descartó la afectación en otros órganos tras los resultados de radiografía de tórax, TAC torácico y analítica completa con gasometría.

La segunda paciente acude al Servicio de Urgencias con un cuadro clínico que se relacionó con un brote de fenómeno de Raynaud. Se realizó el estudio de ANA, con un resultado positivo de 2.81 U/mL en el *screening*, y, con un patrón nucleolar moteado de título 1/640, compatible con anticuerpos anti-fibrillarina (Imagen B). En el estudio clínico se le observan nódulos pulmonares, y se le diagnostica de Esclerodermia Sistémica Difusa (ESD) con afectación pulmonar.

El estudio de ANA se realizó mediante microscopía de fluorescencia con un aumento de 40x, por IFI sobre la línea celular Hep-2 (Kallestad™Hep-2 Cell Line Slide, Bio-Rad; filtros Exc:330-380/EspDic:400/Bar:420; lámpara LED UV, pE300 Light Source). En ambos casos, la IFI fue suficiente

Two images are presented, where the detection of antinuclear antibodies (ANA) by indirect immunofluorescence (IFA), in the serum of two patients aged 41 and 45 years old, with suggestive clinical of Scleroderma.

The first patient was diagnosed as Raynaud's phenomenon and became a treatment with calcium channel blockers. Due to the persistence of the clinical, an ANA study was carried out, by screening with enzyme immunoassay with a positive result of 10.20 U/mL. In the image, we see the detection of Hep-2 cells of ANA with an anti-centromere pattern (ACA) with a title of 1/640, which is diagnostic of Limited Systemic Scleroderma (LSS). The patient presented cutaneous affectation, and the affectation in other organs was ruled out after the results of the chest x-ray, thoracic TC and complete analytical with arterial blood gases.

The second patient goes to the emergency with a clinical picture that was related to an outbreak of Raynaud's phenomenon. The ANA study was performed, with a positive result of 2.81 U/mL in the screening, and, with a clumpy nucleolar pattern of title of 1/640, compatible with antibodies anti-fibrillarin (Image B). In the clinical study, are observed pulmonary nodules, and he is diagnosed as Diffuse Systemic Scleroderma (DSS) with pulmonary involvement.

The ANA study was performed by fluorescence microscopy with the 40x objective, by IFI on the Hep-2 cell line (Kallestad™Hep-2 Cell Line Slide, Bio-Rad; filters Exc:330-380/MirDic:400/Bar:420; LED lamp of UV light, pE300). In both cases, the ANA pattern establishes the differentiated diagnoses of S.S.

Scleroderma is a rare and serious disease, inside the group of connective tissue diseases. It

para establecer los diagnósticos diferenciados de las dos modalidades de ES.

La esclerodermia es una enfermedad rara, del grupo de las enfermedades del tejido conectivo. Afecta preferentemente a mujeres entre la 3ª y 5ª década de vida¹. Es una enfermedad de etiología desconocida en la que intervienen tanto factores genéticos como ambientales². Se caracteriza por una afectación vascular precoz (el primer síntoma suele ser el fenómeno de Raynaud), seguida por una fibrosis tisular sistémica que puede afectar a muchos órganos. Cursa con cansancio, artralgias, mialgias, hinchazón de manos, afectación cutánea y de órganos internos (como son pulmón, tubo digestivo, corazón y riñón), siendo una enfermedad con alta morbimortalidad^{1,3}. Tanto las manifestaciones clínicas como el curso de la enfermedad son muy variadas.

Se clasifica en dos grandes grupos: ESL, con afectación cutánea y leve en órganos internos, y ESD, donde se pueden afectar un importante número de órganos con un curso clínico más grave. La presencia de patrones IFI característicos diferencia en los ANA las dos modalidades³.

La ESL se asocia a ACA (80-90% de los pacientes) que reconocen las proteínas del centrómero (CENP)-A, B y C⁴. Al microscopio se observa como los núcleos se tiñen con puntos finos distribuidos de manera homogénea en las células de interfase, en cambio, en las células en mitosis el punteado se localiza en la placa de la cromatina⁵. En nuestro caso se confirmó la presencia de anticuerpos frente a la proteína recombinante B del centrómero, mediante inmunoblot (nº Ref: DL 1590-161-3 G. Anticuerpos contra antígenos nucleares (IgG), Euroimmun).

Por su parte, la ESD se asocia a un patrón nucleolar con una tinción intensa de nucleolos. La

preferentially affects women between the 3rd and 5th decade of life¹. It is a disease of unknown etiology in which both genetic and environmental factors was present². It is characterized by early vascular involvement (the first frequent symptom of Raynaud's phenomenon), followed by a systemic tissue fibrosis that can affect many organs. Clinically presents fatigue, arthralgias, myalgia, swelling of the hands, cutaneous involvement and internal organs (such as lung, digestive tract, heart and kidney), being a disease with high morbidity and mortality^{1,3}. Both the clinical manifestations and the course of the disease are very varied.

It is classified into two large groups: LSS, with cutaneous involvement and slight in internal organs, and DSS, where a significant number of organs can be affected with a more serious clinical course. The presence of ANA differs by means of its characteristic IFA patterns the two forms³. The LSS is associated with ACA (80-90% of patients) that recognizes the centromere proteins (CENP)-A, B and C⁴. Under the microscope, the nuclei are stained with fine points distributed homogeneously in the interphase cells, whereas in the cells in mitosis the dotted location in the chromatin plate⁵. In our case, the presence of antibodies against recombinant protein B of the centromere was confirmed by immunoblot (Ref: DL 1590-161-3G. Antibodies against nuclear antigens (IgG), Euroimmun).

For its part, the DSS is associated with a nucleolar pattern with intense staining of nucleoli. Staining on cells in mitosis is variable depending on its specific antigen: fibrillar, NOR90, RNA polymerase or topoisomerase I (anti-ScI70), although all present nucleolar staining and are associated with DSS⁶. In our hospital, no protocol is followed where other techniques are used to confirm the presence of a specific type of anti-nucleolar antibodies. The

tinción sobre células en mitosis es variable dependiendo de su antígeno específico: fibrilarina, NOR90, RNA polimerasa o topoisomerasa I (anti-Sci70), aunque todas presentan tinción nucleolar y se asocian con ESD⁶. En nuestro hospital no se sigue ningún protocolo donde se empleen otras técnicas para confirmar la presencia de un tipo específico de anticuerpos anti-nucleolares. En este contexto, el patrón nucleolar en IFI tiene valor diagnóstico con independencia del antígeno específico.

nucleolar pattern in IFI has a diagnostic value independent of the specific antigen.

Bibliografía/References:

1. Elhai M, Avouac J, Kahan A, Allanore Y. Esclerodermia sistémica. EMC - Apar Locomot [Internet]. 2015;48(3):1–15. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S1286-935X\(15\)72882-0](http://dx.doi.org/10.1016/S1286-935X(15)72882-0)
2. Batista Remedios ES, Grass Velázquez A, Avilés del Campo E, Pérez Torres L. Mecanismos etiopatogénicos en la esclerosis sistémica. Rev Cuba Reumatol. 2014;16(3):304–8.
3. Carreira PE, Martín-López M, Pablos Álvarez JL. Esclerodermia. Med. 2017;12(25):1448–57.
4. Kuwana M. Circulating Anti-Nuclear Antibodies in Systemic Sclerosis: Utility in Diagnosis and Disease Subsetting. J Nippon Med Sch. 2017;84(2):56–63.
5. Cabiedes J, Núñez-Álvarez CA. Anticuerpos antinucleares. Reumatol Clin. 2010;6(4):224–30.
6. Ho KT, Reveille JD. The clinical relevance of autoantibodies in scleroderma. Arthritis Res Ther [Internet]. 2003;5(2):80–93. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12718748%5Chttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC165038>.