

Significado biológico de los autoanticuerpos y técnicas para su detección

Biologic meaning of autoantibodies. Diagnostic procedures

Isabel Bielsa

Servicio de Dermatología. Hospital Universitario Germans Trias i Pujol. Badalona. Universidad Autónoma de Barcelona.

Correspondencia:

Dra. Isabel Bielsa

Servicio de Dermatología.

Hospital Universitario Germans Trias i Pujol.

Badalona. Universidad Autónoma de Barcelona.

e-mail: ibielsa.germanstrias@gencat.cat

Resumen

La identificación de los autoanticuerpos en el suero de los pacientes con enfermedades autoinmunes del tejido conectivo puede tener un importante interés en el diagnóstico, el tratamiento y el pronóstico de estos procesos, muchos de ellos con gran expresión en la piel. Sin embargo, la interpretación de los resultados dependerá del tipo de anticuerpo y de la enfermedad que se trate. Algunos de estos autoanticuerpos resultan muy específicos para una enfermedad y, por tanto, tienen un gran valor diagnóstico (este es el caso de los anticuerpos anti-DNA de doble cadena y anti-Sm para el diagnóstico del lupus eritematoso sistémico), pero en la mayoría de las ocasiones los autoanticuerpos resultan poco específicos. Es por ello que comprender los conceptos como la validez y la seguridad de las distintas técnicas disponibles en los laboratorios para identificar estos autoanticuerpos (sensibilidad y especificidad, valores predictivos positivo y negativo) así como conocer las bases técnicas de estas pruebas, tienen un gran interés a la hora de interpretar el significado clínico de un determinado anticuerpo así como la relación coste-beneficio de las diferentes técnicas. Las técnicas de radioinmunoensayo o inmunoelectroforesis fueron muy utilizadas en el pasado. Las de inmunotransferencia (o "immunoblot") e inmunofluorescencia siguen teniendo un importante valor en nuestros días, si bien ambas están siendo lentamente sustituidas, en especial la primera, por técnicas más novedosas que se basan en métodos inmunoenzimáticos como la técnica de ELISA. Esta es una técnica rápida y de sencilla realización pero menos específica por lo que los resultados deben interpretarse con cautela. La determinación clásica de los ANAs continúa siendo clave en el ámbito de las enfermedades autoinmunes del tejido conectivo pero es preciso conocer sus limitaciones con el fin de tomar las decisiones clínicas y terapéuticas adecuadas.

(I. Bielsa. Significado biológico de los autoanticuerpos y técnicas para su detección. Med Cutan Iber Lat Am 2010;38(3):109-116)

Palabras clave: Enfermedades autoinmunes, inmunofluorescencia, ELISA, inmunotransferencia.

Summary

The identification of autoantibodies in the sera of patients with autoimmune connective tissue diseases can be of significant value in the diagnosis, management and prognosis of these conditions, most of them with important cutaneous expression. However, the interpretation of the results depends on the type of antibody and the specific autoimmune connective tissue disease. Some autoantibodies have considerable disease specificity and thus can be of great diagnostic value (for example, anti-double-stranded DNA and Sm for systemic lupus erythematosus), but most autoantibodies fall into the disease non-specific category. So, basic understanding of key technical issues and concepts such as sensitivity, specificity, positive predictive value and negative predictive value, are important when considering the clinical significance of an antibody and the cost-benefit ratio of the various types of laboratory testing currently available for autoimmune diseases. Radioimmunoassay and immunoelectrophoresis were commonly used in the past. Immunoblot and immunofluorescence remain of important value although both, especially the former, are being slowly replaced by newer techniques such as the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). ELISA is cheaper, less labor intensive, but is less specific and results need to be interpreted with caution. The classical ANA assay continues to be of great value into the world of autoimmune connective tissue diseases and understanding of its limitations is critically important to clinical and therapeutic decision-making.

Key words: Autoimmune diseases, immunofluorescence, immunoblot, ELISA.

Las enfermedades autoinmunes del tejido conectivo constituyen un grupo amplio de procesos cuyas manifestaciones clínicas, muy heterogéneas y variadas, solapan con gran frecuencia. Todas ellas tienen como común denominador el desarrollo de fenómenos de autoinmunidad, esto es, respuestas de tipo inmune frente a tejidos propios, que conducen, por un lado, al daño y alteración funcional de un órgano o tejido y, por otro, a la formación de autoanticuerpos circulantes que podremos identificar por diferentes técnicas de laboratorio.

Estos anticuerpos tienen en determinadas ocasiones un importante interés diagnóstico; en otras, un valor pronóstico; y a veces, una gran utilidad en el seguimiento de estas enfermedades. Con el fin de rentabilizar al máximo la utilidad clínica de estos anticuerpos, resulta imprescindible, por un lado, familiarizarse con las técnicas de laboratorio que en la práctica se llevan a cabo para la identificación de estos marcadores inmunológicos y, por otro, conocer la asociación de los diferentes anticuerpos con cada una de las enfermedades autoinmunes. Los principales objetivos de esta revisión serán, en primer lugar, conocer el significado biológico de algunos autoanticuerpos y, en segundo lugar, describir las técnicas de laboratorio más habituales para su detección.

Significado biológico de los anticuerpos

Los pacientes con una enfermedad autoinmune del tejido conectivo producen, como consecuencia de los fenómenos de autoinmunidad, unos anticuerpos que van dirigidos frente a antígenos propios que pueden formar parte de cualquiera de los componentes de la célula. Estos anticuerpos se designan, en su conjunto, antinucleares (ANAs), si bien el término resulta parcialmente inexacto ya que no siempre identifican estructuras presentes en el núcleo de las células. Este es el caso, por ejemplo, de los anticuerpos antisintetasa, los cuales identifican estructuras que se localizan exclusivamente en el citoplasma[1].

A la hora de interpretar los resultados de unos ANAs es imprescindible considerar varios puntos. Primero, algunos de estos anticuerpos pueden estar presentes en el suero de individuos normales o en pacientes con otras condiciones que no sea una enfermedad autoinmune. Por tanto, su presencia no siempre establece el diagnóstico y su negatividad tampoco lo descarta. En este sentido, la petición de ANAs tiene que estar dirigida según la sospecha diagnóstica y es imprescindible que los resultados se interpreten siempre de forma global con los datos clínicos del paciente. Por otro lado, hay que considerar que el significado clínico de un anticuerpo puede variar de acuerdo con la adquisición de

los nuevos conocimientos y la adaptación de las nuevas tecnologías. A modo de ejemplo, el anticuerpo anti-Ro se describió en su inicio como específico del síndrome de Sjögren, pero poco después se identificó en pacientes con lupus eritematoso (LE). Más tarde, gracias a la mayor sensibilidad en la técnica de detección, se evidenció en los pacientes con esclerosis sistémica, miositis e, inclusive, en los individuos sanos. En tercer lugar, debemos saber que la mayoría de especificidades de ANAs con significado clínico reconocido son únicamente marcadores, esto es, tienen un valor diagnóstico, y sólo a algunos de ellos, como los anticuerpos anti-DNA, se les reconoce un papel patogénico y un significado pronóstico, de forma que pueden ser útiles en el seguimiento. Ello implica que el perfil de anticuerpos indicados para un diagnóstico no tiene por qué coincidir con el de un seguimiento, ya sea con el fin de evaluar la eficacia de un tratamiento o predecir una posible exacerbación clínica[2]. Y finalmente, es importante a la hora de interpretar los resultados y considerar la relación coste/beneficio de las diferentes técnicas de laboratorio disponibles en el laboratorio, conocer las características de las mismas en cuanto a dos conceptos: su validez y seguridad[1, 2].

La “validez” es el indicador de hasta qué punto los resultados obtenidos con la prueba se relacionan o no con el diagnóstico buscado. Los parámetros que orientan sobre la validez son la “sensibilidad” y la “especificidad”. La “seguridad” nos indica cuál es la probabilidad de que un resultado positivo signifique la presencia de enfermedad y uno negativo su ausencia. Los parámetros asociados a este concepto son los “valores predictivos” positivo y negativo. El cálculo de estos parámetros se lleva a cabo mediante tablas de 2 x 2 (Figura 1).

La “sensibilidad” es la proporción de pacientes con la enfermedad que dan un resultado positivo en la prueba diagnóstica. Es un indicador de la capacidad de esa prueba para detectar enfermedad. Así, cuando un test tiene una sensibilidad del 100% significa que no existen falsos negativos; si la sensibilidad es del 80%, el porcentaje de falsos negativos es del 20%. La “especificidad” es la proporción de individuos sin la enfermedad que dan un resultado negativo en la prueba diagnóstica. Indica la capacidad de la prueba para identificar a los individuos sin esa enfermedad. Si la especificidad de una prueba es del 80%, el porcentaje de falsos positivos será del 20%. Las fórmulas para el cálculo de estos parámetros se recogen en la Figura 2.

Una buena sensibilidad es imprescindible para las pruebas que se usan para el cribaje, ya que así se reduce en gran medida las posibilidades de que un individuo con la enfermedad no sea detectado. Por otro lado, cuando las pruebas tienen como finalidad confirmar un diagnóstico es imprescindible

	Presencia de enfermedad	Ausencia de enfermedad	
Prueba positiva	Verdaderos Positivos (a)	Falsos Positivos (b)	Total de Positivos (a + b)
Prueba negativa	Falsos Negativos (c)	Verdaderos Negativos (d)	Total de Negativos (c + d)
	Total Enfermos (a + c)	Total Sanos (b + d)	Total (a + b + c + d)

	Presencia de enfermedad	Ausencia de enfermedad	
Prueba positiva	Verdaderos Positivos (a)	Falsos Positivos (b)	Total de Positivos (a + b)
Prueba negativa	Falsos Negativos (c)	Verdaderos Negativos (d)	Total de Negativos (c + d)
	Total Enfermos (a + c)	Total Sanos (b + d)	Total (a + b + c + d)

Figura 1. Tablas 2 x 2 para el cálculo de la validez y seguridad de una prueba

ble que sean de alta especificidad, ya que así se minimiza la posibilidad de dar un diagnóstico falso a un individuo sano.

Estos parámetros nos dan pues información sobre la probabilidad de obtener un resultado positivo o negativo según la situación del sujeto con respecto a la enfermedad que se trate (enfermo o sano). Sin embargo, generalmente,

la cuestión que el clínico se plantea es a la inversa: según el resultado (positivo o negativo) ¿cuál es la probabilidad de que el sujeto padezca la enfermedad o no, respectivamente? La respuesta viene dada por los “valores predictivos”

El “valor predictivo positivo” (VPP) es la proporción de individuos con resultado positivo que padece la enferme-

	Presencia de enfermedad	Ausencia de enfermedad	
Prueba positiva	Verdaderos Positivos (a)	Falsos Positivos (b)	Total de Positivos (a + b)
Prueba negativa	Falsos Negativos (c)	Verdaderos Negativos (d)	Total de Negativos (c + d)
	Total Enfermos (a + c)	Total Sanos (b + d)	Total (a + b + c + d)

Sensibilidad = $VP / (VP + FN)$
 VP = Verdaderos Positivos
 FN = Falsos Negativos

	Presencia de enfermedad	Ausencia de enfermedad	
Prueba positiva	Verdaderos Positivos (a)	Falsos Positivos (b)	Total de Positivos (a + b)
Prueba negativa	Falsos Negativos (c)	Verdaderos Negativos (d)	Total de Negativos (c + d)
	Total Enfermos (a + c)	Total Sanos (b + d)	Total (a + b + c + d)

Especificidad = $VN / (VN + FP)$
 VN = Verdaderos Negativos
 FP = Falsos Positivos

Figura 2. Cálculo de la validez.

	Presencia de enfermedad	Ausencia de enfermedad	
Prueba positiva	Verdaderos Positivos (a)	Falsos Positivos (b)	Total de Positivos (a + b)
Prueba negativa	Falsos Negativos (c)	Verdaderos Negativos (d)	Total de Negativos (c + d)
	Total Enfermos (a + c)	Total Sanos (b + d)	Total (a + b + c + d)

Valor Predictivo Positivo = VP / (VP + FP)
 VP = Verdaderos Positivos
 FP = Falsos Positivos

	Presencia de enfermedad	Ausencia de enfermedad	
Prueba positiva	Verdaderos Positivos (a)	Falsos Positivos (b)	Total de Positivos (a + b)
Prueba negativa	Falsos Negativos (c)	Verdaderos Negativos (d)	Total de Negativos (c + d)
	Total Enfermos (a + c)	Total Sanos (b + d)	Total (a + b + c + d)

Valor Predictivo Negativo = VN / (VN + FN)
 VN = Verdaderos Negativos
 FN = Falsos Negativos

Figura 3. Cálculo de la seguridad.

dad. Es una medida que orienta sobre la eficacia de la prueba para confirmar la enfermedad. El “valor predictivo negativo” (VPN) es la proporción de individuos con resultado negativo en la prueba y que no padecen la enfermedad. Es una medida que orienta sobre la eficacia del test para descartar la enfermedad. Las fórmulas para el cálculo de estos parámetros se recogen en la Figura 3.

La utilidad de estos valores predictivos se ve mermada por su dependencia, entre otros factores, de la prevalencia de la enfermedad en la población en estudio. Así, en el caso de una prueba con unos buenos valores de sensibilidad y especificidad, si la prevalencia es baja, se obtendrá un VPN bueno y un VPP bajo; ello significa que un resultado negativo descarta la enfermedad con seguridad pero un resultado positivo no confirma con una suficiente certeza. Por el contrario, una prueba de características similares aplicada a una población con alta prevalencia de la enfermedad se obtendrá un VPP alto, lo que significa que un resultado positivo con esa prueba nos permite confirmar el diagnóstico con bastante seguridad[2].

Técnicas de laboratorio

Los métodos o técnicas de laboratorio para la identificación de los diferentes anticuerpos han ido cambiando en las últimas décadas. Por ejemplo, las técnicas de radioinmunoen-

sayo o inmunoelectroforesis fueron muy utilizadas en el pasado. Las técnicas de inmunotransferencia (o inmunoblot) e inmunofluorescencia (IFI) siguen teniendo un importante valor en nuestros días, si bien ambas son lentamente sustituidas, en especial la primera, por técnicas más novedosas basadas en métodos inmunoenzimáticos como la técnica de ELISA[3].

Los fundamentos de las técnicas de IFI y ELISA son similares. En esencia, un antígeno (contenido en un determinado sustrato) se coloca sobre un porta de vidrio, en el caso de la IFI, o una placa de plástico con pocillos en el caso de ELISA. El sustrato se incuba con el suero del paciente. Si el suero contiene anticuerpos, éstos se unen al sustrato. La unión se detecta mediante una serie de pasos amplificadores que producirán una fluorescencia visible (en el caso de la inmunofluorescencia) o un producto coloreado que puede ser cuantificado mediante un espectrofotómetro (este es el caso de ELISA). Ambas pruebas pueden cuantificarse en títulos de dilución o unidades arbitrarias.

La técnica de ELISA tiene numerosas ventajas: es barata, rápida de realizar, se pueden analizar un gran número de sueros a la vez, su interpretación es menos subjetiva (no es necesaria la labor de un técnico más o menos entrenado como ocurre en la IFI) y es muy sensible. Sin embargo, ELISA es una técnica menos específica (falsos positivos) y los resultados deben interpretarse con cautela.

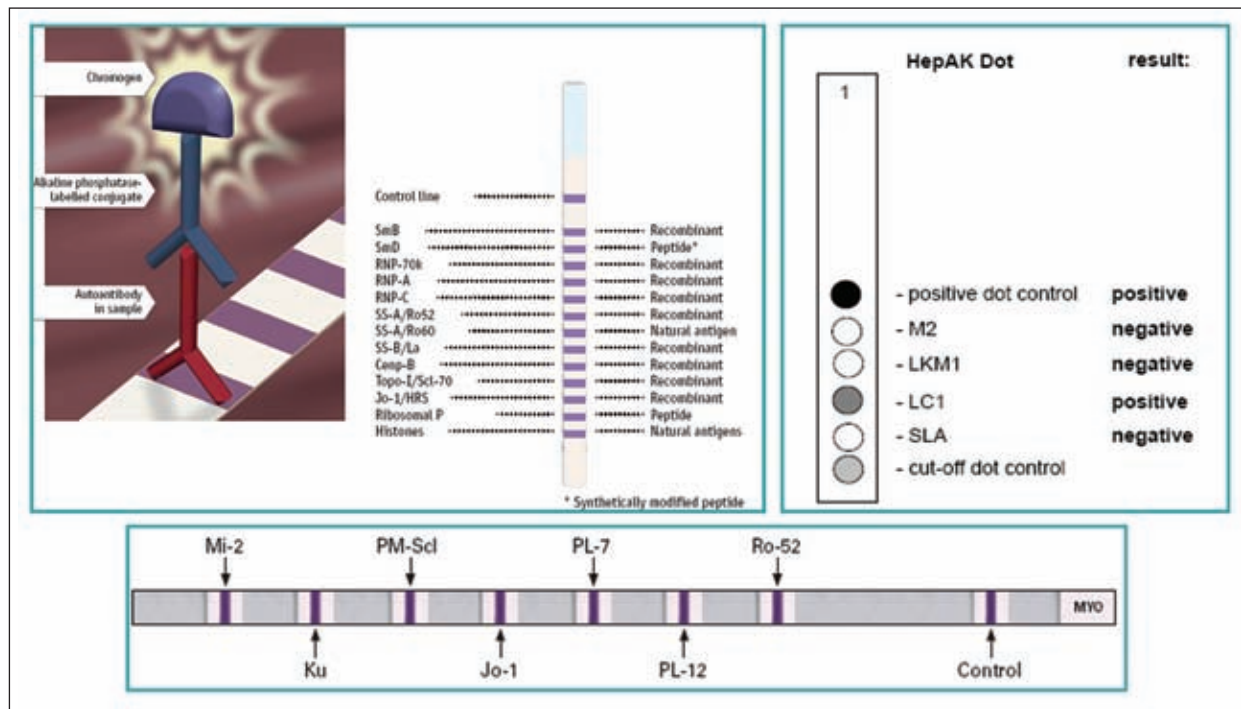


Figura 4. Inmunotransferencia o inmunoblot: a la membrana que actúa de soporte, se unen o imprimen directamente antígenos purificados o recombinantes.

En el caso de la inmunotransferencia o inmunoblot se dispone de unas membranas (de nitrocelulosa o nylon) con los antígenos ya transferidos, que se incuban con el suero del paciente que contiene los posibles anticuerpos; en caso de existir, se unen a los antígenos formando inmunocomplejos, que se identifican mediante anticuerpos específicos marcados con enzimas o isótopos reactivos y se visualizan mediante bandas que al compararlas con los controles puede deducirse a qué proteína corresponde la banda reconocida. Se trata de una técnica muy sensible, pero su utilidad en el campo de la autoinmunidad queda limitada por el hecho de que sólo permite detectar epítomos lineales —los antígenos se desnaturalizan durante la fase de la electroforesis—, y debemos recordar que los epítomos que reconocen una proporción notable de autoanticuerpos no son lineales, sino que son conformacionales. A menudo, se utiliza también otra modalidad de inmunoblot (o Dot Blot) en la que, a la membrana que actúa de soporte, se unen o imprimen directamente antígenos purificados o recombinantes (Figura 4).

La técnica de IFI sigue siendo la de elección para el estudio de los ANAs y el sistema de screening más eficiente en el estudio de una enfermedad autoinmune. Las dianas más relevantes de los ANAs son el DNA de doble cadena (dsDNA), las proteínas asociadas al DNA como histonas y centrómeros, y enzimas importantes para la biología celular

como por ejemplo enzimas “splicing”, polimerasas de RNA, topoisomerasa I de DNA, entre otras.

A la hora de interpretar los resultados de esta técnica es importante considerar algunos aspectos técnicos. En primer lugar, el sustrato empleado; cuando se emplea una monocapa de células HEp-2, procedentes de una línea celular humana de carcinoma de laringe, la sensibilidad de la técnica se incrementa respecto a la utilización de cortes de tejido de roedor, debido a que en el núcleo de la célula del roedor faltan algunos autoantígenos presentes en el núcleo de las células humanas; esto es especialmente cierto con el antígeno Ro. De aquí que en el pasado, algunos sueros de pacientes con LES (15%), especialmente aquéllos que contenían anticuerpos anti-Ro, resultasen negativos cuando en la técnica de determinación de ANAs se empleaban células de roedor. En la actualidad, con la utilización de una línea de células humanas como sustrato, sólo el 1-2% de los pacientes con LES son ANAs negativos[4].

En segundo lugar, la cuantificación de los ANAs mediante el sistema de “títulos” (1/160, 1/320; etc) lleva inherente un cierto grado de variabilidad de los resultados en función de la interpretación subjetiva del técnico de laboratorio, siendo esta variabilidad más acentuada cuando son varios los técnicos que leen y reportan estos resultados. Aunque se han intentado algunos esfuerzos por parte de la Organiza-

Tabla 1. Situaciones clínicas en las que los ANAs pueden detectarse a títulos intermedios

<ul style="list-style-type: none"> • Ancianos • Embarazadas • Familiares de pacientes con EA • Otras enfermedades autoinmunes <ul style="list-style-type: none"> – Tiroiditis – Cirrosis biliar primaria 	<ul style="list-style-type: none"> • Fármacos <ul style="list-style-type: none"> – Procainamida – Hidralacina • Neoplasias
---	---

ción Mundial de la Salud de estandarizar los resultados de ANAs mediante un sistema de unidades internacional, virtualmente todos los laboratorios clínicos continúan proporcionando los resultados siguiendo el sistema de títulos. Dentro de un mismo laboratorio, para una muestra determinada de suero, los resultados de ANAs pueden llevar inherente una variabilidad de hasta dos rangos de dilución dependiendo del técnico que haga la interpretación. Ello significa que una muestra de suero que en un momento dado obtiene unos títulos de ANAs de 1/320, podría producir unos títulos de 1/80 o hasta 1/1280 en repetidas pruebas llevadas a cabo en el mismo laboratorio[1].

Finalmente, es importante conocer que los títulos de ANAs constituyen una medida indirecta de la cantidad total de anticuerpos en el suero. ANAs a títulos bajos se encuentran con relativa frecuencia en la población sana y a títulos intermedios en pacientes de edad avanzada, gestantes y en diversas condiciones (Tabla 1). Por tanto, unos títulos bajos de 1/80 o inferiores no tienen valor en el diagnóstico de una enfermedad autoinmune, mientras que sí lo tiene cuando los títulos se detectan por encima de 1/160[2, 3].

Las especificidades de ANAs que tiene una significación clínica más importante son las que se recogen en la Tabla 2. El componente nuclear donde se localizan estas especificidades o antígenos determinará el patrón visual que se observe mediante IFI. Fundamentalmente se distinguen los patrones homogéneo, centromérico, nucleolar y moteado. Con

alguna excepción, estos patrones tienen escasa especificidad clínica. La excepción es el patrón centromérico, el cual resulta bastante específico de la presencia de anticuerpos frente a ciertos componentes de los centrómeros cromosómicos y tales anticuerpos predominan en la forma limitada de la esclerodermia sistémica. El patrón nucleolar que identifica diversos antígenos nucleolares como la fibrilarina o el antígeno PM-Scl, también suele asociarse a esclerodermia sistémica[2].

Debido a la escasa especificidad de estos patrones, un resultado positivo de ANAs implica proseguir con el estudio de las especificidades que se consideren indicadas, según la sospecha diagnóstica y el patrón observado. No obstante, ante la sospecha clínica elevada de enfermedad autoinmune es necesario proseguir con el estudio de las especificidades aunque el resultado de ANAs sea negativo.

La observación de un patrón homogéneo, en especial si presenta un refuerzo periférico, debe inducir la búsqueda de anticuerpos anti-DNA de doble cadena mediante técnicas adecuadas, cuya especificidad y sensibilidad serán variables según la que se considere. Se recomienda el uso de dos técnicas independientes; primero un ELISA, más sensible, como cribaje y posterior confirmación del resultado mediante un método altamente específico como es la IFI sobre sustrato de *Critidia luciliae* que en caso de ser positiva condiciona la tinción fluorescente del cinetoplasto. Ambos tipos de ensayo permiten la determinación del isotipo de inmunoglobulina. Es bien sabido que el isotipo IgG tiene un valor pronóstico desfavorable en el desarrollo de manifestaciones renales y su presencia en un individuo sano se considera un marcador de riesgo alto de desarrollar un LES en un futuro[1, 2].

Ante un patrón de IFI moteado, o bien un homogéneo con anti-DNA negativos, es necesario estudiar la presencia de los anticuerpos anti-ENA. Los antígenos nucleares extraíbles (denominación histórica que aún se utiliza) son componentes localizados en el núcleo y el citoplasma que pueden

Tabla 2. Especificidades de ANAs que tiene una significación clínica más importante y patrones de IFI que determinan

Patrón	Componente nuclear	Antígeno
Homogéneo	Cromatina	dsDNA, ssDNA, histonas, proteínas HMG
Centromérico	Centrómero	Proteínas asociadas al centrómero (CENP-A, B, C)
Nucleolar	Nucleolo	RNA y/o proteínas nucleolares (fibrilarina, antígeno PM-Scl, polimerasa de RNA)
Moteado	Nucleoplasma/matriz nuclear	Proteínas de U-snRNP (proteínas Sm y Ui-RNP) o complejos Y-snRNP (SS-A/Ro y SS-B/La)
Puntos nucleares tipo colina	Cuerpos <i>coiled</i>	Coilina p80, p 100
Puntos nucleares múltiples	Cuerpos LPM	Sp 100
Anillo	Membrana nuclear	Antígenos asociados al poro (gp210), láminas, receptor de la lámina-B

solubilizarse y extraerse de los tejidos con soluciones salinas de fuerza iónica baja, y que se comportan como dianas para los autoanticuerpos. Están formados por una o más moléculas de RNA asociadas a proteínas. Los principales anticuerpos anti-ENA de interés clínico son: Sm, U1-RNP, SS-A/Ro y SS-B/La. Por extensión se incluyen, a menudo, las especificidades Scl-70 y Jo-1, sin motivo que lo justifique[3, 5].

En nuestro laboratorio de inmunología la primera aproximación al estudio de estos anticuerpos se realiza mediante un inmunoblot. La membrana de soporte contiene todas estas especificidades o antígenos (purificados o recombinantes) y, en caso de que el suero a estudio contenga algún anticuerpo, se visualizará una banda de precipitación (Figura 4). El paso siguiente será la confirmación de esa positividad mediante una técnica de ELISA. El laboratorio dispone de otros inmunoblot cuya membrana de soporte contiene otros antígenos de interés en determinadas situaciones clínicas como el “perfil de miositis” o el “perfil hepático”.

Nuevas tecnologías

En un futuro no muy lejano, se aplicarán nuevas tecnologías que con toda probabilidad sustituirán todas estas técnicas tradicionales que acabamos de comentar y que únicamente son capaces de medir una sola especificidad. Los avances en la tecnología recombinante para la obtención de antígenos y el desarrollo de técnicas de biochip/microarrays o micromatrices, similares a los que se han desarrollado para estudios genéticos, han hecho posible el desarrollo de métodos que permiten la determinación simultánea, en un único ensayo, de múltiples especificidades de autoanticuerpos en una única muestra sérica de un paciente. Se han descrito básicamente dos: los inmunoensayos basados en microesferas para el análisis de múltiples anticuerpos mediante citometría de flujo y los microarrays de proteínas. Se disponen de pocos datos respecto a la precisión y reproducibilidad de estas técnicas, por lo que su utilización en el laboratorio asistencial es todavía incipiente[2].

Bibliografía

1. Jacobe HT, Sontheimer RD. Autoantibodies encountered in patients with autoimmune connective tissue diseases. En: Bologna JL, Jorizzo JL, Rapini RP, eds. Second Edition. Spain, Mosby Elsevier, 2008; 549-60.
2. Cervera R, Plaza A. Guías de práctica clínica y de laboratorio. Autoanticuerpos y enfermedades autoinmunes. Sweden Diagnostics, SL Eds. Barcelona, 2006.
3. Mutasim DF, Adams BB. A practical guide for serologic evaluation of autoimmune connective tissue diseases. *J Am Acad Dermatol* 2000; 42: 159-74.
4. Bradwell AR, Hughes RG. Atlas of HEp-2 patterns., The Binding Site Ltd, eds. 3ª edición. Birmingham, 2007.
5. Wenzel J, Gerdson R, Uerlich M, Bauer R, Bieber T, Boehm I. Antibodies targeting extractable nuclear antigens: historical development and current knowledge. *Br J Dermatol* 2001; 145: 859-67.

Cuestionario de autoevaluación

1. La “validez” de una prueba es el indicador de hasta qué punto los resultados obtenidos se relacionan o no con el diagnóstico buscado. ¿Cuál de los siguientes parámetros orientan sobre la validez?:
 - a) La especificidad y la sensibilidad.
 - b) Los valores predictivos positivo y negativo.
 - c) La sensibilidad y el valor predictivo positivo.
 - d) La sensibilidad y el valor predictivo negativo.
- 2.Cuál de los siguientes parámetros orientan sobre la seguridad de una prueba?:
 - a) El valor predictivo positivo y la sensibilidad.
 - b) Los valores predictivos positivo y negativo.
 - c) El valor predictivo negativo y la especificidad.
 - d) La sensibilidad y la especificidad.
3. ¿Cuál de los siguientes parámetros es imprescindible que cumpla una técnica que se utiliza como cribaje?:
 - a) Una buena especificidad.
 - b) Una buena sensibilidad.
 - c) Un valor predictivo positivo elevado.
 - d) Un valor predictivo negativo elevado.
4. ¿Cuál de los siguientes parámetros es imprescindible que cumpla una técnica que tiene una finalidad diagnóstica?:
 - a) Una buena especificidad.
 - b) Una buena sensibilidad.
 - c) Un valor predictivo positivo elevado.
 - d) Un valor predictivo negativo elevado.
5. Respecto a la interpretación de un resultado de ANAs, ¿cuál de las siguientes afirmaciones es falsa?:
 - a) Un resultado positivo no siempre establece el diagnóstico clínico.
 - b) Un resultado negativo no siempre descarta enfermedad.
 - c) Los ANAs nunca están presentes en el suero de individuos sanos.
 - d) Es importante que los resultados se interpreten de forma global junto con los datos clínicos.
6. ¿Cuál de los siguientes anticuerpos tienen un valor pronóstico?:
 - a) ANAs.
 - b) Anti-Mi2.
 - c) Anti-RNP.
 - d) Anti-DNA.



7. ¿Cuál de los siguientes atributos no es propio de una prueba de ELISA?:
 - a) Es una técnica barata y rápida de realizar.
 - b) Es muy sensible.
 - c) Su interpretación es menos subjetiva que una inmunofluorescencia indirecta.
 - d) Es muy específica.
8. ¿Cuál de las siguientes técnicas de laboratorio no se utiliza de forma rutinaria en la identificación de autoanticuerpos?:
 - a) Inmunolectroforesis.
 - b) Inmunofluorescencia indirecta.
 - c) ELISA.
 - d) Inmunotransferencia.
9. ¿Cuál de los siguientes anticuerpos no es un anti-ENA?:
 - a) Anti-Mi2.
 - b) Anti-RNP.
 - c) Anti-Ro.
 - d) Anti-Sm.
10. ¿Cuál de los siguientes sustratos resulta más sensible en la identificación de los ANAs mediante inmunofluorescencia indirecta?:
 - a) Esófago de roedor.
 - b) Epitelio de vejiga de rata.
 - c) Células HEP-2.
 - d) Triple tejido de rata.
11. ¿En cuál de las siguientes situaciones es posible identificar ANAs a títulos intermedios?:
 - a) Gestantes.
 - b) Ancianos.
 - c) Ingesta de determinados fármacos.
 - d) Todos los anteriores.
12. ¿Qué títulos de ANAs tienen un verdadero valor diagnóstico?:
 - a) > 1/80.
 - b) > 1/160.
 - c) > 1/320.
 - d) > 1/640.
13. ¿Cuál de los siguientes patrones de inmunofluorescencia indirecta en la identificación de los ANAs tiene una mayor especificidad clínica?:
 - a) Homogéneo.
 - b) Nucleolar.
 - c) Centromérico.
 - d) Moteado.
14. La observación de un patrón homogéneo con un refuerzo periférico indica la presencia de anticuerpos:
 - a) Anti-Ro.
 - b) Anti-RNP.
 - c) Anti-Sm.
 - d) Anti-DNA.
15. El patrón moteado se asocia a anticuerpos:
 - a) Anti-DNA.
 - b) Anti-ENA.
 - c) Anti-histonas.
 - d) Anti-PM-Scl.
16. Los anticuerpos anti-ENA son:
 - a) Moléculas RNA asociadas a proteínas.
 - b) Proteínas asociadas al DNA.
 - c) Enzimas "splicing".
 - d) Polimerasas RNA.
17. ¿Cuál de las siguientes afirmaciones es cierta?:
 - a) En la identificación de los ANAs mediante inmunofluorescencia indirecta, la utilización de las células HEP-2 como sustrato permite incrementar la especificidad de dicha técnica.
 - b) El patrón centromérico de inmunofluorescencia indirecta resulta bastante específico de la presencia de los anticuerpos anticentrómero y tales anticuerpos predominan en la forma difusa de la esclerodermia sistémica.
 - c) Los principales anticuerpos anti-ENA de interés clínico son: Sm, U1RNP, SS-A/Ro, SS-B/La y PM-Scl.
 - d) El patrón nucleolar se asocia a esclerodermia sistémica.
18. ¿Qué método de detección de anticuerpos anti-DNAs es más específico del lupus eritematoso sistémico?:
 - a) ELISA
 - b) Inmunoblot
 - c) Inmunofluorescencia en *Crithidia luciliae*
 - d) Inmunofluorescencia en HEP-2.
19. ¿Y cuál es el más sensible?:
 - a) ELISA.
 - b) Inmunoblot.
 - c) Inmunofluorescencia en *Crithidia luciliae*.
 - d) Inmunofluorescencia en HEP-2.
20. ¿Cuál es la principal ventaja de las nuevas tecnologías en la determinación de autoanticuerpos como los microarrays de proteínas?:
 - a) Aumentan la sensibilidad
 - b) Aumenta la especificidad
 - c) Aumentan la seguridad
 - d) Permiten la identificación de múltiples especificidades en un único ensayo.

Respuestas del cuestionario: Aparecerán en esta página en el número 5 de 2010.

Respuestas del cuestionario del número 1 de 2010: 1b, 2c, 3c, 4e, 5c, 6d, 7a, 8d, 9d, 10c, 11d, 12d, 13a, 14e, 15b, 16c, 17a, 18c, 19e, 20e
