

Lupus Eritematoso Sistémico (LES)

Aporte del laboratorio

Bioq. Maria Antonella Kunzi

**Curso Diagnóstico de Laboratorio en la Clínica
Médica de hoy**

27 de septiembre de 2016

Definición



- Enfermedad **inflamatoria crónica** de naturaleza **autoinmune** caracterizada por la afectación de múltiples órganos y sistemas y por la presencia de **anticuerpos antinucleares (ANA)**.
- Etiología multifactorial, existen factores genéticos, hormonales y ambientales.
- Afecta principalmente a mujeres jóvenes (proporción mujeres/hombres 9:1).

Laboratorio general

- Hemograma
- Recuento de plaquetas
- Eritrosedimentación (VSG)
- PCR
- Evaluación renal
- Proteinograma por Electroforesis
- Anticuerpos antinucleares (ANA) o Factores Antinucleares (FAN).
- Anticuerpos Antifosfolípidicos
- Complemento



HEMOGRAMA

- **Anemia** normocítica normocrómica (80% de los casos) o hemolítica
- **Leucopenia** $< 4000/\text{mm}^3$
- **Linfopenia** absoluta $< 1500/\text{mm}^3$
- **Trombocitopenia** $< 100.000/\text{mm}^3$



ERITROSEDIMENTACIÓN y PCR

VSG: Notablemente elevada.

- Evalúa la actividad de la enfermedad.
- Inespecífica: aumenta en procesos inflamatorios, infecciosos y por causas fisiológicas.
- Útil como prueba de orientación en el examen general del paciente.

PCR: Normal o levemente aumentada.

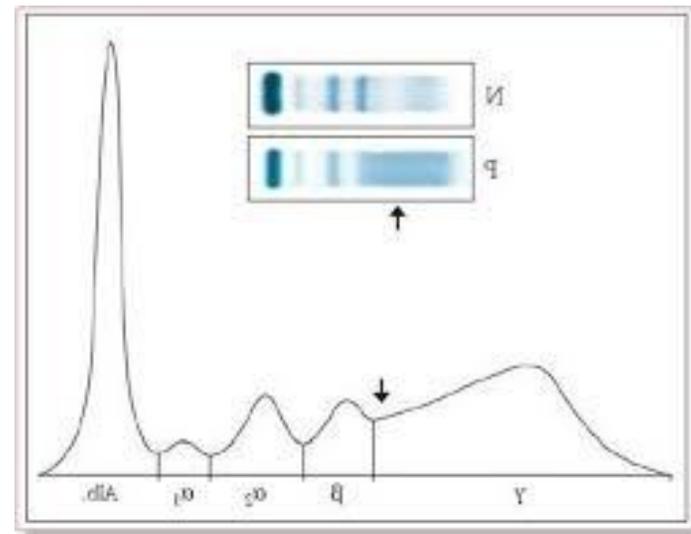
EVALUACIÓN RENAL

- **Proteinuria > 0,5 g/24hs** en el 50% de los casos. Generalmente es el primer signo de nefropatía.
- **Sedimento urinario patológico:** hematuria y cilindruria. Constituyen un reflejo de la actividad de la enfermedad.
- **Creatinemia elevada.**

PROTEINOGRAMA POR ELECTROFORESIS

En las agudizaciones generalmente:

- Hiperproteïnemia acompañada de hipoalbuminemia e hipergammaglobulinemia de carácter policlonal.



ANTICUERPOS ANTINUCLEARES (ANA)

- Anticuerpos dirigidos contra antígenos localizados en el núcleo y citoplasma celular.
- Los autoanticuerpos más característicos del LES son los que reaccionan con componentes del núcleo celular, por lo que las **pruebas de tamizaje más sensibles** para el LES, son los **ANAs** por **IFI**.

ANA positivos

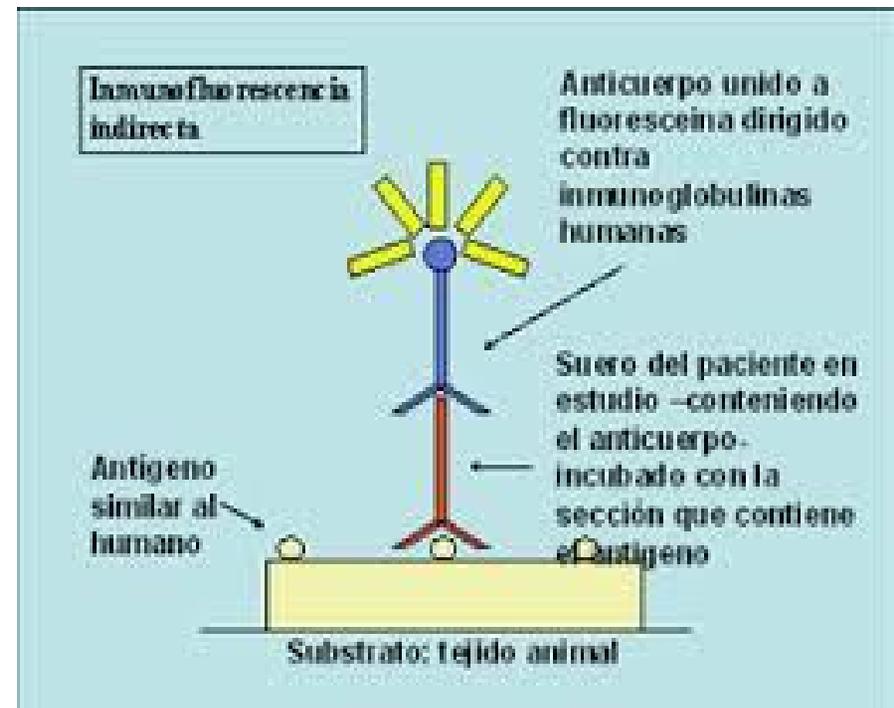
- Son positivos en la mayoría de los pacientes con LES.
- Son muy **sensibles**, aunque **poco específicos**. También pueden ser positivos en:
 - Enfermedades sistémicas del tejido conectivo
 - Enfermedades autoinmunes: Síndrome de Sjögren, espondilitis anquilosante, artritis reumatoidea, hepatitis autoinmune, esclerodermia, polimiositis y dermatomiositis.
 - Infecciones crónicas
 - Neoplasias
 - Ancianos
 - Embarazadas
 - Drogas

ANA negativos

- Pueden ser negativos en pacientes con LES.
- 2% de pacientes con actividad y sin tratamiento pueden ser ANA (-)
- 15% pueden volverse ANA (-) luego del tratamiento o cuando la enfermedad se vuelve inactiva.

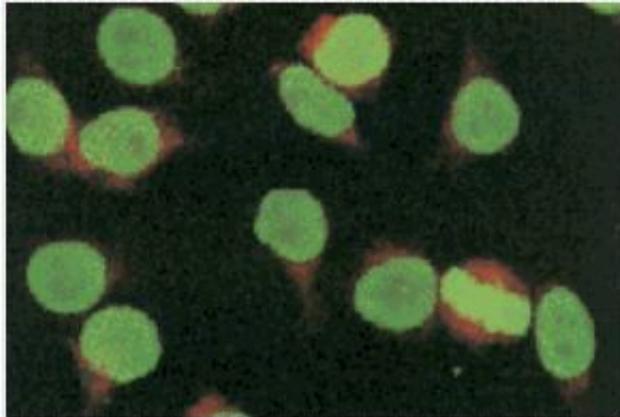
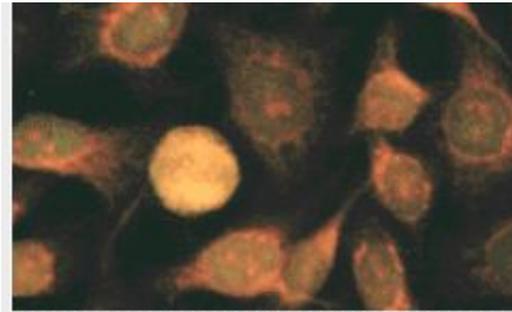
Detección de ANA

- Técnicas: IFI/ELISA.
- IFI → técnica Standard
- Fundamento: los ANA del suero se unen a sus correspondientes antígenos presentes en las células Hep-2. Se incuban con un anticuerpo contra las inmunoglobulinas humanas conjugado con fluoresceína y se visualizan por microscopía de fluorescencia.

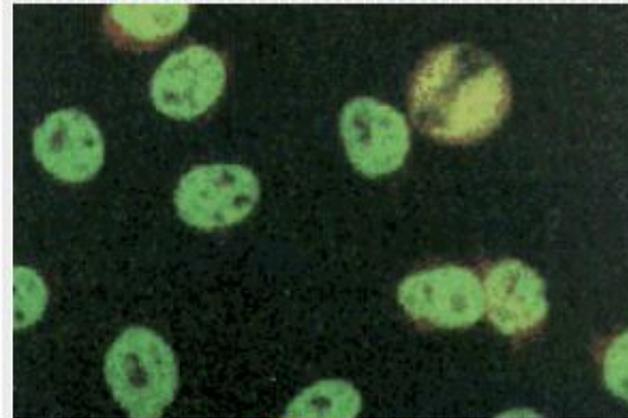


ANA

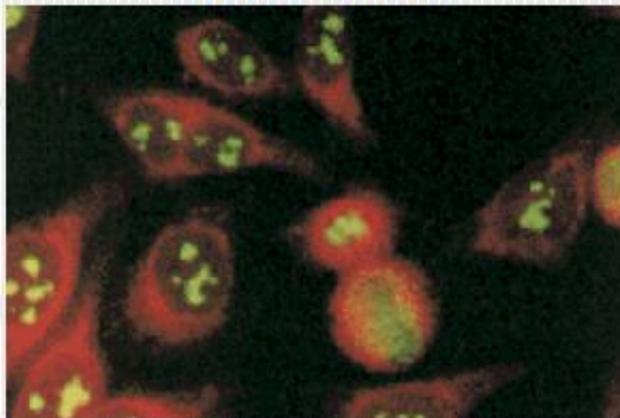
Negativo



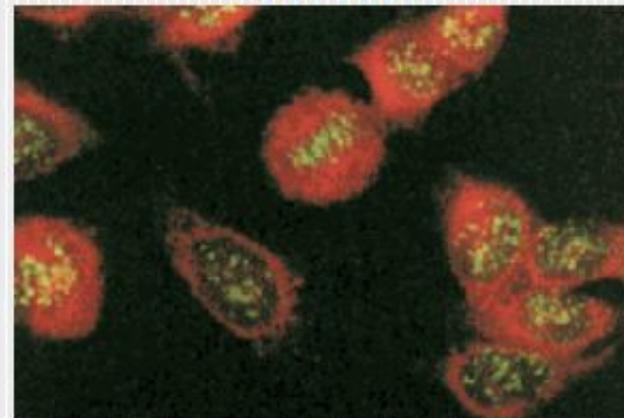
Homogéneo



Moteado



Nucleolar



Centromérico-ACA

Sustratos posibles

- Se pueden determinar en **improntas de hígado de roedor** o en **células de cultivo de carcinoma humano (Hep-2)**.
- *La mayor sensibilidad de la IFI es sobre líneas epiteliales (Hep-2), ya que en improntas de hígado de roedor no se pueden observar las imágenes que ocurren cuando las células están en división.*

Ventajas de utilizar Hep-2

- Patrón más sensible: permite la identificación de más patrones fluorescentes debido a la alta concentración de antígenos.
- Mayor especificidad (origen humano).
- Mayor tamaño nuclear y nucleolar: permite visualizar los detalles de los complejos.
- Permite detectar anticuerpos contra antígenos presentes sólo en células con rápido proceso de división.
- Distribución antigénica uniforme.

Criterios para la interpretación

- **TÍTULOS DE LOS ANTICUERPOS:**
representa la concentración o avidéz.
- **Títulos > de 1/160 son significativos.**
Ayudan a confirmar el diagnóstico clínico de una enfermedad del colágeno.
- Títulos de 1/80 ó menos no son de valor diagnóstico.

Criterios para la interpretación

- PATRÓN DE LOS ANTICUERPOS**

TIPO DE PATRÓN	DISTRIBUCIÓN DE LA FLOURESCENCIA	ANTÍGENO RESPONSABLE	FRECUENCIA DE PRESENTACIÓN EN LES
CONTINUO	HOMOGENEO	DNP	70% en LES
		HISTONAS	50-70% en LES/LES inducido por fármacos
		ADN nativo	40-70% en LES
	PERIFÉRICO	ADN nativo	40-70% en LES

Criterios para la interpretación

- PATRÓN DE LOS ANTICUERPOS**

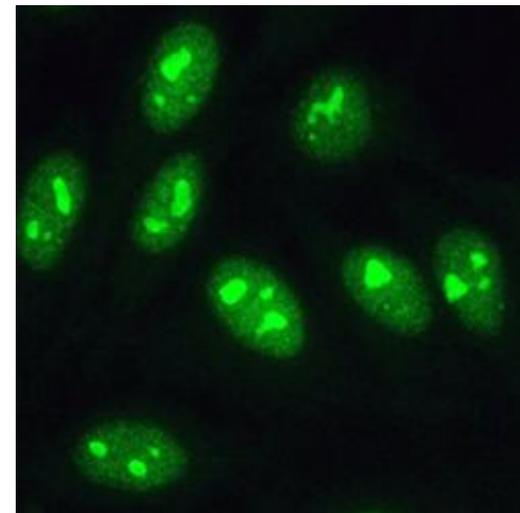
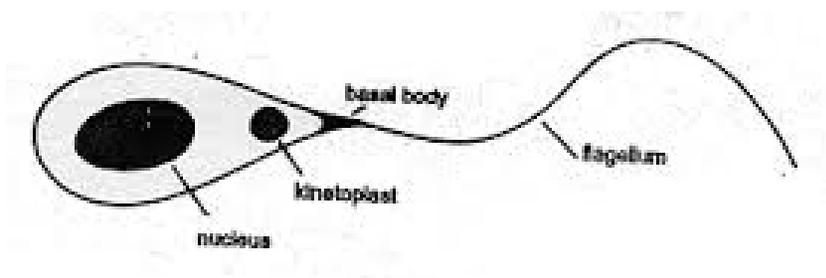
TIPO DE PATRÓN	DISTRIBUCIÓN DE LA FLUORESCENCIA	ANTÍGENO RESPONSABLE	FRECUENCIA DE PRESENTACIÓN EN LES	
DISCONTINUO	MOTEADO	ENA (antígenos nucleares extraíbles)	Sm	90% en LES
			U1RNP	25% en LES/90% EMTC
			SSA/Ro	30% en LES/70-95% SS
			SSB/La	20% en LES/60-90% SS
			Scl-70	70% en CREST
			Jo-1	30% en polimiositis
	NUCLEOLAR	U3-RNP	8% en esclerodermia	

Confirmación

Para **confirmar la especificidad** del autoanticuerpo que dio un patrón de inmunofluorescencia por IFI, se deberá realizar otras pruebas inmunológicas de mayor especificidad, como el **ELISA**, utilizando antígenos específicos (DNAn, Sm, Ro/SSA, LA/SSB y U1 RNP).

Anti-ADN de doble cadena o nativo (nDNA)

- Métodos: se pueden determinar por **IFI**, **RIA** o **ELISA**.
- Anticuerpos dirigidos contra epítopes ubicados en la estructura del ADN.
- La IFI utiliza como sustrato *Crithidia luciliae*, un protozoo hemoflagelado que presenta un cinetoplasto con alta concentración de ADN nativo.



Anti-ADN de doble cadena o nativo (DNAn)

- Son **específicos de LES** si están presentes a elevadas concentraciones; a bajas concentraciones se pueden encontrar en otras enfermedades del colágeno.
- Pueden desaparecer en la fase crónica, reapareciendo en los períodos de exacerbación.
- La caída del título en respuesta al tratamiento y su aumento en la fase aguda hacen que se pueda utilizar para **vigilar el curso clínico**.
- Una elevación de los títulos de anti-DNA junto a la caída del complemento, es un rasgo característico de implicación renal, dado que los complejos anti-DNA-ADN-complemento están involucrados en la glomerulonefritis de origen lúpico.

Ac. anti-Sm y anti-U1-nRNP

- Métodos: IDR, ELISA y DOTs/BLOTT
- **Anti-Sm (Smith)**
 - Especificidad > 90% para LES
 - Baja sensibilidad: se lo detecta en hasta 30% de los casos
 - Asociado a mayor prevalencia de enfermedad renal
- **Anti-U1-nRNP**
 - Presente en 30% de los pacientes con LES
 - Generalmente se acompaña con FAN en títulos altos

Ac. anti-Ro, anti-La y anti-Histonas

- **Anti-Ro**
 - Se detecta con una frecuencia elevada (30 a 60%) en LES
 - Marcador serológico de LES cutáneo subagudo (70% de los casos) y de lupus neonatal
 - Aparece también en SS, superposición SS/LES y SS/esclerodermia.
- **Anti-La**
 - Se detecta en 10% de los pacientes con LES
 - Rara vez presente en ausencia de anti-Ro
- **Anti-Histonas**
 - Son positivos en los casos de LES inducido por fármacos

Anticuerpos antifosfolipídicos

- En alrededor de 40% de los pacientes con LES se detecta positividad para **Anticuerpos anticardiolipinas IgG o IgM y/o anticoagulante (inhibidor) lúpico**.
- Pueden estar presentes en forma primaria, o asociarse a innumerables condiciones patológicas, por lo que **no son específicos del lupus**.
- Son capaces de producir trombosis arteriales y/o venosas, abortos a repetición y trombocitopenia.

Anticuerpos antifosfolipídicos

- **Anticuerpos anticardiolipinas (ACA)**
 - Método: ELISA
 - Altamente sensibles pero poco específicos para LES
- **Anticoagulante (inhibidor) lúpico**
 - Método: Coagulométrico

Anticuerpos antifosfolipídicos

La presencia de estos Acs puede conducir a:

- **Falso positivo en pruebas serológicas de sífilis (VDRL).** Estas pruebas detectan anticuerpos inespecíficos que reaccionan con antígenos “no treponémicos” compuestos por cardiolipina (fosfolípido extraído de corazón de buey), lecitina y colesterol.
- Confirmación: pruebas de detección de *Treponema pallidum* o prueba de absorción de anticuerpo treponémico fluorescente (FTA-Abs).

Complemento

- En pacientes con LES se detectan **niveles bajos** de los factores C3, C4 y actividad total CH50.
- La disminución se debe al aumento de complejos inmunes circulantes que activa la vía clásica de la cascada del complemento.
- La hipocomplementemia es un valor sensible para medir actividad clínica de la enfermedad.



Gracias!!!

Mail: akunzi@cibic.com.ar