ANA anti DFS70

VALOR EN EXCLUSIÓN DE ENTERMEDAD AUTOINMUNE SISTÉMICA

Martín Aparicio

Ateneo de Actualización – Cátedra de Reumatología

Montevideo Uruguay

28/05/2020

ANA: Anticuerpos antinucleares

Introducción:

- Grupo amplio de autoanticuerpos
- Reconocen macromoléculas que se encuentran en la estructura del núcleo y de algunos componentes del citoplasma celular.
- Célula LE (médula ósea) 1948
- Células HEp-2 (líneas epiteliales humanas derivadas de carcinoma laríngeo) 1970

ANA: introducción:

- Consideraciones generales a tener en cuenta:
- Deben solicitarse únicamente en casos de cuadro clínico sugestivo de enfermedad autoinmune sistémica (EAS) y luego de descartar otras entidades.
- Pacientes sin EAS presentan ANA positivos (a diferentes títulos); la mayoría no desarrollarán una EAS, se desconoce si se debe hacer un seguimiento de estos pacientes o solamente aconsejar que consulten ante síntomas (*Expert Rev. Clin. Immunol.* 3(5), (2007)).
- EAS relativamente poco frecuentes en la población general;
- La técnica patrón de oro para el estudio de ANA es la IFI sobre células HEp-2.

Tabla 4. Personas normales/Frecuencia de resultados	
positivos de ANA (adaptada de Kavanaugh A.)(28).	

1:40	20%-30%
1:80	10%-12%
1:160	5%
1:320	3%

Rev Méd Urug 2019; 35(4):302-315

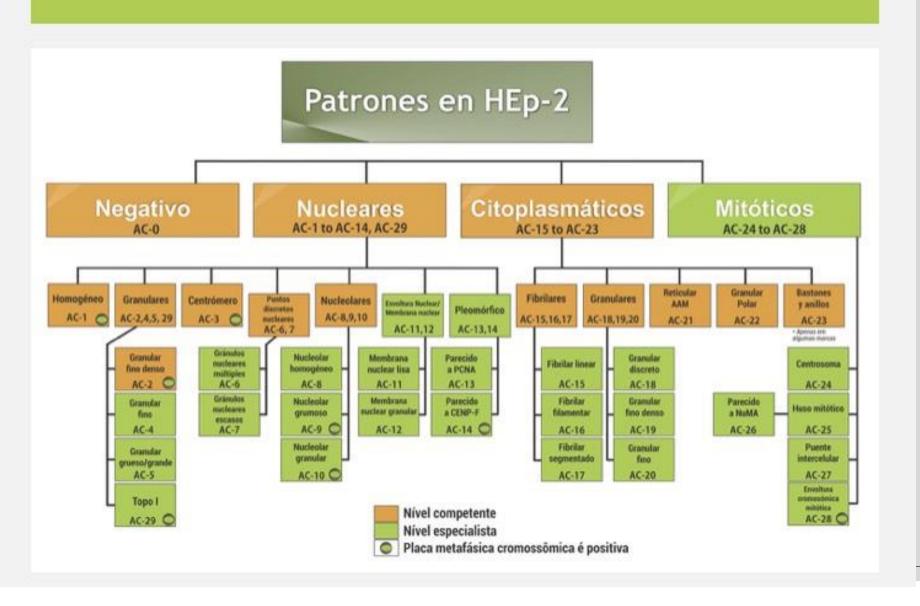
ANA: introducción:

- 3 subtipos presentes en circulación sistémica:
- *NATURALES*: Títulos bajos, sin estímulo antigénico conocido, baja avidez, polirreactividad, sin asociación con clínica de EAI.
- *RELACIONADOS CON PROCESOS INFECCIOSOS*: alta avidez, títulos bajan cuando desaparece el antígeno, sin relación con EAI.
- *PRESENTES EN PATOLOGÍA AUTOINMUNE*: origen multifactorial, ligados a pérdida de tolerancia inmune, predisposición genética cambios hormonales, medio ambiente y epigenética. Alta avidez, títulos fluctuantes, asociados a manifestaciones clínicas de Al.

INTERNATIONAL CONSENSUS on ANA patterns



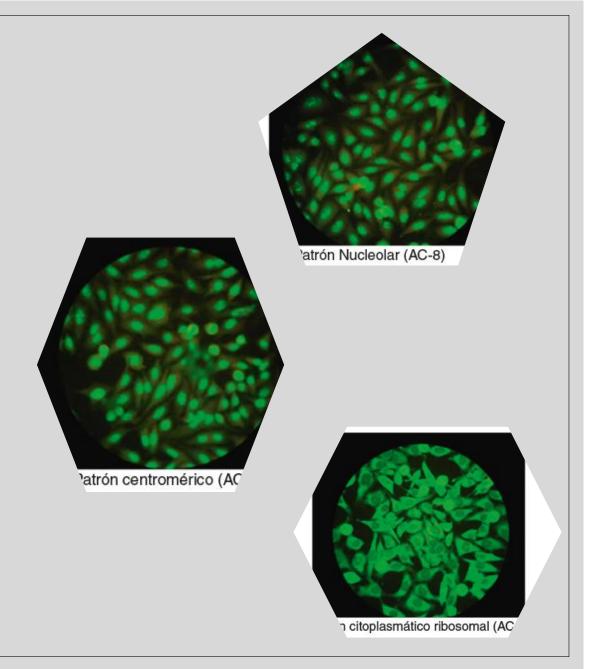
Nomenclatura y árbol clasificatorio



ANA: introducción:

Patrón de IFI:

- Homogéneo.
- Periférico.
- o Moteado (más frecuente, 2 tipos: Fino, Grueso).
- Nucleolar.
- Citoplasmático
- Centromérico.



rev colomb reumatol. 2018;**25(2)**:112–125

Patrón	Antígeno específico relacionado	Enfermedad o condición clínica relacionada
Nuclear		
Homogéneo (AC-1)	ADN de doble cadena, cromatina, histonas, nucleosomas	LES, lupus inducido por medicamentos, artritis idiopática juvenil
Moteado (AC-2, 4, 5)		
Moteado denso fino (AC-2)	DFS-70, LEDGF	Prevalente en individuos sanos
Moteado fino (AC-4)	SS-A/ <mark>Ro,</mark> SS-B/ <mark>La</mark> , ARN polimerasa 11 y 111, Ku, Ki, Mi-2, topo 1(Scl-70)	LES, SS, SSc, miopatías inflamatorias, EMTC
Moteado grueso (AC-5)	hnRNP, <mark>U1RNP, Sm</mark> , ARN polimerasa III	LES, EMTC, SSc
Puntos nucleares discretos		
Centromérico (AC-3)	Anticentrómero CENP-A y CENP-B	Esclerosis cutánea limitada, CBP
Múltiples puntos nucleares (AC-6)	Sp100, proteína de leucemia promielocítica	CBP, enfermedades autoinmunes sistémicas, polimiositis, dermatomiositis
Pocos puntos nucleares (AC-7)	p80 coilina, SMN	LES, SSc, polimiositis, SS, individuos asintomáticos
Nucleolar (AC-8, 9, 10)		
Homogéneo (AC-8)	PM/Scl-75, PM/Scl-100, Th, To, nucleolina, U3-snoRNP/fibrilarina	SSc, polimiositis con sobreposición de SSc
Grumoso (AC-9)	U3-snoRNP/fibrilarina	SSc
Punteado (AC-10)	ARN polimerasa I	SS, SSc
Membrana nuclear (AC-11, 12)		
Membrana lisa nuclear (AC-11)	Lámina A, B, C nuclear o proteínas asociadas a láminas	LES, SS, artritis seronegativa
Membrana punteada nuclear (AC-12)	Proteínas asociadas al poro nuclear	CBP
Pleomórficos (AC-13, 14)		
PCNA-like (AC-13)	PCNA	LES
CENP-F-like (AC-14)	CENP-F	Cáncer

rev colomb reumatol. 2018;25(2):112-125

Patrón	Antígeno específico relacionado	Enfermedad o condición clínica relacionada
Citoplasmáticos		
Fibrilar (AC-15, 16, 17)		
Actina/lineal (AC-15)	Actina, miosina no relacionada con el músculo	EMTC, hepatitis crónica activa, cirrosis hepática, miastenia gravis, enfermedad de Crohn, CBP, hemodiálisis
Filamentoso/microtúbulos (AC-16)	Vimentina, citoqueratina	Condiciones inflamatorias o infección, hemodiálisis, hepatopatía alcohólica, psoriasis, controles sanos
Segmentario (AC-17)	Alfa-actina, vinculina, tropomiosina	Miastenia gravis, enfermedad de Crohn, colitis ulcerativa
Moteado (AC-18, 19, 20)		
Puntos discretos (AC-18)	GW182, Su/Ago2, Ge-1	CBP, enfermedades autoinmunes del SNC
Moteado denso fino (AC-19)	PL-7, PL-12, proteína p ribosomal	Síndrome antisintetasa, polimiositis, dermatomiositis, LES, lupus neuropsiquiátrico
Moteado fino (AC-20)	Jo-1/histidil-ARNt sintetasa	Síndrome antisintetasa, polimiositis, dermatomiositis, esclerosis cutánea limitada
Reticular/AMA (AC-21)	PDC-E2/M2, BCOADC-E2, OGDC-E2, E3BP/proteína X	CBP, SSc
Polar/Golgi-like (AC-22)	Giantin/macrogolgin, golgin-95/GM130, golgin-160, golgin-97, golgin-245	SS, LES, AR, EMTC, ataxia cerebelar idiopática, infecciones virales
Barras y anillos (AC-23)	IMPDH2	Hepatitis C posterapia con IFN/rivabirina, LES, tiroiditis de Hashimoto

rev colomb reumatol. 2018;25(2):112-125

Patrón	Antígeno específico relacionado	Enfermedad o condición clínica relacionada
Mitóticos		
Centrosoma AC-24)	Pericentrina, nineina, Cep250,	SSc, fenómeno de Raynaud, infecciones (virales y
	Cep110, enolasa	micoplasma)
Fibras del huso (AC-25)	HsEg5	SS, LES
NuMA-like (AC-26)	Centrofilina	SS, LES, otros
Puente intracelular (AC-27)	Aurora cinasa B, CENP-E, MSA-2, KIF-14, MKLP-1	SSc, fenómeno de Raynaud, malignidad
Capa del cromosoma mitótico (AC-28)	Histona modificada H3, MCA-1	Lupus discoide, leucemia linfocítica crónica, SS, polimialgia

o Más del 90% de los ANA detectados en la IFI presentan al menos dos patrones diferentes: nucleares y citoplasmáticos.

rev colomb reumatol. 2018;25(2):112-125

ANTI ENAs Anticuerpos anti antígenos extraíbles del núcleo

Anticuerpo	Patología	Incidencia
Anti-Sm	LES	30%
Anti-Scl-70	Esclerodermia	20%
Anti-RNP	EMTC LES AR	95%
Anti SS-A(Ro)	Síndrome Sjögren LES (lupus cutáneo subagudo)	70% 25-60% (70%)
Anti SS-B(La)	Sindrome Sjögren LES	40% 10-35%
Anti Jo1	Polimiositis	20-30%
Anti PCNA	LES	3%

Table 6.3 A	Table 6.3 ANA Profile Antibodies					
	DSDNA	RNP	SM	SS-A	SS-B	CENTROMERE
Systemic lupus erythema- tosus	70%–80%	30%	30%	40%	15%	Rare
Rheumatoid arthritis	(-)	(-)	(-)	5%	Rare	(-)
Mixed con- nective tissue disease	(-)	100% (high titer)	(-)	Rare	Rare	Rare
Diffuse systemic sclerosis	(-)	20% (low titer)	(-)	10%–20%	Rare	5%-10%
Limited systemic sclerosis	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)	30%–40%
Primary Sjögren's syndrome	(-)	Rare	(-)	75%	40%–50%	(-)

Kathryn H. Laboratory evaluation, Sterling G.W., Rheumatology Secrets, Third edition, Elsevier, 2015; p. 48-57.

Table 6.1 Medical Conditions Associated with a Positive ANA					
CONDITION	% ANA-POSITIVE				
Systemic lupus erythematosus	99–100				
Drug-induced lupus	100				
Mixed connective tissue disease	100				
Autoimmune liver disease (hepatitis, cholangitis)	100				
Systemic sclerosis (limited and diffuse subsets)	95				
Oligoarticular juvenile idiopathic arthritis (uveitis)	70–80				
Polymyositis/dermatomyositis	40-80				
Primary Sjögren's syndrome	40-80				
Antiphospholipid antibody syndrome	40–50				
Rheumatoid arthritis	30-50				
Autoimmune thyroid disease (Hashimoto's, Graves')	30–50				
Primary pulmonary hypertension	40				
Multiple sclerosis	25				
Neoplasia (especially lymphoma)	15–25				
Chronic infections (subacute bacterial endocarditis, tuberculosis, mononucleosis)	Varies				

Kathryn H. Laboratory evaluation, Sterling G.W., Rheumatology Secrets, Third edition, Elsevier, 2015; p. 48-57.

ANA anti DFS70/LEDGFp75

- Subgrupo de anticuerpos antinucleares (ANA) de tipo natural los cuales se manifiestan por un patrón moteado denso fino (DFS) en inmunofluorescencia indirecta.
- DFS es uno de los más frecuentemente detectados en ANA de rutina.
- Antígeno reconocido: LEDGFp75 (factor de crecimiento derivado del cristalino). (Clin Exp Med (2016).

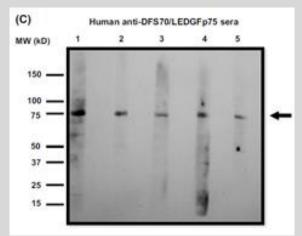
Imagen: Clin Exp Med (2016) 16:273-293

ANA anti DFS70/LEDGFp75

 Se detectó por primera vez en 1994 en pacientes con cistitis intersticial y síndrome de fatiga crónica. (Clin Exp Med (2016) 16:273–293).

Denominados DFS 70 luego de detectarse mediante inmunoblot una proteína de 70-75 Kda.

• Predominantemente IgG.



(DSF70/ LEDGFp75 tiene una función protectora contra factores ambientales que producen estrés celular como la radiación ultravioleta, peróxido de hidrógeno, alcohol, hipertermia, medicamentos quimioterápicos)

282 Clin Exp Mde (2016) 16:273-293

Tabla 2 – Prevalencia de anticuerpos anti-DFS70 en sueros de pacientes con diferentes patologías autoinmunes y en controles sanos

Condición	Prevalencia	Literatura
Vogt-Koyanagi-Harada	66,7%	Yamada K, et al. Humoral immune response directed against LEDGF in patients with VKH. Immunol Lett. 2001;78:161-8 ⁵⁵
Dermatitis atópica	30%	Ochs RL, et al. Autoantibodies to DFS 70 kd/transcription coactivator p75 in atopic dermatitis and other conditions. J Allergy Clin Immunol. 2000;105:1211-20 ²¹
Síndrome de Sjögren	11%	Muro Y, et al. High concomitance of disease marker autoantibodies in anti-DFS70/LEDGF autoantibody-positive patients with autoimmune rheumatic disease. Lupus. 2008;17:171-6 ⁵⁶
Sanos	11%	Watanabe Å, et al. Anti-DFS70 Antibodies in 597 Healthy Hospital Workers. Arthritis Rheum. 2004;50:892-900 ⁵⁷
Enfermedad indiferenciada del tejido conectivo	8%	Muro Y, et al. High concomitance of disease marker autoantibodies in anti-DFS70/LEDGF autoantibody-positive patients with autoimmune rheumatic disease. Lupus. 2008;17:171-6 ⁵⁶
Lupus eritematoso sistémico	2%	Watanabe Å, et al. Anti-DFS70 Antibodies in 597 Healthy Hospital Workers. Arthritis Rheum. 2004;50:892-900 ⁵⁷
Esclerosis sistémica	0,6%	Muro Y, et al. High concomitance of disease marker autoantibodies in anti-DFS70/LEDGF autoantibody-positive patients with autoimmune rheumatic disease. Lupus. 2008;17:171-6 ⁵⁶

Estos resultados muestran que la prevalencia de estos autoanticuerpos es mayor en población sana que en aquellos con enfermedades autoinmunes.

ANA anti DFS70/LEDGFp75

- Se detectan en pacientes aparentemente sanos o en condiciones clínicas diferentes a las EAI.
- Propuestos como herramienta cuando ANA + y sintomatología inespecífica.
- Paciente sano con ANA + y presencia de anticuerpos anti-DFS70 se relaciona con una menor progresión a EAI en 4 años.

Importancia radica en ayudar en la exclusión de LES y ES (sobre todo)
 cuando existe sintomatología inespecífica sin Acs específicos para dichas enfermedades.



BIOMARKERS



Clinical use of anti-DFS70 autoantibodies

So Young Kang¹ · Woo In Lee¹ · Myeong Hee Kim¹ · You La Jeon²

Received: 24 February 2019 / Accepted: 2 April 2019 © Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2019

- 541 pacientes con ANA + en muestras de rutina.
- Laboratorio clínico del hospital de Gangdong KyungHee, Seúl, Corea del Sur.
- Entre junio 2016 y septiembre 2017.
- 2 grupos: "grupo DFS" (n: 182) y "grupo no DFS" (n: 359).

o Objetivo: determinar la necesidad de pedir específicamente los anti DFS70 cuando en IFI se encuentra un patrón moteado denso fino.

• Western Blot (WB) confirmar DFS70.

Received: 24 February 2019 / Accepted: 2 April 2019

© Springer-Verlag GmbH Germany, part of Springer Nature 2019

• Inmunoensayo basado en fluorescencia (FEIA)



 Se vio que 28 pacientes con anticuerpos Anti DFS70 presentaron un patrón NO DFS y 21 pacientes con Acs para ERAS tuvieron un WB DSF70.

- Ensayo inmunolineal (LIA)
- Se realizó para identificar la causa de la mala interpretación.



ANALISIS "GRUPO No DFS" (otros patrones)

- Mediana de edad de 49.2 ± 19.1.
- 76% mujeres.
- Patrón más frecuente fue el Homogéneo (25.1%).
- 43% fueron positivos para Acs de ETC (157/359), prevalencia de Anti-DFS70 7.8% (28/359) y el patrón más frecuentemente asociado fue el FND (pocos puntos nucleares).

	No. (%)	SARDs (%)	Anti-DFS70 (%)	CTD Ab screen+ (%)
Distribution of departn	nent			
Rheumatology	95 (26.5%)	55 (57.9%)	7 (7.4%)	48 (50.5%)
Internal medicine ^a	58 (16.1%)	10 (17.2%)	3 (5.2%)	27 (46.6%)
Other	206 (57.4%)	2 (1.0%)	18 (8.7%)	82 (39.8%)
Total	359 (100%)	67 (18.7%)	28 (7.8%)	157 (43.7%)
IIF-ANA pattern				
Mixed pattern ^b	50 (13.9%)	15 (30.0%)	3 (6.0%)	29 (58.0%)
Н	90 (25.1%)	17 (18.9%)	7 (7.8%)	22 (24.4%)
FS	70 (19.5%)	14 (20.0%)	3 (4.3%)	36 (51.4%)
CS	47 (13.1%)	12 (25.5%)	3 (6.4%)	32 (68.1%)
Cytoplasmic ^c	32 (8.9%)	1 (3.1%)	3 (9.4%)	9 (28.1%)
Nucleolar	32 (8.9%)	4 (12.5%)	0	7 (21.9%)
Centromere	19 (5.3%)	2 (10.5%)	0	18 (94.7%)
FND	10 (2.8%)	0	8 (80.0%)	1 (10.0%)
MND	4(1.1%)	2 (50.0%)	0	2 (50.0%)
Others	5 (1.4%)	0	1 (20.0%)	1 (20.0%)
Anti-DFS70/CTD Ab	screen			
+/+	7 (1.9%)	3 (42.9%)		
+/-	21 (5.8%)	0		
-/+	150 (41.8%)	44 (29.3%)		
-/-	181 (50.4%)	20 (11.0%)		

ANA pattern	No.	Identified autoantibodies	Diagnosis
Anti-DFS70+/C	TD Ab sc	reen+ (n=7)	
CS	1	DFS70+SS-A+Ro52+Sm+RNP	SLE
CS+H	1	DFS70+SS-A+Ro52+Histone	Sjogren's syndrome
CS	1	DFS70+RNP+PCNA	Overlap syndrome
FS	1	DFS70+SS-A+Ro52	Raynaud syndrome
FS	1	DFS70+Ro52	Ankylosing spondylitis
AMA	1	DFS70+SS-A+Ro52+dsDNA+Histone	Autoimmune hepatitis
FND	1	DFS70+dsDNA	Fibromyalgia
Anti-DFS70+/C	TD Ab sc	reen- (n=21)	
H	7	4 DFS70	3 Alopecia, 1 Raynaud syndrome
		1 DFS70 -Histone	l Alopecia
		1 DFS7/+Ro52+SS-I	1 Alopecia
		1 DFS70+Sci70	1 Alopecia
FND	7	6 DFS 0	5 Alopecia, 1 Dermatitis
		1 DFS 0+Ro52	1 Toxic hepatitis
FND+AMA	1	1 DFS/0+M2	l Alopecia
FS	1	1 DFS 0+Scl70	l Ankylosing spondylitis
CS	1	1 DFS 0+PM-Scl	1 Alopecia
CENP-F	1	1 DFS70	1 Lung cancer
AMA	1	1 DFS7(+Histone	1 OA
AMA+MND	1	1 DFS70 -M2	1 Alopecia
CFF	1	1 DFS70	1 OA

ANALISIS "GRUPO DFS" (moteado denso fino)

- Mediana de edad de 31 años.
- 73,6% mujeres.
- Prevalencia de Anti DFS70 75.3% (137/182), de esos 137 pacientes 124 (68.1%) se presentaron sin autoanticuerpos para ERAS.
- Frecuencia de anticuerpos de ERAS positivos de 11.5% (21/182).

Distribution of department	No. (%)	SARDs (%)	Anti-DFS70 (%)	CTD Ab screen positivity (%)
Department				
Rheumatology	42 (23.1%)	7 (16.7%)	30 (71.4%)	7 (16.7%)
Internal medicine ^a	9 (4.9%)	2 (22.2%)	4 (44.4%)	1 (11.1%)
Other	131 (72.0%)	0	103 (78.6%)	13 (9.9%)
Total	182 (100%)	9 (4.9%)	137 (75.3%)	21 (11.5%)

^aDepartment of Internal Medicine other than Rheumatology

Anti-DFS70/ CTD Ab screen	No. (%)	SARDs (%)	Identified CTD-related autoantibodies (diagnosis)
+/+	13 (7.2%)	0	1 SS-A (Kikuchi disease)
			1 SS-A+Ro52 (AA)
			1 SS-A+Ro52+SS-B+M2+Jo1 (AS+TB)
			1 SS-A+SS-B+Scl (Moyamoya disease)
			1 Ro52+RNP+Histone (AT)
			4 Ro52 (AnA, Chronic cough, Low back pain, Wrist pain
			1 dsDNA (ICH)
			1 dsDNA+Histone (OA)
			1 M2 (Urticaria)
			1 Negative (AU)
+/-	124 (68.1%)	4 (3.2%)	Not done
-/+	8 (4.4%)	3 (37.5%)	2 dsDNA+Histone (SLE, Dermatitis)
			2 SS-A+Ro52 (AnA, Urticaria)
			1 Histone+SS-A+SS-B (SPRA)
			1 Histone+SS-A+Ro52 (SLE)
			1 Histone (AnA)
			1 dsDNA (GB stone)
-/-	37 (20.3%)	2 (5.4%)	Not done

DISCUSIÓN:

- Entre los pacientes con patrón moteado denso fino en la IFI el 68% tenía solo Anti DFS70 positivo sin Acs relacionados con ETC.
- 20% fueron falsos positivos para IFI.
- 11,5% tenía Acs relacionados con ETC independiente del estado del Anti DFS70.
- Realizar el test confirmatorio del Anti DSF70 en pacientes con ANA negativo o baja probabilidad clínica de ERAIS no tiene beneficio y no se debe utilizar en lugar de las pruebas específicas para detección de Acs de ETC.
- Pruebas especificas son necesarias cuando observamos un patrón moteado denso fino en la IFI ANA.

BAJA FRECUENCIA DE DSF70/LEDFGp75 EN EAI

- **Dellavance y col.** 30% de los sueros de pacientes de una cohorte de 13.000 presentaron DSF con títulos de IgG de 1:80 a más de 1:160. demostrando que los anticuerpos anti DSF70/LEDFGp75 son un *hallazgo relativamente común en personas con ANA positivo sin evidencia de enfermedades reumáticas autoinmunes sistémicas (ERAIS).* J Rheumatol 2005;32;2144-2149.
- Muro and colleagues, 500 pacientes con ERAIS, encontraron baja frecuencia de anti DSF70/LEDFGp75 y el 86% de los
 que presentaron anti DSF70/LEDFGp75 positivo tenían al menos 1 autoanticuerpo específico de ERAIS, por lo tanto es
 raro que exista solamente el anti DSF70/LEDFGp75 en pacientes con ERAIS por lo que podrían utilizarse como
 marcadores de exclusión en individuos con ANA positivos. (Concomitant disease—marker ANA with anti-DFS70,
 2008;17:171–6).
- Cohorte de 103 pacientes japoneses con dermatomiositis mostro una baja prevalencia de DSF70/LEDFGp75 6.4%, la mayoría de los pacientes que presentaron DSF70/LEDFGp75 también presentaron Acs específicos de DM (MDA-5) vinculados con enfermedad agresiva y compromiso pulmonar. *Dichos pacientes que presentaban ambos anticuerpos luego del tratamiento se descubrió que tuvieron una disminución de MDA5 y un aumento concomitante de DSF70/LEDFGp75*. (J Rheumatol 2013;40:1; doi:10.3899/jrheum.121168).

PARA QUEDARSE EN CASA:

- o ANA: muy importante los TITULOS y el PATRÓN, debe constar en el informe junto con la técnica que se utilizó.
- ANA son útiles para el DIAGNÓSTICO de enfermedad autoinmune, NO para el SEGUIMIENTO.
- Los Anti DSF70/LEDFGp75 ayudan a excluir ERAS, pero es de gran importancia el contexto clínico y cuando se encuentran aislados sin otros autoanticuerpos.
- Médico general solicita ANA, encuentra DSF70, informa al paciente que presenta una ERAS, se torna muy complicado explicarle al paciente que algo que es positivo resulta significando lo contrario a lo que le informaron.

MUCHAS GRACIAS