

# Enfermedades autoinmunes reumáticas: de la clínica al laboratorio

Autoimmune rheumatic diseases: from clinic to the laboratory

Adriana Lucía Vanegas-García MD<sup>1</sup>

**Resumen:** La autoinmunidad es la pérdida de la tolerancia de un organismo a los antígenos propios, lo que genera la producción de autoanticuerpos; sin embargo, su presencia no siempre indica la existencia de una enfermedad. Las enfermedades autoinmunes reumáticas son un grupo de condiciones crónicas que comparten características clínicas y de laboratorio. Para hacer un diagnóstico correcto se debe partir de la identificación de los síntomas y hallazgos clínicos del paciente, y correlacionarlos con los exámenes de laboratorio, los cuales ayudan a confirmar o descartar la enfermedad, estimar su gravedad, pronóstico y dar seguimiento a su evolución.

**Palabras clave:** Autoinmunidad, autoanticuerpos, autoantígenos, prueba de laboratorio.

**Abstract:** Autoimmunity is the loss of tolerance to self-antigens in an organism, which generates the production of autoantibodies; however, their presence does not always indicate the existence of disease. Rheumatic autoimmune diseases are a group of chronic conditions that share clinical and laboratory features. The correct diagnosis of these diseases are based on the symptoms and clinical findings of patients and their correlation with laboratory tests to confirm or rule out the disease, estimate its severity, prognosis and monitoring the evolution.

**Key words:** Autoimmunity, autoantibodies, autoantigens, laboratory test.

**Vanegas-García AL.** Enfermedades autoinmunes reumáticas: de la clínica al laboratorio. *Medicina & Laboratorio* 2014; 20: 357-382.

<sup>1</sup>Médica, Especialista en Medicina Interna y Reumatología, Reumatóloga Hospital Universitario de San Vicente Fundación. Medellín, Colombia. e-mail: doctoravaneegas@gmail.com

Conflicto de intereses: la autora declara que no tiene conflicto de intereses.  
*Medicina & Laboratorio* 2014; 20: 357-382

Módulo 5 (Inmunología), número 8. Editora Médica Colombiana S.A. 2014<sup>©</sup>  
Recibido el 12 de julio de 2014; aceptado el 04 de agosto de 2014

La autoinmunidad es la pérdida de la tolerancia en un organismo a los autoantígenos, que lleva a una respuesta inmunológica contra las células y los tejidos propios. La interacción entre esta alteración del sistema inmune y algunos factores ambientales determinados, en una persona con la susceptibilidad genética precisa, puede llevar al desarrollo de una enfermedad autoinmune. El diagnóstico de la enfermedad autoinmune reumática requiere de la integración de una anamnesis completa y un examen físico exhaustivo, que lleve a la realización e interpretación de pruebas diagnósticas de laboratorio e imaginológicas apropiadas.

Los exámenes de laboratorio desempeñan un papel imprescindible en la evaluación inicial y en el seguimiento de los pacientes con enfermedades autoinmunes reumáticas, ayudan a confirmar o descartar el diagnóstico si se analizan con base en la clínica, son útiles como herramientas para establecer la presencia de inflamación, evaluar la actividad de la enfermedad y medir la respuesta al tratamiento. Las enfermedades autoinmunes reumáticas a las que el médico se enfrenta con frecuencia y en las que se recurre a la realización de exámenes de laboratorio como ayuda diagnóstica son el síndrome de Sjögren, la artritis reumatoide, el lupus eritematoso sistémico, la enfermedad mixta del tejido conectivo, la granulomatosis con poliangeítis, la poliangeítis microscópica, la granulomatosis alérgica con angeítis, las crioglobulinemias, las miopatías inflamatorias, la esclerosis sistémica, entre otras. En este módulo se realizará una revisión sobre los principales hallazgos de las pruebas del laboratorio general y las pruebas específicas para la detección de autoanticuerpos, que sirven de apoyo en el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes reumáticas.

## El laboratorio general

### Hemoleucograma

#### ▪ Anemia

En las enfermedades reumáticas se pueden encontrar diferentes tipos de anemia. Por ejemplo, hasta en el 60% de los pacientes con lupus eritematoso sistémico se encuentra anemia, en los que la forma por enfermedad inflamatoria crónica es la más común [1]. También se ha descrito la anemia hemolítica autoinmune y no autoinmune, la ferropénica, de enfermedad renal crónica y por mielotoxicidad inducida por medicamentos en estos pacientes [2].

La anemia normocítica o microcítica relacionada con la enfermedad crónica se encuentra con frecuencia en los pacientes con artritis reumatoide, síndrome de Sjögren y lupus eritematoso sistémico, la cual se atribuye a la presencia de autoanticuerpos antieritropoyetina que generan en las células eritroides resistencia a la acción de esta hormona y por tanto, inhibición de la proliferación [3]. De igual forma, se atribuye a la acción de citocinas proinflamatorias como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), la interleucina 1 (IL-1) y la interleucina 6 (IL-6), que inhiben la eritropoyesis mediante la disminución de la proliferación de las células progenitoras y el aumento de su apoptosis. Además, este tipo de anemia está asociada a niveles de ferritina sérica elevados [4].

La anemia ferropénica resulta del sangrado gastrointestinal asociado al uso de glucocorticosteroides y antiinflamatorios no esteroideos (AINE), medicamentos usados en el tratamiento de estos pacientes, y en ocasiones a la baja ingesta de nutrientes. La presencia de un volumen

corpúscular medio (VCM) disminuido junto con niveles séricos de ferritina bajos (menores que 50 g/L) y de transferrina elevados tienen una sensibilidad y especificidad cercana al 100% para la detección de la deficiencia de hierro [5]. Igualmente, puede encontrarse anemia megaloblástica en pacientes con deficiencia de folato o de vitamina B12 relacionada o no con anemia perniciosa [6].

La anemia hemolítica se encuentra en el 5% al 10% de los pacientes con lupus eritematoso sistémico, asociado o no al síndrome de anticuerpos antifosfolípidos [7], al igual que en otras enfermedades como la esclerosis sistémica [8]. En los pacientes con anemia hemolítica se encuentra un aumento en el recuento de reticulocitos y en los niveles de la deshidrogenasa láctica y la bilirrubina indirecta, y un descenso de la haptoglobina. La prueba de Coombs directa puede resultar positiva cuando la anemia hemolítica es de origen autoinmune (en el síndrome de Evans se asocia a trombocitopenia inmune) y se encuentran esquistocitos en el extendido de sangre periférica y trombocitopenia cuando es microangiopática [9]. La anemia hemolítica autoinmune se ha relacionado con la presencia de anticuerpos anticardiolipinas del isotipo IgM [10].

## ▪ Leucopenia y linfopenia

La leucopenia se puede presentar en pacientes con lupus eritematoso sistémico, generalmente a expensas de la linfopenia (20% - 81%) como manifestación de la actividad de la enfermedad [11]. Se han encontrado varios mecanismos relacionados con el descenso de los recuentos linfocitarios, como la presencia de anticuerpos antilinfocitos, el aumento en su apoptosis y su secuestro en los sitios de inflamación o en los tejidos linfoides [12]. La linfopenia se ha asociado con las manifestaciones neurosiquiátricas en los pacientes con lupus eritematoso sistémico [13], debido a la reacción cruzada de los anticuerpos antilinfocitos, especialmente los anti-P ribosomal, con las células neuronales [14]. Hasta un 14% de los pacientes con síndrome de Sjögren presentan leucopenia a expensas de la linfopenia [15].

De igual forma, el uso de glucocorticosteroides genera linfopenia [16], además de disminución en el recuento de eosinófilos [17]. Aunque menos frecuente, el uso de medicamentos como la ciclofosfamida, la azatioprina y el micofenolato mofetilo pueden empeorar la leucopenia debido a la supresión de la médula ósea inducida [11]. En los casos en los que se encuentre leucocitosis debe sospecharse la presencia de una infección, especialmente si es a expensas de los neutrófilos o con desviación a la izquierda (aparición de formas inmaduras). Por su parte, el uso de altas dosis de glucocorticosteroides genera leucocitosis de forma transitoria [18].

## ▪ Neutropenia

En los casos en los que se encuentre neutropenia debe descartarse la presencia de mielotoxicidad inducida por medicamentos como la ciclofosfamida, el metotrexato, la sulfasalazina, el micofenolato mofetilo o la azatioprina [11,19]. En pacientes con lupus eritematoso sistémico se ha descrito una prevalencia de neutropenia hasta del 47% [12], debido a la presencia de anticuerpos antineutrófilos [20]; en aquellos con lupus eritematoso sistémico de inicio juvenil se ha relacionado la neutropenia con un aumento en los niveles séricos de ligandos de receptores de muerte celular [21], mientras que en el síndrome de Sjögren es una manifestación inusual [15].

El síndrome de Felty es una entidad clínica poco frecuente, descrita en pacientes con artritis reumatoide, factor reumatoideo positivo y esplenomegalia, en la que se presenta neutropenia debido a la presencia de inhibidores del factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos, la deficiencia de los factores de crecimiento leucocitario, la presencia de complejos inmunes y la disminución de la supervivencia de los neutrófilos periféricos. La principal complicación de la neutropenia es la aparición de infecciones. Por otra parte, en un tercio de los pacientes, la artritis reumatoide se encuentra asociada a la aparición de leucemia de linfocitos T grandes granulares, entidad en la que los linfocitos tienen una morfología granular anormal [22].

## ▪ Trombocitopenia

Inicialmente debe descartarse que la trombocitopenia sea secundaria a medicamentos. La prevalencia de trombocitopenia en pacientes con lupus eritematoso sistémico, según series previamente revisadas, se encuentra entre 7% y 30% [23] además, está relacionada con una mayor actividad de la enfermedad y mayor morbilidad, que afecta el pronóstico general de estos pacientes [24]. Los mecanismos patogénicos que explican este hallazgo son la destrucción periférica de las plaquetas, debido a la presencia de anticuerpos antiplaquetarios [25-27] y, en menor grado, a la presencia de anticuerpos contra la trombopoyetina [27,28].

En el síndrome antifosfolípido la trombocitopenia es la manifestación hematológica más frecuente; aparece hasta en el 25% de los pacientes, con un recuento plaquetario entre 50.000/ $\mu$ L y 100.000/ $\mu$ L, con sangrado inusual [10]. En los casos en los que la trombocitopenia inmune se encuentra asociada simultánea o seguidamente de la anemia hemolítica autoinmune se denomina síndrome de Evans [29], el cual puede estar asociado al lupus eritematoso sistémico con anticuerpos antifosfolípidos [30]. En el síndrome de Sjögren se describe trombocitopenia en menos del 5% de los pacientes [15].

## Uroanálisis

Hasta el 60% de los adultos y el 80% de los niños con lupus eritematoso sistémico pueden cursar con afección renal [31]. En el uroanálisis se observan alteraciones asociadas a la glomerulonefritis como proteinuria, hematuria microscópica, piuria y la presencia de cilindros celulares como los hemáticos o los leucocitarios [32]. En el síndrome de Sjögren se presenta nefritis intersticial con acidosis tubular renal distal hipocalémica e hiperclorémica, en la que se encuentra hipostenuria y leucocituria [33]. Algunos pacientes, sobre todo en presencia de crioglobulinemia, pueden presentar glomerulonefritis membranosa o membranoproliferativa, sospechada por piuria, hematuria microscópica, proteinuria y cilindros celulares en el sedimento urinario [34].

## Reactantes de fase aguda

Los reactantes de fase aguda son proteínas séricas que se producen en el hígado como parte de la respuesta inflamatoria al estímulo de citocinas proinflamatorias como la interleucina 1, la interleucina 6 y el factor de necrosis tumoral alfa. Estas proteínas tienen como función reconocer los patógenos y mediar su eliminación, limitar el daño en los tejidos del huésped y reducir la reacción inflamatoria. Entre estas se encuentran el fibrinógeno, la proteína C reactiva, la ferritina, los componentes del sistema de complemento, la procalcitonina, la ceruloplasmina, la haptoglobina y el amiloide sérico. La albúmina, en cambio, no es sensible a estas citocinas

proinflamatorias, disminuye su síntesis y niveles séricos durante la inflamación, por lo que se considera un reactante de fase aguda negativo [35]. Existen diferentes métodos de laboratorio para detectar los reactantes de fase aguda en muestras biológicas, algunos de ellos se listan a continuación.

## ▪ Eritrosedimentación o velocidad de sedimentación globular

La eritrosedimentación es la medida de la velocidad con la que los eritrocitos de una muestra de sangre no coagulada se precipitan. Esta medida corresponde a la altura en milímetros de la capa de eritrocitos que se asientan después de una hora en reposo. El método más sensible para su determinación es el de Westergren; en éste, la sangre proveniente de un tubo con anti-coagulante se coloca en un tubo de cristal (pipeta de Westergren graduada en milímetros de 0 a 200) que se ubica en posición vertical y se deja en reposo durante una hora antes de medir la velocidad de la caída de los eritrocitos [36]. Los valores normales en los individuos menores de 50 años son 0-15 mm/h en los hombres y 0-20 mm/h en las mujeres; en los mayores de 50 años el valor normal se obtiene al dividir la edad del paciente en dos [37].

La velocidad de sedimentación globular es una medida indirecta y sensible, pero inespecífica de la respuesta inflamatoria sistémica. Los valores se aumentan desde las primeras 48 horas en respuesta a las altas concentraciones de fibrinógeno que se generan con la inflamación; alcanzan el pico máximo luego de 10 a 20 horas y se normalizan 10 días después de haber cesado el estímulo inflamatorio [38]. Esta prueba puede modificarse por diversas variables como la viscosidad plasmática, el tamaño, la forma y el número de eritrocitos y las fuerzas de repulsión entre ellos, generadas por las cargas negativas producidas por el ácido siálico en sus superficies. El aumento del fibrinógeno y las inmunoglobulinas generan un aumento en la agregación de los eritrocitos, evento conocido como formación de pilas de monedas o «fenómeno de rouleaux», que genera una caída más rápida de los mismos [39].

La determinación seriada de la velocidad de sedimentación globular es útil en el seguimiento y pronóstico de los pacientes con artritis reumatoide, artritis idiopática juvenil y espondilitis anquilosante, además, hace parte de los criterios diagnósticos de la polimialgia reumática y la arteritis de células gigantes cuando se encuentran valores mayores o iguales a 50 mm/h; sin embargo, el hallazgo de valores normales no descarta la presencia de una enfermedad reumática. En los pacientes con lupus eritematoso sistémico o miopatías inflamatorias no se ha encontrado utilidad de esta prueba en el diagnóstico y seguimiento [40]. La velocidad de sedimentación globular puede elevarse en la obesidad, debido a la secreción de la interleucina 6 por los adipocitos [41], y puede disminuir en situaciones donde hay cambios morfológicos de los eritrocitos como la anemia de células falciformes, la esferocitosis hereditaria y las hemoglobinopatías, al igual que en la policitemia vera, la falla cardíaca y en situaciones en las que se encuentre hipofibrinogenemia [42].

## ▪ Proteína C reactiva

La proteína C reactiva fue la primera proteína de fase aguda descrita, nombrada así por su capacidad de precipitar el polisacárido C del *Streptococcus pneumoniae* en presencia de calcio [43]. Además de participar en la regulación de la intensidad y la extensión de la reacción inflamatoria

aguda, la activación del complemento y la depuración de las células apoptóticas [44], está implicada en la patogénesis y curso clínico de la aterosclerosis [45]. Tras un estímulo inflamatorio agudo aumenta su concentración en las primeras seis horas, alcanza un pico máximo a las 48 horas y una vez el estímulo desaparece sus niveles disminuyen rápidamente a su estado basal, debido a que tiene una vida media de sólo 18 horas [46].

En procesos inflamatorios crónicos como la artritis reumatoide o las neoplasias la proteína C reactiva permanece elevada [46]. La medición de esta proteína, a pesar de no ser específica, es más sensible que la medición de la velocidad de sedimentación globular, además no varía con la edad, la morfología de los eritrocitos ni las concentraciones plasmáticas de otras proteínas [38]. La concentración plasmática normal de la proteína C reactiva es de 0,1 mg/dL. Con el método de turbidimetría se consideran normales los valores menores o iguales a 0,6 mg/dL; las concentraciones hasta 1 mg/dL pueden presentarse en relación con traumas menores, gingivitis, diabetes, obesidad, hipertrigliceridemia, entre otros; los valores entre 1 y 10 mg/dL se consideran moderadamente elevados y los mayores de 10 mg/dL como altos. La turbidimetría es menos precisa cuando las concentraciones son menores de 1 mg/dL, pero métodos como la nefelometría, aunque más costosos, son más sensibles [47].

El aumento en los niveles de la proteína C reactiva es útil para establecer la actividad de enfermedades inflamatorias como la artritis idiopática juvenil, la artritis reumatoide, la espondilitis anquilosante, la artropatía psoriática, la polimialgia reumática, la arteritis de células gigantes y otras vasculitis sistémicas [48]. En la artritis reumatoide los niveles elevados de la proteína C reactiva se asocian con sinovitis y erosiones tempranas [49]. En el lupus eritematoso sistémico los niveles hasta de 6 mg/dL pueden explicarse por la actividad de la enfermedad en los casos de sinovitis [50], serositis o vasculitis, pero concentraciones mayores o iguales a 6-8 mg/dL obligan a descartar una infección concurrente [51].

## ■ Las proteínas del sistema del complemento

El sistema del complemento consiste en una serie de proteínas que pueden ser activadas por una variedad de agentes incluyendo los inmunocomplejos [52]. Para evaluar la activación de este sistema generalmente se determinan los niveles séricos de las fracciones C3 y C4, las cuales pueden actuar como reactantes de fase aguda positivos (sus niveles aumentan en algunas infecciones); sin embargo, son consumidos y por tanto encontrados en niveles bajos en las enfermedades que cursan con la formación y depósito de inmunocomplejos como el lupus eritematoso sistémico [53], la glomerulonefritis postinfecciosa [54], la vasculitis crioglobulinémica [55], la vasculitis urticarial hipocomplementémica [56], la endocarditis infecciosa [57], entre otras.

Por otro lado, las deficiencias congénitas de los componentes del complemento, como la deficiencia de C1q, C4 y C2, se asocian con el incremento en el riesgo de sufrir lupus eritematoso sistémico, debido a la deficiencia en la depuración de los inmunocomplejos, la remoción de las células apoptóticas o cambios en la regulación de citocinas [53]. La prueba de la actividad del complemento hemolítico total es usada como tamizaje para el diagnóstico de las deficiencias congénitas del complemento y representa la integridad de la vía clásica; para esta, se mezcla el suero del paciente con una solución de eritrocitos de cordero sensibilizados con anticuerpos antieritrocitarios de conejo y el título en el que ocurre el 50% de la hemólisis ( $CH_{50}$ ) representa la actividad de la vía clásica del complemento sérico [58].

## Los autoanticuerpos

La presencia de autoanticuerpos por sí misma no significa el diagnóstico de una enfermedad autoinmune; su detección debe correlacionarse con los síntomas y los hallazgos clínicos y del laboratorio general. Existe un porcentaje de personas sanas que pueden tener autoanticuerpos sin presentar una enfermedad autoinmune. Lo ideal es emplear pruebas que combinen una alta sensibilidad y especificidad.

## Factor reumatoideo

Se denomina factor reumatoideo a los autoanticuerpos dirigidos contra la porción terminal de la fracción constante (fracción Fc) de la cadena pesada de la inmunoglobulina G (IgG) humana, que se encuentran en los sueros de los pacientes con artritis reumatoide. Estos anticuerpos generalmente son de alta afinidad (tipo IgG), pero también pueden pertenecer a los isotipos IgM, IgA, IgE e IgD [59]. En la artritis reumatoide los niveles séricos altos del factor reumatoideo se relacionan con la enfermedad erosiva, más agresiva y con el desarrollo de vasculitis reumatoide [60]. En las enfermedades linfoproliferativas, como la leucemia linfocítica crónica, la macroglobulinemia de Waldstrom y la crioglobulinemia mixta tipo II, el factor reumatoideo puede ser monoclonal o policlonal, y tiene idiotipos de reacción cruzada, es decir, comparte determinados determinantes idiotípicos con otra u otras clonas de anticuerpos [61].

El factor reumatoideo fue descubierto en 1937 por Waaler [62], cuyos estudios fueron reproducidos por Rose en 1948 [63]. La técnica Waaler-Rose determina el factor reumatoideo de tipo IgM mediante la aglutinación de eritrocitos de carnero sensibilizados con IgG de conejo. En la prueba de látex los glóbulos rojos de carnero son remplazados por partículas de látex recubiertas con IgG humana purificada. Las técnicas de aglutinación son poco específicas y su utilidad clínica es limitada. Actualmente se utiliza la nefelometría o la turbidimetría, métodos con mayor sensibilidad y especificidad y que pueden detectar los diferentes isotipos (IgM, IgG, IgA e IgE) [64]. Un resultado positivo del factor reumatoideo no hace el diagnóstico de la artritis reumatoide; es importante que el médico correlacione los resultados con otros datos clínicos, pues como se describe en la [tabla 1](#) son muchas las condiciones en las que el factor reumatoideo puede ser positivo, incluso en personas sanas [65].

**Tabla 1. Condiciones clínicas que cursan con factor reumatoideo positivo**

Condición	Factor reumatoideo positivo (%)
Artritis reumatoide	50-90
Síndrome de Sjögren	75-95
Crioglobulinemia	40-100
Enfermedad mixta del tejido conectivo	40-60
Enfermedades virales	15-65
Neoplasias	15-65
Endocarditis infecciosa	25-50
Hepatopatías	15-40
Lupus eritematoso sistémico	15-35
Esclerosis sistémica	20
Artritis idiopática juvenil	5-10
Miopatías	10
Adultos sanos mayores de 70 años	10-25
Tuberculosis	8
Adultos sanos menores de 70 años	1-4

*Tomado de [40] y [66]*



## Anticuerpos contra péptidos citrulinados

En 1964 se describió un autoanticuerpo llamado factor antiperinuclear, que fue detectado por inmunofluorescencia indirecta en células de la mucosa oral y que reconocía los antígenos presentes en los gránulos queratohialinos alrededor de los núcleos [67]. El anticuerpo antiperinuclear se encontró hasta en el 90% de los pacientes con artritis reumatoide, con un 73% a 99% de especificidad [68]. Más adelante, Young y colaboradores detectaron los anticuerpos antiqueratina usando inmunofluorescencia indirecta en secciones de tejido esofágico de ratas criopreservadas [69]. La sensibilidad reportada de los anticuerpos antiqueratina en pacientes con artritis reumatoide fue del 36% al 59%, con una especificidad del 88% al 99% [68]. Actualmente estas pruebas no se emplean en la práctica clínica, debido a la dificultad en la estandarización de los sustratos y la interpretación arbitraria del patrón de la inmunofluorescencia indirecta [70].

Estudios posteriores demostraron que los anticuerpos antiperinuclear y antiqueratina pertenecían a la misma familia de autoanticuerpos dirigidos contra el mismo antígeno, la filagrina, una proteína de unión a los filamentos implicada en la organización del citoesqueleto de las células epiteliales [71-73]. A partir de estos hallazgos se han desarrollado pruebas de inmunotransferencia y de ELISA usando filagrina purificada de la piel humana como antígeno para la detección de anticuerpos antifilagrina. Vincent y colaboradores encontraron antifilagrina en el 41% de los pacientes con artritis reumatoide, con una especificidad del 99% [74]. Al combinar la detección de antifilagrina con la de antiqueratina se logró una mayor sensibilidad (64%) [75], sin perder especificidad, pero dependiente del método de purificación de la filagrina. La detección del anticuerpo antifilagrina por ELISA demostró ser el más sensible (47%-54%) [76] y mucho mayor cuando se usaba filagrina recombinante (52%) [77]. Aunque la filagrina no está presente en la sinovia se han identificado otras proteínas citrulinadas, como el fibrinógeno y la fibronectina, que se encuentran en la sinovia de pacientes con artritis reumatoide [77,78].

Los epítopes reconocidos por los anticuerpos antifilagrina son residuos citrulinados en esta proteína [79]. La citrulinización es una modificación postraduccional del aminoácido arginina a citrulina, catalizada por la enzima peptidil arginina deiminasa que se encuentra en el citosol. Esta enzima normalmente se encuentra inactiva, pero tras los fenómenos de inflamación, necrosis celular y apoptosis, que aumentan el flujo de calcio al interior de la célula, se induce su activación. Además, cuando se rompen las membranas de las células se libera la peptidil arginina deiminasa al espacio extracelular, lo que permite que citruline los residuos de arginina de las proteínas intra y extracelulares, y por tanto facilite su degradación [80]. Con base en este conocimiento se han sintetizado diferentes péptidos citrulinados derivados de la filagrina, para detectar los anticuerpos dirigidos contra éstos por ELISA, que ha demostrado un aumento en la sensibilidad, sin pérdida de la especificidad, en el diagnóstico de la artritis reumatoide [72].

En el año 2000 se desarrollaron las pruebas de primera generación para la detección de los anticuerpos antipéptidos citrulinados cíclicos, que emplean un péptido cíclico citrulinado simple derivado de la filagrina, con una sensibilidad del 68% y una especificidad del 98% para el diagnóstico de artritis reumatoide [81]. Posteriormente, se sintetizaron las pruebas de segunda y tercera generación que utilizan péptidos citrulinados cíclicos a los que se les



adicionaron diferentes epítopes para mejorar su composición antigénica y el reconocimiento por anticuerpos [82]. Éstos demostraron una sensibilidad comparable a la del factor reumatoideo (aproximadamente del 80%), pero una especificidad mucho mayor (aproximadamente 96%) [83-86]. En el líquido sinovial también se encuentra la vimentina citrulinada, por lo que en el suero se pueden detectar anticuerpos contra esta proteína usando una vimentina citrulinada mutada, con una sensibilidad del 74,5% al 82% y una especificidad del 90,3% al 98,0% para la artritis reumatoide (ver [tabla 2](#)) [87,88].

**Tabla 2. Sensibilidad y especificidad de los antipéptidos citrulinados disponibles para el diagnóstico de la artritis reumatoide**

Prueba	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Referencias
Primera generación	68,0 - 76,0	96,0 - 98,0	[72, 81]
Segunda generación	65,0 - 82,0	86,1 - 98,5	[79, 83-89]
Tercera generación	68,5 - 77,5	86,1 - 96,5	[84, 85, 89]
Anti-vimentina citrulinada mutada	74,5 - 82,0	90,3 - 98,0	[85, 87, 88]

En nuevos análisis el término antipéptidos citrulinados cíclicos ha sido reemplazado por el de anticuerpos antipéptidos citrulinados, entre los que se incluyen los anticuerpos antifilagrina, antivimentina citrulinada mutada, los antipéptidos citrulinados lineales y los antipéptidos citrulinados cíclicos de primera, segunda y tercera generación [85]. Los antipéptidos citrulinados son un marcador pronóstico en la artritis reumatoide y tienen un alto poder de discriminación entre la enfermedad erosiva y no erosiva, siendo más agresiva en aquellos pacientes con títulos altos [90,91], y en los que además se encuentran títulos elevados del factor reumatoideo [92]. Existen otras enfermedades diferentes a la artritis reumatoide en las que se pueden encontrar antipéptidos citrulinados positivos, los cuales se enumeran en la [tabla 3](#) [93].

**Tabla 3. Condiciones clínicas que cursan con antipéptidos citrulinados positivos**

Condición	Antipéptidos citrulinados positivos (%)
Tuberculosis	34,3
Artritis psoriática	8,6
Lupus eritematoso sistémico	7,8
Artritis idiopática juvenil	7,7
Esclerosis sistémica	6,8
Síndrome de Sjögren	5,7
Vasculitis asociadas a anticuerpos contra el citoplasma de neutrófilos	4,7
Crioglobulinemia	3,5
Fibromialgia	2,7
Espondiloartritis	2,3
Osteoartritis	2,2
<i>Tomado y modificado de [93]</i>	

## Anticuerpos antinucleares

En 1948 Malcom Hargrave, Helen Richmond y Robert Morton notaron la presencia de unas células desconocidas en la médula ósea de los pacientes con lupus eritematoso sistémico, las cuales describieron como leucocitos polimorfonucleares maduros que habían fagocitado el material nuclear liberado por otro leucocito y que se denominaron células LE [94]; sin embargo, se encontraban pacientes con lupus eritematoso sistémico que no tenían células LE y se encontraban células LE en personas sin lupus eritematoso sistémico. Por tal razón, se

desarrollaron técnicas para aumentar la sensibilidad y la especificidad de las pruebas diagnósticas, incluyendo la microscopía por inmunofluorescencia (usando células enteras), la inmunodifusión (usando antígenos nucleares parcialmente purificados), la hemaglutinación, la fijación del complemento, la ELISA (usando antígenos nucleares altamente purificados) y los radioinmunoanálisis [95].

Los anticuerpos antinucleares (ANA) son un grupo de anticuerpos que reaccionan contra los antígenos nucleares, que incluye los ácidos nucleicos, las histonas, la cromatina, las ribonucleoproteínas, las proteínas nucleares y nucleolares [96]. La detección de estos anticuerpos anticelulares es fundamental en la evaluación de los pacientes con enfermedades autoinmunes, debido a que la presencia de varios blancos antigénicos le confiere una sensibilidad excelente, sin embargo, la especificidad no lo es tanto, pues si bien se relacionan con el diagnóstico del lupus eritematoso sistémico se encuentran presentes en otras enfermedades autoinmunes, enfermedades infecciosas e incluso en personas sanas (ver [tabla 4](#)) [97].

**Tabla 4. Condiciones clínicas que cursan con anticuerpos antinucleares positivos**

Condición	Anticuerpos antinucleares positivos (%)
Enfermedad mixta del tejido conectivo	100
Lupus eritematoso sistémico	95-100
Lupus inducido por medicamentos	90
Esclerosis sistémica	60-80
Síndrome de Sjögren	40-70
Miopatía inflamatoria	60
Artritis reumatoide	50
Hepatitis autoinmune	50
Enfermedad tiroidea autoinmune	45-50
Lupus discoide	15

*Tomado y modificado de [97]*

La detección de los anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia indirecta fue descrita por primera vez en 1950 por Coons y Kaplan [98] y refrendada por Friou en 1957 [99]. Esta prueba detecta la presencia de los anticuerpos antinucleares y de los anticuerpos contra el aparato mitótico, de las organelas citoplasmáticas y de las membranas celulares, en el suero del paciente, el cual es incubado en diluciones seriadas (generalmente incrementando en dos veces) con un sustrato celular. Los anticuerpos unidos a los sustratos se detectan con anticuerpos IgG específicos antihumanos conjugados con fluoresceína, cuya fluorescencia es visualizada en un microscopio de fluorescencia en el que se observan diferentes patrones asociados a ciertas enfermedades autoinmunes. Los anticuerpos antinucleares deben emplearse únicamente con fines diagnósticos, pues no presentan utilidad en la determinación de la supervivencia o la progresión de las enfermedades [95].

Para una correcta interpretación de los resultados con los anticuerpos antinucleares es imprescindible hacer la correlación clínica y se deben reportar teniendo en cuenta tres parámetros: el sustrato usado, el título al cual fue positiva la prueba luego de las diluciones seriadas y el patrón de fluorescencia, como se describe a continuación:

- **Sustrato:** se han usado sustratos heterogéneos como hígado, estómago y riñón de roedor, sin embargo, en 1975, se introdujeron las células Hep-2 para aumentar la sensibilidad de esta prueba. Las Hep-2 son células de carcinoma escamoso laríngeo humano cultivadas y

disponibles comercialmente en placas de vidrio prefijadas [100]. Esta línea celular tiene la ventaja de tener núcleos grandes que permiten una mejor visualización, una tasa de división rápida, suficiente número de células en mitosis para reconocer los patrones, mayor concentración de antígenos nucleares y celulares y mejor estandarización; por tal razón, son el sustrato más usado actualmente y considerado el estándar de oro [101]. Frecuentemente se pueden encontrar los anticuerpos antinucleares negativos o débilmente positivos en los sueros de pacientes con anticuerpos anti-SS-A/Ro. La incapacidad para la detección de los anticuerpos anti-SS-A/Ro en las células Hep-2 generalmente es debida a la baja concentración del antígeno y a la variabilidad de su expresión en los diferentes lotes de células. En los últimos años han surgido alternativas para la determinación de los anticuerpos antinucleares, como es el caso de las células Hep-2000®, las cuales están constituidas por células Hep-2 transfectadas con el antígeno Ro de 60 kDa, que le confieren una mayor expresión antigénica, con la posibilidad adicional de detectar semicuantitativamente la presencia de anticuerpos contra el sistema SSA/Ro [102].

- **Título:** se reporta como la última dilución a la cual es detectable un patrón de anticuerpos antinucleares. A mayor título mayor probabilidad de asociación con una enfermedad. En personas sanas se ha demostrado la presencia de anticuerpos antinucleares positivos en un 31,7% para títulos de 1:40, 13,3% de 1:80, 5% de 1:160 y 3,3% de 1:320 [103]. Un título anormal de anticuerpos antinucleares es aquel por encima del percentil 95 de la población normal control, que en general se considera por encima de 1:160 [104].
- **Patrón:** además de los patrones nucleares, deben reportarse los patrones citoplasmático y del aparato mitótico. El patrón se relaciona con los autoantígenos celulares contra los cuales están dirigidos los anticuerpos y de acuerdo con ellos se puede correlacionar con una u otra enfermedad (ver [tabla 5](#)) [105].

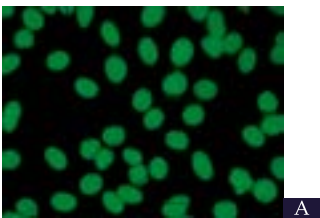
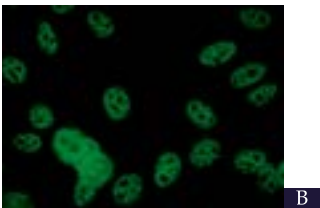
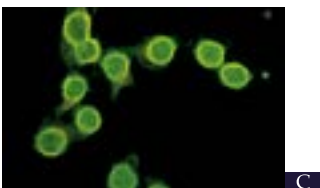
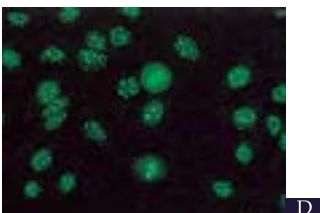
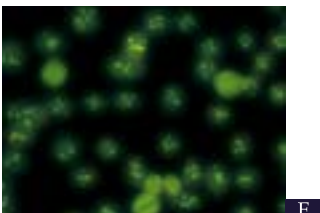
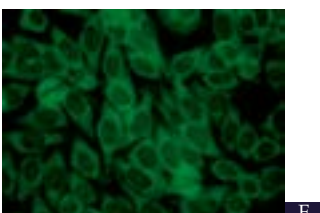
Entre las limitaciones de la inmunofluorescencia indirecta para la detección de los anticuerpos antinucleares están las variaciones en el sustrato, la realización manual del procedimiento, la interpretación subjetiva del resultado, el elevado consumo de tiempo y los gastos del laboratorio. Para resolverlas se han desarrollado sistemas automatizados con patrones de reconocimiento disponibles en diferentes software; sin embargo, la estandarización continúa siendo un problema crítico [107].

La técnica de ELISA es un prueba rápida para la detección de los anticuerpos antinucleares, no obstante, presenta algunas desventajas como la limitación del número de autoantígenos disponibles, la pérdida de la información que proveen los patrones de la inmunofluorescencia y la menor sensibilidad para un examen empleado para cribado. Los anticuerpos antinucleares en pacientes con lupus eritematoso sistémico son positivos por ELISA en un 87% y por inmunofluorescencia indirecta en un 95% [108].

## Anticuerpos contra el ADN nativo de doble cadena

Los anti-ADN de doble cadena (anti-ADNds) se consideran un marcador serológico del lupus eritematoso sistémico, especialmente de la nefritis lúpica [95]. La detección de estos anticuerpos no tiene una alta sensibilidad, pues son positivos sólo en el 50% al 60% de los pacientes con esta enfermedad [109]. Para monitorizar la actividad del lupus eritematoso sistémico se debe usar el mismo método de medición empleado para el diagnóstico [104]. Existen varias técnicas para la detección de los anti-ADN de doble cadena, las más frecuentes son:

Tabla 5. Patrón de inmunofluorescencia, antígeno y enfermedad relacionada

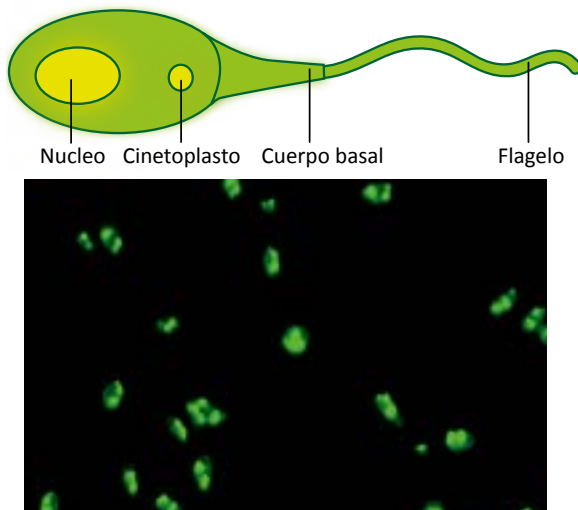
Patrón	Imagen	Antígeno	Enfermedad
Homogéneo/ Difuso		ADN Histonas Topoisomerasas	Lupus eritematoso sistémico Lupus inducido por medicamentos Esclerosis stémica
Moteado		Sm RNP SS-A/Ro SS-B/La	Síndrome de Sjögren Lupus eritematoso sistémico Enfermedad mixta del tejido conectivo
Periférico o en anillo		ADN de doble cadena	Lupus eritematoso sistémico
Centromérico		Centrómero (CENP-A, B, C, D)	Esclerosis sistémica <u>Menos frecuente:</u> Lupus eritematoso sistémico Artritis reumatoide Cirrosis biliar primaria
Nucleolar		PM/Scl RNA nucleolar	Miopatías inflamatorias Esclerosis sistémicas
Citoplasmático		Citoplasma Ribosomas Jo-1 Ro	Lupus eritematoso sistémico Síndrome antisintetasa Síndrome de Sjögren Hepatitis autoinmune Miopatías inflamatorias

Tomado y modificado de [40] y [105].

Las imágenes A, B, E y F son cortesía del Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia.

Las imágenes C y D son cortesía del Dr. José Fernando Molina. Tomadas de [106].

- **Análisis Farr:** mide la precipitación del ADN de doble cadena radiomarcado por anticuerpos anti-ADN de doble cadena presentes en el suero, bajo altas concentraciones de sulfato de amonio. Esta prueba detecta principalmente anticuerpos de alta afinidad contra el ADN de doble cadena, sin diferencias entre los isotipos. Es la técnica más específica y confiable, sin embargo, es dispendiosa, técnicamente difícil e implica el uso de material radioactivo, por lo que su uso en la práctica diaria se ha reducido [95].
- **Inmunofluorescencia indirecta:** Aarden y colaboradores en 1975 usaron la inmunofluorescencia indirecta con un hemoflagelado llamado *Crithidia luciliae* que sirvió como sustrato para detectar los anti-ADN de doble cadena. Este microorganismo es parte de la familia *Trypanosomatidae* y tiene una organela intracelular de tipo mitocondrial modificada, denominada cinetoplasto, que contiene ADN de doble cadena en altas concentraciones y que no está asociado a histonas ni a antígenos nucleares reconocibles. Se considera positivo todo suero con una fluorescencia brillante localizada en el cinetoplasto a una dilución 1:10 o superior (ver figura 1), y negativos si se presenta fluorescencia en el núcleo o el corpúsculo basal, pero no en el cinetoplasto. Los sueros positivos se titulan y se reporta el título de la mayor dilución a la que se obtiene un resultado positivo [110].



**Figura 1.** *Crithidia luciliae*. A. Esquema de la morfología del hemoflagelado y B. Inmunofluorescencia indirecta de los anticuerpos anti-ADN. Cortesía del Grupo de Reumatología, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

Esta prueba tiene mayor especificidad en los pacientes con lupus eritematoso sistémico en comparación con las técnicas de ELISA. La sensibilidad se compara con la del análisis Farr, pero la inmunofluorescencia indirecta es más fácil de realizar [110,111]. Esta prueba puede usarse para detectar IgG anti-ADN de doble cadena, IgM anti-ADN de doble cadena o todos los isotipos de anti-ADN de doble cadena [95].

- **ELISA:** el ADN de doble cadena se adhiere a los pozos de la placa de ELISA y se añade el suero del paciente como fuente de anti-ADN de doble cadena, los cuales se detectan con un segundo anticuerpo. Aunque se puede usar para detectar varios isotipos de anticuerpos el más común usado clínicamente es la IgG anti-ADN de doble cadena. Esta prueba detecta tanto anticuerpos de baja como de alta afinidad, lo que la hace una técnica menos específica. Además, puede dar resultados falsos positivos por el ADN de cadena simple que puede

contaminar el ADN de doble cadena. En muchos estuches comerciales la preparación es altamente purificada o se remueve enzimáticamente el ADN de cadena sencilla para asegurar que solamente se está midiendo el anti-ADN de doble cadena [95].

## Anticuerpos contra antígenos nucleares extractables

La detección de los antígenos nucleares extractables (ENA) usualmente se realiza mediante ensayos inmunoenzimáticos que se basan en la captura de los anticuerpos del suero de los pacientes por los antígenos inmovilizados y purificados obtenidos de tejidos como el timo de conejo o el bazo humano, o por técnicas recombinantes [112].

El antígeno Sm se nombró por un paciente, Smith, que tenía lupus eritematoso sistémico. Los anticuerpos anti-Sm fueron identificados en 1966 y están dirigidos contra siete proteínas (B/B', D1, D2, D3, E, F, G) que constituyen el núcleo común de las partículas de ribonucleoproteínas pequeñas nucleares (sn-RNP, del inglés *small nuclear ribonucleoprotein*) U1, U2, U4 y U5. Los anticuerpos anti-ribonucleoproteína reaccionan contra las proteínas (70 kDa A, C) asociadas con ARN U1 y la forma U1sn-RNP. Los anticuerpos anti-Sm y anti-ribonucleoproteína se dirigen hacia ambos epítomos discontinuos y lineales que están contenidos en la secuencia de la proteína o que son modificados después de la traducción. Los anti-Sm son específicos del lupus eritematoso sistémico, sin embargo, solamente se encuentran positivos en el 15% al 30% de los pacientes y se asocian con afección renal. Los anti-ribonucleoproteínas hacen parte de los criterios diagnósticos de la enfermedad mixta del tejido conectivo cuando se encuentran positivos en títulos altos de forma aislada. También se pueden encontrar en el 25% al 47% de los pacientes con lupus eritematoso sistémico y en pacientes con esclerosis sistémica; se asocian con manifestaciones clínicas como miositis, afección esofágica, fenómeno de Raynaud, esclerodactilia y enfermedad pulmonar intersticial [113].

Los autoanticuerpos anti-SS-A o anti-Ro han sido descritos como un marcador serológico para el síndrome de Sjögren (presentes hasta en el 90% de los pacientes), sin embargo, también se han encontrado en pacientes con otras enfermedades autoinmunes sistémicas como el lupus eritematoso sistémico (50% de los pacientes). Los antígenos contra los que se dirigen son partículas de ribonucleoproteínas que hacen parte de un complejo macromolecular que procesa los transcritos de la ARN polimerasa (Ro: p60 y p52). Los anti-Ro se han relacionado además con el lupus neonatal (la subunidad Ro52) y las manifestaciones cutáneas del lupus eritematoso sistémico. El anti-Ro52 puede encontrarse hasta en el 37% de los pacientes con miositis, lo que se correlaciona con la reactividad para los anti-Jo1 (anti-histidil ARNt sintetasa). Los anti-La se encuentran en el 10% al 15% de pacientes con lupus eritematoso sistémico; se han relacionado con enfermedad pulmonar, trombocitopenia, linfopenia y protege contra la nefritis asociada a anti-Ro. Es inusual encontrar anti-La sin anti-Ro [114].

## Otros autoanticuerpos

- Los anticentrómeros son anticuerpos que reconocen al menos cuatro de los antígenos constitutivos del centrómero o cinetocoro (CENP-A, CENP-B, CENP-C, CENP-D), los cuales se encuentran en el 2% al 5% de los pacientes con esclerosis sistémica, específicamente con la forma cutánea limitada (40% al 60% de los pacientes). También se pueden encontrar en el lupus eritematoso sistémico, la artritis reumatoide y la cirrosis biliar primaria [115].

- Los anticuerpos anticromatina están dirigidos contra la cromatina nativa. Se encuentran en el 70% al 80% de los pacientes con lupus eritematoso sistémico y en el 95% al 100% de aquellos con lupus inducido por medicamentos. Estos anticuerpos se caracterizan por ser muy específicos del lupus eritematoso sistémico [116].
- El C1q es el primer componente de la vía clásica del complemento. La deficiencia de C1q es un factor de riesgo para sufrir lupus eritematoso sistémico, debido a la disminución en la depuración de los cuerpos apoptóticos. Los anticuerpos dirigidos contra C1q están presentes en el 47% de los pacientes con lupus eritematoso sistémico y se asocian con afección renal. Su evaluación es útil para la detección de recaídas renales, pero no para determinar la actividad de la enfermedad [117].
- Los anticuerpos antitopoisomerasa (anti-Scl70) reaccionan contra una proteína nuclear no histona de 70 kDa, la ADN topoisomerasa I. Se encuentran en el 15% al 20% de los pacientes con esclerosis sistémica cutánea difusa y están asociados por lo general con fibrosis pulmonar [115].
- Los anticuerpos antisintetasa están dirigidos contra las sintetasa del ARN de transferencia (ARNt), siendo los más comunes los dirigidos contra las proteínas histidil ARNt sintetasa (anti-Jo-1), treonil-ARNt sintetasa (anti-PL-7), alanil-ARNt sintetasa (anti-PL-12), glicil-ARNt sintetasa (anti-EJ) y leucil-ARNt sintetasa (anti-OJ). El anti-Jo-1 se encuentra en el 20% al 30% de los pacientes con polimiositis y en el 10% de los pacientes con dermatomiositis [118].
- Los anti-PM/Scl son anticuerpos que reaccionan contra al menos 11 proteínas nucleolares que forman el macrocomplejo exosoma. Estos anticuerpos se encuentran en los síndromes de superposición de esclerosis sistémica y miositis [106].

## Anticuerpos contra el citoplasma de neutrófilos

Los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA) son un marcador sensible y específico para las vasculitis asociadas a anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos. Estos anticuerpos están dirigidos contra varios componentes citoplasmáticos de los neutrófilos y pueden ser detectados por técnicas de inmunofluorescencia indirecta y ELISA. En la inmunofluorescencia indirecta el suero de los pacientes es incubado con neutrófilos humanos fijados con etanol, posteriormente, se adiciona un anticuerpo anti-IgG humana conjugado con fluoresceína y se observa por microscopía de fluorescencia principalmente dos patrones: citoplasmático difuso (c-ANCA: c-anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos) o perinuclear (p-ANCA: p-anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos) (ver [figura 2](#)) [119].

La exactitud de los resultados se basa en la experiencia del personal del laboratorio y en la interpretación de los resultados de inmunofluorescencia. Por su parte, a diferencia de la inmunofluorescencia indirecta las técnicas de ELISA son más específicas y ayudan a identificar el antígeno contra el cual están dirigidos los anticuerpos, sin embargo, en nuestro medio se cuenta únicamente con dos antígenos para estos inmunoensayos: la proteinasa 3 (PR3) y la mieloperoxidasa (MPO), que están presentes en los gránulos azurófilos de los neutrófilos y los lisosomas peroxidasa positivos de los monocitos [119-121].



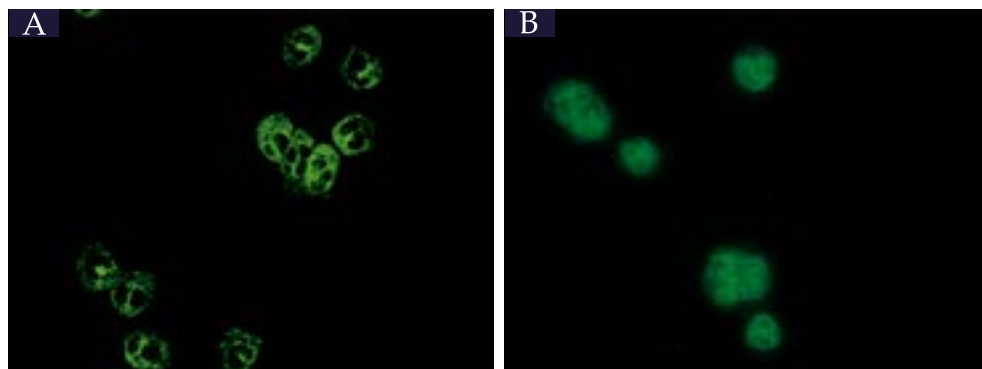


Figura 2. Patrones de inmunofluorescencia de los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos A. Patrón c-ANCA y B. Patrón p-ANCA. Cortesía del Laboratorio Clínico Hematológico. Medellín, Colombia.

El patrón c-ANCA indica la tinción difusa de todo el citoplasma y, en la mayoría de los casos, los anticuerpos están dirigidos contra la proteinasa 3 [122]; sin embargo, los anticuerpos contra otros antígenos citoplasmáticos pueden causar una fluorescencia citoplasmática, como es el caso de los dirigidos contra la proteína bactericida que incrementa la permeabilidad (BPI, del inglés *bactericidal/permeability-increasing protein*) [123] y, en raras ocasiones, contra la mieloperoxidasa [124]. El patrón p-ANCA indica la tinción alrededor del núcleo y el anticuerpo responsable de este patrón está generalmente dirigido contra la mieloperoxidasa [125]; no obstante, también se han identificado como causantes del patrón p-ANCA los autoanticuerpos contra la elastasa [122], la catépsina G [122,126], la lactoferrina [127], la lisozima [128] y la azurocidina [129].

El patrón c-ANCA (PR3-ANCA) está asociado con la granulomatosis con poliangéitís (antes granulomatosis de Wegener) [130] y el patrón p-ANCA (MPO-ANCA) con la poliangéitís microscópica [131], la glomerulonefritis limitada al riñón [125] y la granulomatosis alérgica con angéitís (antes síndrome de Churg Strauss) [132]; sin embargo, no hay una especificidad absoluta. El patrón p-ANCA (MPO-ANCA) se ha encontrado entre el 4% y 21% de los pacientes con granulomatosis con poliangéitís [131,133,134], a su vez, tienen c-ANCA (PR3-ANCA) del 15% al 23% de pacientes con poliangéitís microscópica [131,134] y el 8,6% con granulomatosis alérgica con angéitís [132]. Además, se ha encontrado un resultado negativo para los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos entre un 4% y 11% de los pacientes con granulomatosis con poliangéitís [135,136], 21% con poliangéitís microscópica [136] y 62,4% con granulomatosis alérgica con angéitís [132].

Los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos se observan ocasionalmente en pacientes con afecciones inmunológicas distintas a la vasculitis sistémica, tales como la enfermedad inflamatoria del intestino [137,138], la hepatitis autoinmune [139], la enfermedad tiroidea autoinmune [140,141], las neoplasias hematológicas [142,143] y otras enfermedades reumáticas [144-150] e infecciosas [151-153]; algunas de ellas, con patrones atípicos que se confunden con el patrón p-ANCA y cuya presencia puede o no estar relacionada con la enfermedad. De igual forma, la vasculitis asociada al consumo de cocaína se presenta con anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos positivos tanto por inmunofluorescencia indirecta como por ELISA, para uno o ambos antígenos [154-157]. La medición de los anticuerpos anticitoplasma de neutró-

filos está indicada en pacientes con síntomas multisistémicos, glomerulonefritis rápidamente progresiva, hemorragia pulmonar, síndrome riñón-pulmón, lesiones compatibles con vasculitis cutánea, presencia de múltiples nódulos pulmonares, enfermedad destructiva de la vía aérea superior, estenosis traqueal subglótica y masa retroorbitaria [121].

El mejor rendimiento diagnóstico se obtiene al combinar las técnicas de la inmunofluorescencia indirecta con la ELISA, ambas específicas para la proteinasa 3 y la mieloperoxidasa [120]. En la **tabla 6** se describen los diferentes valores de la sensibilidad y la especificidad de estas pruebas en las vasculitis asociadas a anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos [158]. Es controversial si los niveles de los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos sirven para monitorizar la actividad de la enfermedad [121,158].

**Tabla 6. Sensibilidad y especificidad de los anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos en las vasculitis asociadas a anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos**

Patrón	Sensibilidad (%)		Especificidad (%)	
	Granulomatosis con poliangéitís	Poliangéitís microscópica	Granulomatosis con poliangéitís	Poliangéitís microscópica
c-ANCA (inmunofluorescencia indirecta)	64	23	95	*
p-ANCA (inmunofluorescencia indirecta)	21	58	*	81
ANCA anti-proteinasa 3 (ELISA)	66	26	87	*
ANCA anti-mieloperoxidasa (ELISA)	24	58	*	91
c-ANCA (inmunofluorescencia indirecta) + ANCA anti-proteinasa 3 (ELISA)	73	26	99	*
p-ANCA (inmunofluorescencia indirecta) + ANCA anti-mieloperoxidasa (ELISA)	24	67	*	99

*Tomado y modificado de [158]*

## Conclusión

Los exámenes de laboratorio son una herramienta útil en el estudio y diagnóstico de las enfermedades autoinmunes reumáticas, los cuales permiten confirmar o descartar la mayoría de ellas, en correlación con la clínica del paciente. Desde las pruebas más básicas del laboratorio general hasta las más avanzadas del laboratorio de inmunología, realizadas en pacientes seleccionados, son fundamentales para la práctica clínica. No se recomienda la realización de las pruebas de detección de autoanticuerpos en pacientes con síntomas inespecíficos musculoesqueléticos, excepto si están acompañados de otras características clínicas que favorezcan la sospecha de una enfermedad autoinmune reumática. Los exámenes negativos solamente se deben repetir si hay indicios fuertes de que la enfermedad está evolucionando o hay un

cambio en los síntomas del paciente que hagan reevaluar el diagnóstico. La presencia de autoanticuerpos positivos en un individuo no necesariamente significa el diagnóstico de una enfermedad autoinmune debido a que estos también pueden encontrarse en personas sanas, especialmente en ancianos, sin que tengan un valor diagnóstico o pronóstico.

## Bibliografía

1. **Keeling DM, Isenberg DA.** Haematological manifestations of systemic lupus erythematosus. *Blood Rev* 1993; 7: 199-207.
2. **Levine AB, Erkan D.** Clinical assessment and management of cytopenias in lupus patients. *Curr Rheumatol Rep* 2011; 13: 291-299.
3. **Tzioufas AG, Kokori SI, Petrovas CI, Moutsopoulos HM.** Autoantibodies to human recombinant erythropoietin in patients with systemic lupus erythematosus: correlation with anemia. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 2212-2216.
4. **Means RT, Jr., Krantz SB.** Progress in understanding the pathogenesis of the anemia of chronic disease. *Blood* 1992; 80: 1639-1647.
5. **Vreugdenhil G, Baltus CA, van Eijk HG, Swaak AJ.** Anaemia of chronic disease: diagnostic significance of erythrocyte and serological parameters in iron deficient rheumatoid arthritis patients. *Br J Rheumatol* 1990; 29: 105-110.
6. **Segal R, Baumoehl Y, Elkayam O, Levartovsky D, Litinsky I, Paran D, et al.** Anemia, serum vitamin B12, and folic acid in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, and systemic lupus erythematosus. *Rheumatol Int* 2004; 24: 14-19.
7. **Giannouli S, Voulgarelis M, Ziakas PD, Tzioufas AG.** Anaemia in systemic lupus erythematosus: from pathophysiology to clinical assessment. *Ann Rheum Dis* 2006; 65: 144-148.
8. **Katsumata K.** A case of systemic sclerosis complicated by autoimmune hemolytic anemia. *Mod Rheumatol* 2006; 16: 191-195.
9. **Amorosi EL, Ultmann JE.** Thrombotic thrombocytopenic purpura: Report of 16 cases and review of the literature. *Medicine* 1966; 45: 139-160.
10. **Cervera R, Piette JC, Font J, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT, et al.** Antiphospholipid syndrome: clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1019-1027.
11. **Bashal F.** Hematological disorders in patients with systemic lupus erythematosus. *Open Rheumatol J* 2013; 7: 87-95.
12. **Nossent JC, Swaak AJ.** Prevalence and significance of haematological abnormalities in patients with systemic lupus erythematosus. *Q J Med* 1991; 80: 605-612.
13. **Yu HH, Wang LC, Lee JH, Lee CC, Yang YH, Chiang BL.** Lymphopenia is associated with neuropsychiatric manifestations and disease activity in paediatric systemic lupus erythematosus patients. *Rheumatology (Oxford)* 2007; 46: 1492-1494.
14. **Stafford HA, Chen AE, Anderson CJ, Paul AG, Wyatt EL, Lee LA, et al.** Anti-ribosomal and 'P-peptide'-specific autoantibodies bind to T lymphocytes. *Clin Exp Immunol* 1997; 109: 12-19.
15. **Baimpa E, Dahabreh IJ, Voulgarelis M, Moutsopoulos HM.** Hematologic manifestations and predictors of lymphoma development in primary Sjogren syndrome: clinical and pathophysiologic aspects. *Medicine (Baltimore)* 2009; 88: 284-293.
16. **Fedor ME, Rubinstein A.** Effects of long-term low-dose corticosteroid therapy on humoral immunity. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2006; 97: 113-116.
17. **Isenberg DA, Patterson KG, Todd-Pokropek A, Snaith ML, Goldstone AH.** Haematological aspects of systemic lupus erythematosus: a reappraisal using automated methods. *Acta Haematol* 1982; 67: 242-248.
18. **Schur PH, Berliner N.** Hematologic manifestations of systemic lupus erythematosus in

- adults. UpToDate. 2014. Disponible: <http://www.uptodate.com/contents/hematologic-manifestations-of-systemic-lupus-erythematosus-in-adults>. Consultado: julio 2014.
19. **Martínez-Baños D, Crispín JC, Lazo-Langner A, Sánchez-Guerrero J.** Moderate and severe neutropenia in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45: 994-998.
  20. **Hartman KR.** Anti-neutrophil antibodies of the immunoglobulin M class in autoimmune neutropenia. *Am J Med Sci* 1994; 308: 102-105.
  21. **Ezzat MH, El-Gammasy TM, Shaheen KY, El-Mezdawi RA, Youssef MS.** Up regulation of serum tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand in juvenile-onset systemic lupus erythematosus: relations with disease activity, antibodies to double-stranded DNA, nephritis and neutropenia. *Int J Rheum Dis* 2013; 16: 310-318.
  22. **Bowman SJ.** Hematological manifestations of rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2002; 31: 251-259.
  23. **Hepburn AL, Narat S, Mason JC.** The management of peripheral blood cytopenias in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 2010; 49: 2243-2254.
  24. **Ziakas PD, Giannouli S, Zintzaras E, Tzioufas AG, Voulgarelis M.** Lupus thrombocytopenia: clinical implications and prognostic significance. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 1366-1369.
  25. **Lipp E, von Felten A, Sax H, Muller D, Berchtold P.** Antibodies against platelet glycoproteins and antiphospholipid antibodies in autoimmune thrombocytopenia. *Eur J Haematol* 1998; 60: 283-288.
  26. **Michel M, Lee K, Piette JC, Fromont P, Schaeffer A, Bierling P, et al.** Platelet auto-antibodies and lupus-associated thrombocytopenia. *Br J Haematol* 2002; 119: 354-358.
  27. **Ziakas PD, Routsias JG, Giannouli S, Tassidou A, Tzioufas AG, Voulgarelis M.** Suspects in the tale of lupus-associated thrombocytopenia. *Clin Exp Immunol* 2006; 145: 71-80.
  28. **Fureder W, Firbas U, Nichol JL, Pistillo J, Winkler S, Hiesberger H, et al.** Serum thrombopoietin levels and anti-thrombopoietin antibodies in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2002; 11: 221-226.
  29. **Michel M, Chanet V, Dechartres A, Morin AS, Piette JC, Cirasino L, et al.** The spectrum of Evans syndrome in adults: new insight into the disease based on the analysis of 68 cases. *Blood* 2009; 114: 3167-3172.
  30. **Delezé M, Oria CV, Alarcón-Segovia D.** Occurrence of both hemolytic-anemia and thrombocytopenic purpura (Evans' syndrome) in systemic lupus erythematosus. Relationship to antiphospholipid antibodies. *J Rheumatol* 1988; 15: 611-615.
  31. **Cameron JS.** Lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 413-424.
  32. **Molino C, Fabbian F, Longhini C.** Clinical approach to lupus nephritis: recent advances. *Eur J Intern Med* 2009; 20: 447-453.
  33. **Goules AV, Tatouli IP, Moutsopoulos HM, Tzioufas AG.** Clinically significant renal involvement in primary Sjogren's syndrome: clinical presentation and outcome. *Arthritis Rheum* 2013; 65: 2945-2953.
  34. **Goules A, Masouridi S, Tzioufas AG, Ioannidis JP, Skopouli FN, Moutsopoulos HM.** Clinically significant and biopsy-documented renal involvement in primary Sjogren syndrome. *Medicine (Baltimore)* 2000; 79: 241-249.
  35. **Volanakis JE.** Acute-Phase Proteins in the Rheumatic Diseases. In: Koopman WJ, Moreland LW, eds. *Arthritis and allied conditions: a textbook of rheumatology* (ed 15a). Philadelphia, Estados Unidos: Lippincott Williams & Wilkins; 2005: 505-516.
  36. **Jou JM, Lewis SM, Briggs C, Lee SH, De La Salle B, McFadden S.** ICSH review of the measurement of the erythrocyte sedimentation rate. *Int J Lab Hematol* 2011; 33: 125-132.
  37. **Miller A, Green M, Robinson D.** Simple rule for calculating normal erythrocyte sedimentation rate. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1983; 286: 266.
  38. **Gabay C, Kushner I.** Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *N Engl J Med* 1999; 340: 448-454.
  39. **Ballou SP, Kushner I.** Laboratory evalua-

- tion of inflammation. In: Harris ED Jr, Budd RC, Firestein GS, Genovese MC, Sargent JS, Sledge CB, eds. *Kelley's Textbook of Rheumatology*. Vol. 1 (ed 7a). Filadelfia, Estados Unidos: Elsevier Saunders; 2005: 720-727.
40. **Molina J, Bedoya A, J. M.** Laboratorio en enfermedades reumáticas. In: Alarcón-Segovia D, Molina J, Molina JF, Catoggio LJ, Cardiel MH, Angulo JM, eds. *Tratado hispanoamericano de Reumatología* (ed 1ra). Bogotá D.C., Colombia: Schering-Plough; 2006: 189-202.
  41. **Bastard JP, Maachi M, Van Nhieu JT, Jardel C, Bruckert E, Grimaldi A, et al.** Adipose tissue IL-6 content correlates with resistance to insulin activation of glucose uptake both in vivo and in vitro. *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 2084-2089.
  42. **Campuzano-Maya G.** Uso y utilidad clínica de la eritrocimentación. *Medicina & Laboratorio* 2000; 9: 311-345.
  43. **Tillett WS, Francis T.** Serological Reactions in Pneumonia with a Non-Protein Somatic Fraction of Pneumococcus. *J Exp Med* 1930; 52: 561-571.
  44. **Volanakis JE.** Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol Immunol* 2001; 38: 189-197.
  45. **Ridker PM, Stampfer MJ, Rifai N.** Novel risk factors for systemic atherosclerosis: a comparison of C-reactive protein, fibrinogen, homocysteine, lipoprotein(a), and standard cholesterol screening as predictors of peripheral arterial disease. *JAMA* 2001; 285: 2481-2485.
  46. **Vigushin DM, Pepys MB, Hawkins PN.** Metabolic and scintigraphic studies of radioiodinated human C-reactive protein in health and disease. *J Clin Invest* 1993; 91: 1351-1357.
  47. **Morley JJ, Kushner I.** Serum C-reactive protein levels in disease. *Ann N Y Acad Sci* 1982; 389: 406-418.
  48. **Pepys MB, Hirschfield GM.** C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest* 2003; 111: 1805-1812.
  49. **Krabben A, Huizinga TW, Mil AH.** Biomarkers for radiographic progression in rheumatoid arthritis. *Curr Pharm Des* 2014; 21: 147-169.
  50. **Moutsopoulos HM, Mavridis AK, Acritidis NC, Avgerinos PC.** High C-reactive protein response in lupus polyarthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1983; 1: 53-55.
  51. **ter Borg EJ, Horst G, Limburg PC, van Rijswijk MH, Kallenberg CG.** C-reactive protein levels during disease exacerbations and infections in systemic lupus erythematosus: a prospective longitudinal study. *J Rheumatol* 1990; 17: 1642-1648.
  52. **Chen M, Daha MR, Kallenberg CG.** The complement system in systemic autoimmune disease. *J Autoimmun* 2010; 34: J276-286.
  53. **Truedsson L, Bengtsson AA, Sturfelt G.** Complement deficiencies and systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity* 2007; 40: 560-566.
  54. **Nadasdy T, Hebert LA.** Infection-related glomerulonephritis: understanding mechanisms. *Semin Nephrol* 2011; 31: 369-375.
  55. **Damoiseaux J.** The diagnosis and classification of the cryoglobulinemic syndrome. *Autoimmun Rev* 2014; 13: 359-362.
  56. **Jara LJ, Navarro C, Medina G, Vera-Lastra O, Saavedra MA.** Hypocomplementemic urticarial vasculitis syndrome. *Curr Rheumatol Rep* 2009; 11: 410-415.
  57. **Neugarten J, Baldwin DS.** Glomerulonephritis in bacterial endocarditis. *Am J Med* 1984; 77: 297-304.
  58. **Jaskowski TD, Martins TB, Litwin CM, Hill HR.** Comparison of three different methods for measuring classical pathway complement activity. *Clin Diagn Lab Immunol* 1999; 6: 137-139.
  59. **Renaudineau Y, Jamin C, Saraux A, Youinou P.** Rheumatoid factor on a daily basis. *Autoimmunity* 2005; 38: 11-16.
  60. **Pai S, Pai L, Birkenfeldt R.** Correlation of serum IgA rheumatoid factor levels with disease severity in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 1998; 27: 252-256.
  61. **Kallemuchikkal U, Gorevic PD.** Evaluation of cryoglobulins. *Arch Pathol Lab Med* 1999; 123: 119-125.
  62. **Waalder E.** On the occurrence of a factor in human serum activating the specific agglutination of sheep blood corpuscles. 1939. *APMIS* 2007; 115: 422-438; discussion 439.

63. **Rose HM, Ragan C, et al.** Differential agglutination of normal and sensitized sheep erythrocytes by sera of patients with rheumatoid arthritis. *Proc Soc Exp Biol Med* 1948; 68: 1-6.
64. **Nikolaisen C, Rekvig OP, Nossent HC.** Rheumatoid factor by laser nephelometry and Waaler-Rose assay: prognostic value in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2005; 34: 269-276.
65. **Wolfe F, Cathey MA, Roberts FK.** The latex test revisited. Rheumatoid factor testing in 8,287 rheumatic disease patients. *Arthritis Rheum* 1991; 34: 951-960.
66. **Shmerling RH.** Diagnostic tests for rheumatic disease: clinical utility revisited. *South Med J* 2005; 98: 704-711; quiz 712-703, 728.
67. **Nienhuis RL, Mandema E.** A New Serum Factor in Patients with Rheumatoid Arthritis; the Antiperinuclear Factor. *Ann Rheum Dis* 1964; 23: 302-305.
68. **Hoet RM, Boerbooms AM, Arends M, Ruiters DJ, van Venrooij WJ.** Antiperinuclear factor, a marker autoantibody for rheumatoid arthritis: colocalisation of the perinuclear factor and profilaggrin. *Ann Rheum Dis* 1991; 50: 611-618.
69. **Young BJ, Mallya RK, Leslie RD, Clark CJ, Hamblin TJ.** Anti-keratin antibodies in rheumatoid arthritis. *Br Med J* 1979; 2: 97-99.
70. **Hoet RM, van Venrooij WJ.** The Antiperinuclear Factor (APF) and Antikeratin Antibodies (AKA) in Rheumatoid Arthritis. In: Smolen S, Kalden JR, Maini RN, eds. *Rheumatoid arthritis: recent research advances*. Berlin, Alemania: Springer Berlin Heidelberg; 1992: 299-318.
71. **Sebbag M, Simon M, Vincent C, Masson-Bessiere C, Girbal E, Durieux JJ, et al.** The antiperinuclear factor and the so-called antikeratin antibodies are the same rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1995; 95: 2672-2679.
72. **Schellekens GA, de Jong BA, van den Hoogen FH, van de Putte LB, van Venrooij WJ.** Citrulline is an essential constituent of antigenic determinants recognized by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies. *J Clin Invest* 1998; 101: 273-281.
73. **Girbal-Neuhausser E, Durieux JJ, Arnaud M, Dalbon P, Sebbag M, Vincent C, et al.** The epitopes targeted by the rheumatoid arthritis-associated antifilaggrin autoantibodies are posttranslationally generated on various sites of (pro)filaggrin by deimination of arginine residues. *J Immunol* 1999; 162: 585-594.
74. **Vincent C, Simon M, Sebbag M, Girbal-Neuhausser E, Durieux JJ, Cantagrel A, et al.** Immunoblotting detection of autoantibodies to human epidermis filaggrin: a new diagnostic test for rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1998; 25: 838-846.
75. **Palosuo T, Lukka M, Alenius H, Kalkkinen N, Aho K, Kurki P, et al.** Purification of filaggrin from human epidermis and measurement of antifilaggrin autoantibodies in sera from patients with rheumatoid arthritis by an enzyme-linked immunosorbent assay. *Int Arch Allergy Immunol* 1998; 115: 294-302.
76. **Paimela L, Palosuo T, Aho K, Lukka M, Kurki P, Leirisalo-Repo M, et al.** Association of autoantibodies to filaggrin with an active disease in early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 32-35.
77. **Nogueira L, Sebbag M, Vincent C, Arnaud M, Fournie B, Cantagrel A, et al.** Performance of two ELISAs for antifilaggrin autoantibodies, using either affinity purified or deiminated recombinant human filaggrin, in the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 882-887.
78. **Vincent C, Nogueira L, Sebbag M, Chapuy-Regaud S, Arnaud M, Letourneur O, et al.** Detection of antibodies to deiminated recombinant rat filaggrin by enzyme-linked immunosorbent assay: a highly effective test for the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 2051-2058.
79. **Dubucquoi S, Solau-Gervais E, Lefranc D, Marguerie L, Sibilia J, Goetz J, et al.** Evaluation of anti-citrullinated filaggrin antibodies as hallmarks for the diagnosis of rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 415-419.
80. **Lee DM, Schur PH.** Clinical utility of the anti-CCP assay in patients with rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 870-874.
81. **Schellekens GA, Visser H, de Jong BA, van den Hoogen FH, Hazes JM, Breedveld FC, et**



- al. The diagnostic properties of rheumatoid arthritis antibodies recognizing a cyclic citrullinated peptide. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 155-163.
82. **Gonzalez C, Garcia-Berrocal B, Talavan T, Casas ML, Navajo JA, Gonzalez-Buitrago JM.** Clinical evaluation of a microsphere bead-based flow cytometry assay for the simultaneous determination of anti-thyroid peroxidase and anti-thyroglobulin antibodies. *Clin Biochem* 2005; 38: 966-972.
83. **van Venrooij WJ, Hazes JM, Visser H.** Anticitrullinated protein/peptide antibody and its role in the diagnosis and prognosis of early rheumatoid arthritis. *Neth J Med* 2002; 60: 383-388.
84. **Kitahara K, Takagi K, Kusunoki Y, Nishio S, Nozaki T, Inomata H, et al.** Clinical value of second- and third-generation assays of anti-cyclic citrullinated peptide antibodies in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2008; 67: 1059-1060.
85. **Coenen D, Verschueren P, Westhovens R, Bossuyt X.** Technical and diagnostic performance of 6 assays for the measurement of citrullinated protein/peptide antibodies in the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Clin Chem* 2007; 53: 498-504.
86. **Quinn MA, Gough AK, Green MJ, Devlin J, Hensor EM, Greenstein A, et al.** Anti-CCP antibodies measured at disease onset help identify seronegative rheumatoid arthritis and predict radiological and functional outcome. *Rheumatology (Oxford)* 2006; 45: 478-480.
87. **Bang H, Egerer K, Gaultier A, Luthke K, Rudolph PE, Fredenhagen G, et al.** Mutation and citrullination modifies vimentin to a novel autoantigen for rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2007; 56: 2503-2511.
88. **Soos L, Szekanecz Z, Szabo Z, Fekete A, Zeher M, Horvath IF, et al.** Clinical evaluation of anti-mutated citrullinated vimentin by ELISA in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 2007; 34: 1658-1663.
89. **Lutteri L, Malaise M, Chapelle JP.** Comparison of second- and third-generation anti-cyclic citrullinated peptide antibodies assays for detecting rheumatoid arthritis. *Clin Chim Acta* 2007; 386: 76-81.
90. **van Jaarsveld CH, ter Borg EJ, Jacobs JW, Schellekens GA, Gmelig-Meyling FH, van Booma-Frankfort C, et al.** The prognostic value of the antiperinuclear factor, anti-citrullinated peptide antibodies and rheumatoid factor in early rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1999; 17: 689-697.
91. **Kroot EJ, de Jong BA, van Leeuwen MA, Swinkels H, van den Hoogen FH, van't Hof M, et al.** The prognostic value of anti-cyclic citrullinated peptide antibody in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1831-1835.
92. **Visser H, le Cessie S, Vos K, Breedveld FC, Hazes JM.** How to diagnose rheumatoid arthritis early: a prediction model for persistent (erosive) arthritis. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 357-365.
93. **Aggarwal R, Liao K, Nair R, Ringold S, Costenbader KH.** Anti-citrullinated peptide antibody assays and their role in the diagnosis of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2009; 61: 1472-1483.
94. **Hargraves M, Richmond H, Morton R.** Presentation of two bone marrow components, the tart cell and the LE cell. *Mayo Clin Proc* 1948; 27: 25-28.
95. **Kavanaugh AF, Solomon DH.** Guidelines for immunologic laboratory testing in the rheumatic diseases: anti-DNA antibody tests. *Arthritis Rheum* 2002; 47: 546-555.
96. **Pisetsky DS.** The Immunopathogenesis and Immunopathology of Systemic Lupus Erythematosus. In: Schur PH, Massarotti EM, eds. *Lupus Erythematosus: Clinical Evaluation and Treatment*. Nueva York, Estados Unidos: Springer Science+Business Media 2012: 13-26.
97. **Yazici Y.** Role of laboratory tests in rheumatic disorders. In: Hochberg MC, Silman AJ, Smolen JS, Weinblatt ME, Weisman MH, eds. *Rheumatology (ed 5a)*. Filadelfia, Estados Unidos: Mosby Elsevier; 2011: 259-265.
98. **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.
99. **Friou CJ.** Clinical application of lupus serum nucleoprotein reaction using fluorescent anti-



- body technique. *J Clin Invest* 1957; 36: 890-897.
100. **Cook L.** New methods for detection of anti-nuclear antibodies. *Clin Immunol Immunopathol* 1998; 88: 211-220.
  101. **Kumar Y, Bhatia A, Minz RW.** Antinuclear antibodies and their detection methods in diagnosis of connective tissue diseases: a journey revisited. *Diagn Pathol* 2009; 4: 1.
  102. **Keech CL, McCluskey J, Gordon TP.** Transfection and overexpression of the human 60-kDa Ro/SS-A autoantigen in HEp-2 cells. *Clin Immunol Immunopathol* 1994; 73: 146-151.
  103. **Tan EM, Feltkamp TE, Smolen JS, Butcher B, Dawkins R, Fritzler MJ, et al.** Range of antinuclear antibodies in "healthy" individuals. *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1601-1611.
  104. **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.
  105. **Sheldon J.** Laboratory testing in autoimmune rheumatic diseases. *Best Pract Res Clin Rheumatol* 2004; 18: 249-269.
  106. **Molina JF.** El laboratorio en las enfermedades reumáticas autoinmunes. *Medicina & Laboratorio* 2007; 13: 11-33.
  107. **Hiemann R, Buttner T, Krieger T, Roggenbuck D, Sack U, Conrad K.** Challenges of automated screening and differentiation of non-organ specific autoantibodies on HEp-2 cells. *Autoimmun Rev* 2009; 9: 17-22.
  108. **Jaskowski TD, Schroder C, Martins TB, Mouritsen CL, Litwin CM, Hill HR.** Screening for antinuclear antibodies by enzyme immunoassay. *Am J Clin Pathol* 1996; 105: 468-473.
  109. **Swaak T, Smeenk R.** Detection of anti-dsDNA as a diagnostic tool: a prospective study in 441 non-systemic lupus erythematosus patients with anti-dsDNA antibody (anti-dsDNA). *Ann Rheum Dis* 1985; 44: 245-251.
  110. **Aarden LA, de Groot ER, Feltkamp TE.** Immunology of DNA. III. *Crithidia luciliae*, a simple substrate for the determination of anti-dsDNA with the immunofluorescence technique. *Ann N Y Acad Sci* 1975; 254: 505-515.
  111. **Slater NG, Cameron JS, Lessof MH.** The *Crithidia luciliae* kinetoplast immunofluorescence test in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol* 1976; 25: 480-486.
  112. **Orton SM, Peace-Brewer A, Schmitz JL, Freeman K, Miller WC, Folds JD.** Practical evaluation of methods for detection and specificity of autoantibodies to extractable nuclear antigens. *Clin Diagn Lab Immunol* 2004; 11: 297-301.
  113. **Migliorini P, Baldini C, Rocchi V, Bombardieri S.** Anti-Sm and anti-RNP antibodies. *Autoimmunity* 2005; 38: 47-54.
  114. **Schulte-Pelkum J, Fritzler M, Mahler M.** Latest update on the Ro/SS-A autoantibody system. *Autoimmun Rev* 2009; 8: 632-637.
  115. **Catoggio LJ, Bernstein RM, Black CM, Hughes GR, Maddison PJ.** Serological markers in progressive systemic sclerosis: clinical correlations. *Ann Rheum Dis* 1983; 42: 23-27.
  116. **Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J.** Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. *Rheumatology (Oxford)* 2004; 43: 220-224.
  117. **Horak P, Hermanova Z, Zadrazil J, Ciferska H, Ordeltova M, Kusa L, et al.** C1q complement component and -antibodies reflect SLE activity and kidney involvement. *Clin Rheumatol* 2006; 25: 532-536.
  118. **Targoff IN.** Idiopathic inflammatory myopathy: autoantibody update. *Curr Rheumatol Rep* 2002; 4: 434-441.
  119. **Cohen Tervaert JW, Damoiseaux J.** Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies: how are they detected and what is their use for diagnosis, classification and follow-up? *Clin Rev Allergy Immunol* 2012; 43: 211-219.
  120. **Savige J, Gillis D, Benson E, Davies D, Esnault V, Falk RJ, et al.** International Consensus Statement on Testing and Reporting of Antineutrophil Cytoplasmic Antibodies (ANCA). *Am J Clin Pathol* 1999; 111: 507-513.
  121. **Radice A, Sinico RA.** Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). *Autoimmunity* 2005; 38: 93-103.

122. **Goldschmeding R, van der Schoot CE, ten Bokkel Huinink D, Hack CE, van den Ende ME, Kallenberg CG, et al.** Wegener's granulomatosis autoantibodies identify a novel diisopropylfluorophosphate-binding protein in the lysosomes of normal human neutrophils. *J Clin Invest* 1989; 84: 1577-1587.
123. **Zhao MH, Jones SJ, Lockwood CM.** Bactericidal/permeability-increasing protein (BPI) is an important antigen for anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) in vasculitis. *Clin Exp Immunol* 1995; 99: 49-56.
124. **Segelmark M, Baslund B, Wieslander J.** Some patients with anti-myeloperoxidase autoantibodies have a C-ANCA pattern. *Clin Exp Immunol* 1994; 96: 458-465.
125. **Falk RJ, Jennette JC.** Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. *N Engl J Med* 1988; 318: 1651-1657.
126. **Halbwachs-Mecarelli L, Nusbaum P, Noel LH, Reumaux D, Erlinger S, Grunfeld JP, et al.** Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) directed against cathepsin G in ulcerative colitis, Crohn's disease and primary sclerosing cholangitis. *Clin Exp Immunol* 1992; 90: 79-84.
127. **Coremans IE, Hagen EC, Daha MR, van der Woude FJ, van der Voort EA, Kleijburg-van der Keur C, et al.** Antilactoferrin antibodies in patients with rheumatoid arthritis are associated with vasculitis. *Arthritis Rheum* 1992; 35: 1466-1475.
128. **Schmitt WH, Csernok E, Flesch BK, Hauschild S, Gross WL.** Autoantibodies directed against lysozyme: a new target antigen for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA). *Adv Exp Med Biol* 1993; 336: 267-272.
129. **Zhao MH, Lockwood CM.** Azurocidin is a novel antigen for anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies (ANCA) in systemic vasculitis. *Clin Exp Immunol* 1996; 103: 397-402.
130. **Van der Woude FJ, Rasmussen N, Lobatto S, Wiik A, Permin H, Van Es LA, et al.** Autoantibodies to neutrophils and monocytes: A new tool for diagnosis and a marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet* 1985; 2: 425-429.
131. **Hagen EC, Daha MR, Hermans J, Andrassy K, Csernok E, Gaskin G, et al.** Diagnostic value of standardized assays for anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in idiopathic systemic vasculitis. EC/BCR Project for ANCA Assay Standardization. *Kidney Int* 1998; 53: 743-753.
132. **Sinico RA, Di Toma L, Maggiore U, Bottero P, Radice A, Tosoni C, et al.** Prevalence and clinical significance of antineutrophil cytoplasmic antibodies in Churg-Strauss syndrome. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 2926-2935.
133. **Pradhan VD, Badakere SS, Ghosh K, Almeida A.** ANCA: serology in Wegener's granulomatosis. *Indian J Med Sci* 2005; 59: 292-300.
134. **Lurati-Ruiz F, Spertini F.** Predictive value of antineutrophil cytoplasmic antibodies in small-vessel vasculitis. *J Rheumatol* 2005; 32: 2167-2172.
135. **Finkelstein JD, Lee AS, Hummel AM, Viss MA, Jacob GL, Homburger HA, et al.** ANCA are detectable in nearly all patients with active severe Wegener's granulomatosis. *Am J Med* 2007; 120: 643 e649-614.
136. **Cisternas M, Soto L, Jacobelli S, Marinovic MA, Vargas A, Sobarzo E, et al.** Manifestaciones clínicas de la granulomatosis de Wegener y la poliangeítis microscópica en Santiago-Chile, 1990-2001. *Rev Med Chile* 2005; 133 (3): 273-278.
137. **Seibold F, Weber P, Klein R, Berg PA, Wiedmann KH.** Clinical significance of antibodies against neutrophils in patients with inflammatory bowel disease and primary sclerosing cholangitis. *Gut* 1992; 33: 657-662.
138. **Saxon A, Shanahan F, Landers C, Ganz T, Targan S.** A distinct subset of antineutrophil cytoplasmic antibodies is associated with inflammatory bowel disease. *J Allergy Clin Immunol* 1990; 86: 202-210.
139. **Vidrich A, Lee J, James E, Cobb L, Targan S.** Segregation of pANCA antigenic recognition by DNase treatment of neutrophils: ulcerative colitis, type 1 autoimmune hepatitis, and primary sclerosing cholangitis. *J Clin Immunol* 1995; 15: 293-299.
140. **Gunton JE, Stiel J, Clifton-Bligh P, Wilmshurst E, McElduff A.** Prevalence of positive anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA) in patients receiving anti-thyroid medication. *Eur J Endocrinol* 2000; 142: 587.

141. Afeltra A, Paggi A, De Rosa FG, Manfredini P, Addressi MA, Amoroso A. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in autoimmune thyroid disorders. *Endocr Res* 1998; 24: 185-194.
142. Cil T, Altintas A, Isikdogan A, Batun S. Prevalence of antineutrophil cytoplasmic antibody positivity in patients with Hodgkin's and non-Hodgkin lymphoma: a single center experience. *Int J Hematol* 2009; 90: 52-57.
143. Hamidou MA, Derenne S, Audrain MA, Berthelot JM, Boumalassa A, Grolleau JY. Prevalence of rheumatic manifestations and antineutrophil cytoplasmic antibodies in haematological malignancies. A prospective study. *Rheumatology (Oxford)* 2000; 39: 417-420.
144. Galeazzi M, Morozzi G, Sebastiani GD, Bellisai F, Marcolongo R, Cervera R, et al. Anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in 566 European patients with systemic lupus erythematosus: prevalence, clinical associations and correlation with other autoantibodies. European Concerted Action on the Immunogenetics of SLE. *Clin Exp Rheumatol* 1998; 16: 541-546.
145. Brimnes J, Halberg P, Jacobsen S, Wiik A, Heegaard NH. Specificities of anti-neutrophil autoantibodies in patients with rheumatoid arthritis (RA). *Clin Exp Immunol* 1997; 110: 250-256.
146. Coremans IE, Hagen EC, van der Voort EA, van der Woude FJ, Daha MR, Breedveld FC. Autoantibodies to neutrophil cytoplasmic enzymes in Felty's syndrome. *Clin Exp Rheumatol* 1993; 11: 255-262.
147. Juby A, Johnston C, Davis P, Russell AS. Antinuclear and antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in the sera of patients with Felty's syndrome. *Br J Rheumatol* 1992; 31: 185-188.
148. Savige JA, Gallicchio MC, Stockman A, Cunningham TJ, Rowley MJ, Georgiou T, et al. Anti-neutrophil cytoplasm antibodies in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Immunol* 1991; 86: 92-98.
149. Nassberger L, Sjöholm AG, Jonsson H, Sturfelt G, Akesson A. Autoantibodies against neutrophil cytoplasm components in systemic lupus erythematosus and in hydralazine-induced lupus. *Clin Exp Immunol* 1990; 81: 380-383.
150. Wiik A. Granulocyte-specific antinuclear antibodies. Possible significance for the pathogenesis, clinical features and diagnosis of rheumatoid arthritis. *Allergy* 1980; 35: 263-289.
151. Subra JF, Michelet C, Laporte J, Carrere F, Reboul P, Cartier F, et al. The presence of cytoplasmic antineutrophil cytoplasmic antibodies (C-ANCA) in the course of subacute bacterial endocarditis with glomerular involvement, coincidence or association? *Clin Nephrol* 1998; 49: 15-18.
152. Zhao MH, Jayne DR, Ardiles LG, Culley F, Hodson ME, Lockwood CM. Autoantibodies against bactericidal/permeability-increasing protein in patients with cystic fibrosis. *QJM* 1996; 89: 259-265.
153. Gallicchio MC, Savige JA. Detection of anti-myeloperoxidase and anti-elastase antibodies in vasculitides and infections. *Clin Exp Immunol* 1991; 84: 232-237.
154. Carter MR, Amirhaeri S. p-ANCA-Associated Vasculitis Caused by Levamisole-Adulterated Cocaine: A Case Report. *Case Rep Emerg Med* 2013; 2013: 878903.
155. Arora NP, Jain T, Bhanot R, Natesan SK. Levamisole-induced leukocytoclastic vasculitis and neutropenia in a patient with cocaine use: an extensive case with necrosis of skin, soft tissue, and cartilage. *Addict Sci Clin Pract* 2012; 7: 19.
156. Graf J, Lynch K, Yeh CL, Tarter L, Richman N, Nguyen T, et al. Purpura, cutaneous necrosis, and antineutrophil cytoplasmic antibodies associated with levamisole-adulterated cocaine. *Arthritis Rheum* 2011; 63: 3998-4001.
157. Neynaber S, Mistry-Burchardi N, Rust C, Samtleben W, Burgdorf WH, Seitz MA, et al. PR3-ANCA-positive necrotizing multi-organ vasculitis following cocaine abuse. *Acta Derm Venereol* 2008; 88: 594-596.
158. Beauvillain C, Delneste Y, Renier G, Jeanin P, Subra JF, Chevaillier A. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies: how should the biologist manage them? *Clin Rev Allergy Immunol* 2008; 35: 47-58.