

## Contribución de los autoanticuerpos al diagnóstico de hepatitis autoinmune y miopatías inflamatorias

Kokuina E<sup>1</sup>, Arguelles-Zayas A<sup>1</sup>, Acero-Lanchimba AM<sup>1</sup>, Mora-Diaz I<sup>1</sup>, Velbes-Marquetti PE<sup>1</sup>, Mas Martínez M<sup>1</sup>, Oliva-Rey JC<sup>1</sup>, Perez-Lorenzo M<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Hospital Clínico Quirúrgico "Hermanos Ameijeiras"; <sup>2</sup> Hospital Naval Dr Luis Diaz Soto, La Habana, Cuba.

Email: inmunologia@hha.sld.cu

### RESUMEN

Los autoanticuerpos han descubierto las múltiples caras clínicas de numerosas enfermedades autoinmunes entre las cuales se encuentran la hepatitis autoinmune (HAI) y las miopatías inflamatorias idiopáticas (MII). Objetivo. Clasificar serológicamente la HAI y las MII. Se determinaron los autoanticuerpos estándar de la HAI: anti-músculo liso (ASMA), anti-nucleares (ANA) y anti-LKM1(ALKM1); y los no estándar como anti-SLA/LP, anti-LC1, anti-Sp 100, anti-F actina, anti-actinina, anti-tropomiosina y anti-gp 210 en 154 pacientes con criterios clínicos de HAI. Se determinaron los autoanticuerpos específicos de miositis: anti-Jo1, anti-PL7, anti-PL12 (anti-aminoacil-tRNA sintetasas), anti-Mi-2 y anti-SRP; y los asociados a miositis (anti-Ro 52, anti-PM/Scl, anti-Ku, y anti-U1RNP) en 50 pacientes con diagnóstico de MII. Los métodos utilizados fueron la inmunofluorescencia (IFI) y el inmunoblot lineal (LIA). El 83,1 % de los pacientes resultaron positivos de los autoanticuerpos de HAI y el 79,9 % fueron positivos para ASMA, ANA y ALKM1. El 77,9 % de los pacientes fueron clasificados como HAI tipo 1 (ASMA o ANA o SLA/LP positivo) y el 5,2 % clasificaron como HAI tipo 2 (ALKM1 o anti-LC1). La superposición de los anticuerpos de la HAI tipo 1 y de la HAI tipo 2 ocurrió en el 0,7 %. Los anticuerpos específicos y asociados a miositis se expresaron en el 68 % de los pacientes. La presencia de los anticuerpos específicos de miositis se asoció a neumopatía intersticial (p=0.005), la mano de "mecánico"(p=0.001) y el fenómeno de Raynaud (p=0.035), así

como a niveles más elevados de las enzimas CPK ( $p=0.097$ ) y LDH ( $p=0.0001$ ). Los anticuerpos ASMA, ANA, ALKM1, anti-SLA/LP y anti-LC1 proporcionaron el diagnóstico inmunológico en los pacientes con criterios clínicos de HAI. Los autoanticuerpos específicos de miositis identificaron un subgrupo de pacientes con manifestaciones clínicas asociadas a peor pronóstico.

**Palabras clave:** autoanticuerpos, hepatitis autoinmune, miopatía inflamatoria, miositis, diagnóstico inmunológico, enfermedad autoinmune.

## INTRODUCCIÓN

Una gran variedad de autoanticuerpos se han descrito recientemente en pacientes con enfermedades autoinmunes como la hepatitis autoinmune (HAI) y las miopatías inflamatorias idiopáticas (MII). Entre las numerosas especificidades de autoanticuerpos que caracterizan la HAI los autoanticuerpos anti-músculo liso (ASMA), anti-nucleares (ANA) y anti-LKM1 (ALKM1) integran los criterios diagnósticos de la HAI por lo se consideran los autoanticuerpos estándar en la evaluación de laboratorio de la HAI.<sup>1</sup> Por otra parte, la presencia de los anticuerpos anti-aminoacil-tRNA sintetasas y otros autoanticuerpos se considera una característica clave para la clasificación y diagnóstico de las MII,<sup>2</sup> y su utilidad se ha explotado para definir subgrupos clínicamente distintos de las MII.<sup>3</sup> Queda por determinar la contribución de las distintas especificidades de autoanticuerpos al diagnóstico y clasificación de estas enfermedades autoinmunes en nuestra población.

## OBJETIVOS

*General:* Determinar el valor clínico de los autoanticuerpos en la HAI y las MII.

*Específicos:*

1. Determinar la distribución de los anticuerpos estándar de HAI: ASMA, ANA y ALKM1 y los no estándar como anti-SLA/LP, anti-LC1, anti-Sp 100, anti-F actina, anti-actinina, anti-tropomiosina y anti-gp 210 en pacientes con criterios clínicos y de laboratorio de HAI.

2. Evaluar la frecuencia de los autoanticuerpos específicos: anti-Jo1, anti-PL7, y anti-PL12 (anti-aminoacil-tRNA sintetasas), anti-Mi-2 y anti-SRP y asociados a miositis: anti-Ro 52, anti-PM/Scl, anti-Ku, y anti-U1RNP y la relación entre la presencia de los anticuerpos específicos con manifestaciones clínicas en pacientes con MII.

## MATERIALES Y MÉTODOS

En 154 pacientes adultos con criterios clínicos y de laboratorio de HAI remitidos a nuestro laboratorio desde 2014 hasta 2016 se determinaron según indicación médica los autoanticuerpos estándar y no estándar de la hepatitis autoinmune. Los autoanticuerpos estándar ASMA, ANA y ALKM1 se determinaron por inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre cortes de tejidos de rata. Un título de  $\geq 1:40$  fue considerado como positivo. Los autoanticuerpos no estándar como anti-SLA/LP, anti-LC1, anti-Sp 100, anti-F actina, anti-actinina, anti-tropomiosina y anti-gp 210 se detectaron con inmunoblot lineal (LIA, Liver 9 Line, ORGENTEC, Alemania). Los ensayos estaban dirigidos a la detección de los anticuerpos del isotipo IgG humana. En 50 pacientes adultos con diagnóstico establecido de MII del servicio de reumatología del HCQHA se determinaron según indicación médica desde 2016 hasta 2017 los autoanticuerpos específicos de miositis: anti-Jo1, anti-PL7, y anti-PL12 (anti-aminoacil-tRNA sintetasas), anti-Mi-2 y anti-SRP; y los asociados a miositis: anti-Ro 52, anti-PM/Scl, anti-Ku, y anti-U1RNP por LIA (Myositis plus, ORGENTEC; LIA-ANA Maxx, HUMAN, Alemania). Los ensayos estaban dirigidos a la detección de los anticuerpos del isotipo IgG humana.

Se consideró la presencia de manifestaciones clínicas como la neumonía intersticial, lesiones cutáneas de las manos (mano del "mecánico"), la artritis y el fenómeno de Raynaud.

Las variables categóricas fueron expresadas como frecuencias con porcentajes y las continuas como medianas y amplitud intercuartil por su distribución asimétrica. Las comparaciones entre los grupos con y sin anticuerpos específicos de miositis de las variables categóricas se realizaron con la prueba de chi cuadrado de Pearson y las de las variables continuas con la prueba U de Mann Whitney.

La significación estadística fue definida como  $P < 0.05$  calculado bilateralmente (*2-tailed*). El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SPSS v 20.0.



## RESULTADOS

Se evaluaron 154 pacientes con criterios de HAI con la relación mujeres:hombres (n) de 124:30 y la edad promedio de 44,1 años (rango: 16 – 65 años). El 83,1 % de los pacientes resultaron positivos en el análisis de los autoanticuerpos de HAI. –La seropositividad simultánea de ASMA/ANA ocurrió en el 22,1 %. El 3,3 % (5/154) de los pacientes presentaron los anticuerpos no estandar como marcador único de HAI: 3 positivos de anti-SLA/LP y 2 positivos de anti-LC1. El 77,9 % de los pacientes presentaron anticuerpos de HAI tipo 1 (ASMA/ANA y SLA/LP positivo) y el 5,2 % de HAI tipo 2 (ALKM1/anti-LC1). La expresión simultánea de los anticuerpos de la HAI tipo 1 y de la HAI tipo 2 ocurrió en el 0,7 %. (Tabla).

**Tabla.** Perfiles de autoanticuerpos en 154 pacientes con hepatitis autoinmune (HAI) y 50 pacientes con miopatía inflamatoria idiopática (MII).

Autoanticuerpos	HAI (%) n=154	MII (%) n=50
<i>Autoanticuerpos estándar HAI</i>	79,9	
ASMA	55,8	
ANA	44,2	
ALKM1	2,6	
<i>Autoanticuerpos no estándar HAI</i>	11,7	
Anti-SLA/LP	2,6	
anti-LC1	2,6	
Anti-F actina, anti-actinina, anti-tropomiosina	1,3	
Anti-Sp 100	2,6	
Anti-gp 210	3,3	
<i>Autoanticuerpos específicos de miositis</i>		52,0

Anti-Jo1		28,0
Anti-PL7		0
Anti-PL12		0
Anti-Mi-2		16,0
Anti-SRP		8,0
<i>Autoanticuerpos asociados a miositis</i>		42,0
Anti-Ro 52		24,0
Anti-Ku		10,0
Anti-PM/Scl		8,0
Anti-U1RNP		4,0

Por otra parte se analizaron 50 pacientes con diagnóstico de MII con la relación mujeres:hombres (n) de 39:11 y la edad promedio de 52,5 años (rango: 28 – 74 años). El 68 % de los pacientes resultaron positivos de autoanticuerpos específicos y asociados a la miositis. Los anticuerpos específicos de miositis se presentaron en el 52,0 % y los asociados en el 42,0 % de los pacientes. La seropositividad simultánea de ambos tipos de anticuerpos ocurrió en el 26 %. La neumonía intersticial, la mano del “mecánico” y el fenómeno de Raynaud se presentaron con una frecuencia significativamente mayor en los pacientes con los anticuerpos específicos de miositis respecto a los pacientes sin anticuerpos específicos de miositis (42 % / 4 %,  $p=0,005$ ; 62 % / 13 %,  $p=0,001$ ; y 54 % / 21 %,  $p=0,035$ ; respectivamente). Los niveles séricos de creatin kinasa (CK) y lactato deshidrogenasa (LDH) fueron superiores en los pacientes con los anticuerpos específicos de miositis (4054/2644 UI/L,  $p=0,097$ ; 406/188 UI/L  $p<0,0001$  respectivamente).

## CONCLUSIONES

Los anticuerpos estándar de HAI (ASMA, ANA y ALKM1) predominaron en el perfil serológico de los pacientes con criterios clínicos de HAI. Aunque la determinación de ASMA, ANA y ALKM1 proporcionó el criterio inmunológico diagnóstico en la mayoría de los pacientes, la contribución de los anticuerpos anti-LC 1 y anti-SLA/PL, asociados a la HAI<sup>4</sup> resultó notable al diagnóstico de la HAI.

Los perfiles de anticuerpos de HAI tipo 1(ASMA/ ANA y SLA/LP positivo) y el de HAI tipo 2 (ALKM1/ anti-LC1) resultaron mutuamente exclusivos, lo que sustenta la clasificación serológica de la HAI tipo 1 y HAI tipo 2. Sin embargo, los dos tipos de HAI aún no han sido formalmente reconocidos como entidades clínicas y patológicas individuales.<sup>5</sup>

Los anticuerpos más frecuentes en los pacientes con miositis fueron los específicos, y entre éstos predominaron el anti-Jo 1 y el anti-Mi-2. La presencia de los anticuerpos específicos de miositis se asoció a la neumonía intersticial, la mano del “mecánico”, el fenómeno de Raynaud y niveles superiores de LDH.

### RECOMENDACIONES

- ✓ Cuando se sospecha la HAI aplicar la IFI como cribado o estudio inicial de los anticuerpos ASMA, ANA y ALKM1 y completar el estudio con técnicas inmunoenzimáticas para la detección de las especificidades secundarias como anti-LC 1 y anti-SLA/PL.
- ✓ Por la baja frecuencia de anticuerpos anti-F actina y anti-actinina demostrada, recomendamos el empleo de métodos cuantitativos para su detección.
- ✓ Realizar estudios longitudinales para definir el valor pronóstico y de seguimiento clínico de los autoanticuerpos asociados a HAI.
- ✓ Realizar estudios longitudinales para definir el valor pronóstico y de seguimiento clínico de los anticuerpos específicos de miositis.

### BIBLIOGRAFÍA

1. Czaja AJ. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis: current status and future directions. *Gut Liver* 2016; 10: 177-203
2. Mahler M, Miller FW, Fritzler MJ. Idiopathic inflammatory myopathies and the anti-synthetase syndrome: a comprehensive review. *Autoimmun Rev.* 2014; 13: 367–71.
3. Cruellas MG, Viana VS, Levy-Neto M, de Souza FH, Shinjo SK. Myositis-specific and myositis associated autoantibody profiles and their clinical associations in a large series of patients with polymyositis and dermatomyositis. *Clinics (Sao Paulo)*. 2013; 68:909–14.

4. Muratori L, Deleonardi G, Lalanne C, Barbato E, Tovoli A, Libra A, et al. Autoantibodies in autoimmune hepatitis. *Dig Dis* 2015; 33(suppl 2): 65–9
5. Muratori P, Lalanne C, Fabbri A, Cassani F, Lenzi M, Muratori L. Type 1 and type 2 autoimmune hepatitis in adults share the same clinical phenotype. *Aliment Pharmacol Ther* 2015; 41:1281-7.

