

# USO DE ANTICUERPOS COMO BIOMARCADORES EN EL DIAGNÓSTICO DE LA ENFERMEDAD INFLAMATORIA INTESTINAL

## USE OF ANTIBODIES AS BIOMARKERS IN THE DIAGNOSIS OF INTESTINAL INFLAMMATORY DISEASE

### Autores

Ana Sopena Murillo  
Adrián Fontán Abad  
Mercedes Sánchez González

### Filiación

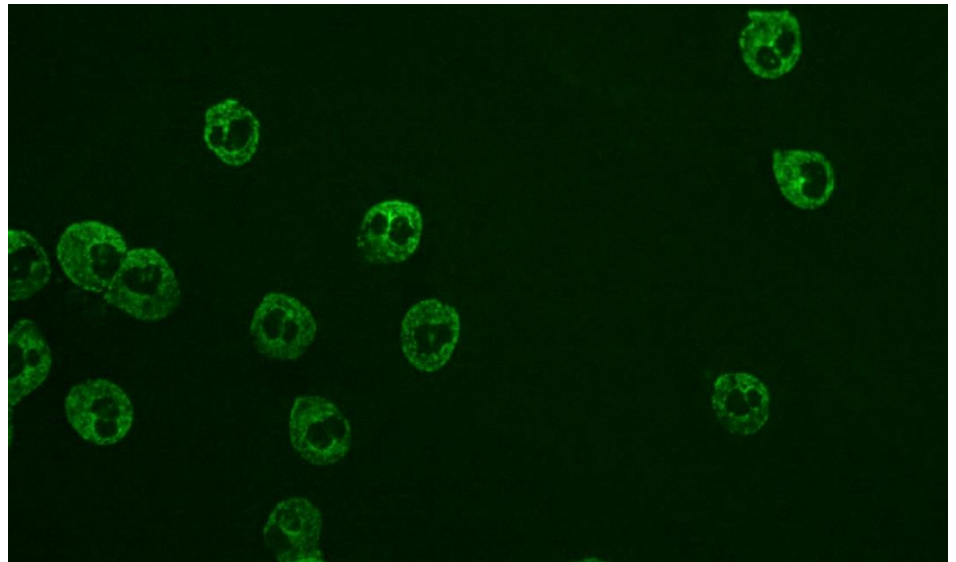
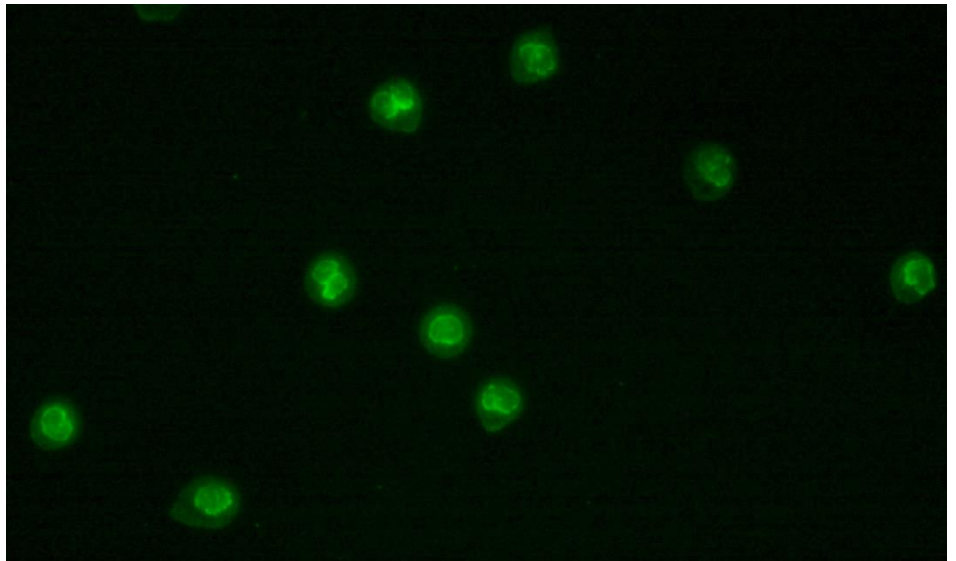
Servicio de Análisis Clínicos.  
Hospital de Barbastro. Huesca

### Fecha de publicación

30 abril 2019

### Páginas

Páginas 6-10



**Figura 1:** Anticuerpos contra el citoplasma de neutrófilos (ANCA) sobre neutrófilos fijados en etanol (patrón pANCA).

**Figura 2:** Anticuerpos contra el citoplasma de neutrófilos (ANCA) en formalina (patrón cANCA) en paciente con enfermedad inflamatoria intestinal mediante IFI (40x).

**Figure 1:** Antibodies against neutrophil cytoplasm (ANCA) on neutrophils fixed in ethanol (pANCA pattern). **Figure 2:** antibodies against neutrophil cytoplasm (ANCA) in formalin (cANCA pattern) in patient with inflammatory bowel disease by IIF (40x).

Varón de 15 años procedente de Gambia es remitido al Servicio de Digestivo por dolor abdominal y diarrea sanguinolenta de cuatro años de evolución. Se solicita estudio de heces (parásitos y coprocultivo: negativos) y gastroscopia, donde se objetiva la presencia de *Helicobacter pylori*, para el que recibe tratamiento. Además, se realiza una colonoscopia y biopsias, que muestran cambios compatibles con enfermedad inflamatoria intestinal (EII) sugestivo de colitis ulcerosa (CU).

Un año más tarde, se repite la endoscopia digestiva y las biopsias, cuyos resultados sugieren la presencia de enfermedad de Crohn, según el aspecto endoscópico y la histología (ileocolitis crónica parcheada con destrucción de las criptas, erosión y ulceración sin disminución del componente mucosecretor).

Durante el seguimiento se solicitó calprotectina [458 mg/Kg; 1463 mg/Kg; VR<50 mg/Kg], apoyando el diagnóstico de EII, y analíticas sanguíneas destacando: fosfatasa alcalina [493 UI/L; 272 UI/L; VR: 40-129 UI/L], gamma-glutamyltransferasa [134 UI/L; 233 UI/L; VR: 0-29 UI/L] y alanina-aminotransferasa [47 UI/L; 63 UI/L; VR:0-41 UI/L]. Ante la alteración hepática se solicitó enterorresonancia magnética, informándose como posible inicio de colangitis esclerosante primaria (CEP), y estudio de autoinmunidad: Anticuerpos antinucleares (ANA) positivos con patrón moteado a 1/160; Anticuerpos antimúsculo liso (ASMA) positivos a 1/80; Anticuerpos contra el citoplasma de neutrófilos (ANCA) positivos con patrón pANCA (no se realizan diluciones) (Figura 1), todos ellos por inmunofluorescencia indirecta (IFI). Como resultado de la positividad de estas pruebas se determinaron: Anticuerpos contra antígenos extraíbles del núcleo (ENA) por ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA) y F-actina por Inmunoblot que

A 15-year-old man from the Gambia is referred to Digestive Service for abdominal pain and bloody diarrhea of four years of evolution. Stool study are requested (parasites and coproculture: negative) and gastroscopy, where the presence of *Helicobacter pylori* is found, receiving treatment. In addition, a colonoscopy and biopsies are performed, which show changes compatible with inflammatory bowel disease (IBD) suggestive of ulcerative colitis (UC).

One year later, gastrointestinal endoscopy and biopsies are repeated, the results of which suggest the presence of Crohn's disease (CD), depending on endoscopic appearance and histology (chronic ileocolitis patched with destruction of the crypts, erosion and ulceration without reduction of the mucosecretor component). Calprotectin was requested during follow-up [458 mg/Kg; 1463 mg/Kg; VR<50 mg/Kg], supporting the diagnosis of IBD, and blood tests highlighting: alkaline phosphatase [493 IU/L; 272 IU/L; VR: 40-129 IU/L], gamma-glutamyltransferase [134 IU/L; 233 IU/L; VR: 0-29 IU/L] and alanine aminotransferase [47 IU/L; 63 IU/L; VR: 0-41 IU/L]. According to the hepatic alteration, magnetic resonance enterography was requested, reporting as a possible start of primary sclerosing cholangitis (PSC), and autoimmunity study: positive speckled pattern antinuclear antibodies (ANA) at 1/160; positive smooth muscle antibodies (SMA) at 1/80; positive antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) with pANCA pattern (no dilutions were made) (Figure 1) all of them by indirect immunofluorescence (IIF). As a result of these tests were also determined: autoantibodies to extractable nuclear antigens (ENAs) by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) and F-actina by immunoblot that were negative, myeloperoxidase (MPO) and proteinase-3 (PR3-ANCA) were determined by ELISA being positive for PR3-ANCA [294.9 U/mL; VR: 0-7 U/mL]. In view of the

resultaron negativos, mieloperoxidasa (MPO) y proteínasa-3 (PR3-ANCA) por ELISA siendo positivo para PR3-ANCA [294,9 U/mL; VR:0-7 U/mL]. Ante la positividad para ANCA y PR3-ANCA se solicitó la determinación de anticuerpos anti-*Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), útiles en el diagnóstico diferencial de CU y EC, resultando negativos.

La EII es una alteración inflamatoria del tracto gastrointestinal. Las formas más representativas son la CU y EC. Su diferenciación es importante, pero el diagnóstico basado en criterios endoscópicos e histológicos no siempre es fácil<sup>1</sup>. Debido a que las pruebas endoscópicas y biopsias son invasivas, costosas y lentas, se han buscado marcadores serológicos que ayuden al diagnóstico diferencial de las EII, especialmente en casos dudosos. Los mejor estudiados son los ANCA perinucleares atípicos (aANCA) y los ASCA que ayudan a diferenciarlas. La positividad de ASCA está relacionada con EC (68% de pacientes) y aANCA con CU (40-80% de pacientes)<sup>2</sup>. El patrón cANCA en IFI es marcador, principalmente, de granulomatosis de Wegener y su principal antígeno es PR3-ANCA. El patrón pANCA está asociado a poliangeitis microscópica, glomerulonefritis rápidamente progresiva idiopática "pauciimmune" y síndrome de Churg-Strauss y su principal antígeno es MPO. En las EII la especificidad de los ANCA no está bien definida. Estudios recientes muestran una posible asociación entre la presencia de PR3-ANCA y EII, y su posible uso como marcador diagnóstico en estas enfermedades, principalmente en la CU<sup>3-4</sup>. La CEP se encuentra asociada a las EII, en el 79-80% de los casos de CU<sup>5</sup>. Algunos estudios muestran que PR3-ANCA también puede ser marcador de CEP en el diagnóstico diferencial de hepatopatías<sup>6</sup>. La positividad de PR3-ANCA varía dependiendo del método. La tasa de casos positivos es del 29,3-31,1% en pacientes con CU frente al 1,9-2,7% en pacientes con EC mediante quimioluminiscencia (CIA)

positivity for ANCA and PR3-ANCA antibodies against *Saccharomyces cerevisiae* (ASCA), useful in differential diagnosis of UC and CD, were requested. The result was negative.

IBD is an inflammatory disorder of the gastrointestinal tract. The most representative forms are UC and CD. Its differentiation is important, but diagnosis based on endoscopic and histological criteria is not always easy<sup>1</sup>. Because endoscopic tests and biopsies are invasive, expensive and slow, serological markers that help the IBD differential diagnosis have been searched, especially in doubtful cases, being the best studied the atypical perinuclear ANCA (aANCA) and the ASCA that help differentiate them. ASCA positivity is related to CD (68% of patients) and aANCA to UC (40-80% of patients)<sup>2</sup>. The cANCA pattern in IIF is a marker, principally, of Wegener's granulomatosis and its main antigen is PR3-ANCA. The pANCA pattern is associated with microscopic polyangiitis, pauci-immune crescentic necrotizing glomerulonephritis (GN) and Churg-Strauss syndrome and its main antigen is MPO. In IBD, ANCA specificity is not well defined. Recent studies show a possible association between PR3-ANCA and IBD, and its use as a diagnostic marker in these diseases, mainly in CU<sup>3-4</sup>. PSC is associated with IBD, in 79-80% of cases of UC<sup>5</sup>. Some studies show that PR3-ANCA can also be a specific marker of PSC in the differential diagnosis of hepatopathies<sup>6</sup>. The positivity of PR3-ANCA varies depending on the method and laboratory. The rate of positive cases is of 29.3-31.1% in patients with UC versus 1.9-2.7% in patients with CD using chemiluminescent immunoassays (CIA) (QUANTA-Flash® PR3, INOVA Diagnostics)<sup>3-4</sup>. When using ELISA (QUANTA-Lite® PR3, INOVA Diagnostics) this positivity decreases to 6% in UC and 0% in EC<sup>4</sup>. The diagnostic accuracy, sensitivity, specificity and likelihood ratio of the

(QUANTA-Flash®PR3, INOVA Diagnostics)<sup>3-4</sup>. Cuando se utiliza ELISA (QUANTA-Lite®PR3, INOVA Diagnostics) esta positividad disminuye al 6% en CU y 0% en EC<sup>4</sup>. La exactitud diagnóstica, sensibilidad, especificidad y razón de verosimilitud de las diferentes técnicas, para discriminar entre CU y EC, se muestran en la tabla 1. La combinación PR3-ANCA-positivo (técnica CIA y cut-off = 11,8 CU) e IgA ASCA-negativo es la mejor herramienta para discriminar entre CU y EC con alta especificidad y valor predictivo. En el caso que nos ocupa, la realización de serología autoinmune puede ser una ayuda en el diagnóstico diferencial. La presencia de PR3-ANCA-positivo, ASCA-negativo y la asociación con CEP apoyan el diagnóstico de CU.

En conclusión, aunque el diagnóstico de las EII se realiza mediante criterios endoscópicos e histológicos, en algunos casos la búsqueda de biomarcadores autoinmunes pueden apoyar al diagnóstico definitivo y así evitar la realización de pruebas más invasivas y costosas.

different techniques to discriminate between UC and CD are shown in table 1. The combination PR3-ANCA-positive (CIA technique and cut-off = 11.8 CU) and IgA ASCA-negative is the best tool to discern between UC and CD with high specificity and predictive value. In the case at hand, the realization of autoimmune serology can be an aid in the differential diagnosis. The presence of PR3-ANCA-positive, ASCA-negative and the association with PSC support the diagnosis of UC.

In conclusion, although the diagnosis of IBD is made using endoscopic and histological criteria, in some cases the search for autoimmune biomarkers can support the definitive diagnosis and thus avoid carrying out more invasive and expensive tests.

	Exactitud diagnóstica	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Razón de verosimilitud positiva LR+
aANCA IFI +	69.1%	30%	96.5%	8.6
PR3-ANCA CIA (cut-off=11.8 CU)	77.3%	50%	96.5%	15
aANCA IFI+ / IgA ASCA -	61.9%	27.5%	98.2%	15.7
PR3-ANCA positivo (c/o= 11.8 CU) y IgA ASCA -	77.3%	47.5%	98.2%	27.1

**Tabla 1.** Exactitud diagnóstica, sensibilidad, especificidad y razón de verosimilitud para diferenciar entre CU y EC<sup>3</sup>.

**Table 1.** Diagnostic accuracy, sensitivity, specificity and likelihood ratio to differentiate between UC and EC<sup>3</sup>.

## Bibliografía/References:

1. Mowat C, Cole A, Windsor A, Ahmad T, Arnett I, Driscoll R, et al. Guidelines for the management of inflammatory bowel disease in adults. *Gut*. 2011;60:571–607.

2. Papp M, Altorjay I, Norman GL, Lakatos PL. Utility of serological markers in inflammatory bowel diseases: gadget or magic? *World Journal of Gastroenterology*. 2007;13:2028–2036.
3. Arias-Loste MT, Bonilla G, Moraleja I, Mahler M, Mieses MA, Castro B, et al. Presence of anti-proteinase 3 antineutrophil cytoplasmic antibodies (anti-PR3 ANCA) as serologic markers in inflammatory bowel disease. *Clin Rev Allergy Immunol*. 2013;45:109-16.
4. Mahler M, Bogdanos DP, Pavlidis P, Fritzler MJ, Csernok E, Damoiseaux J, et al. PR3-ANCA: a promising biomarker for ulcerative colitis with extensive disease. *Clin Chim Acta*. 2013;424:267–73
5. Wiesner RH, Grambsch PM, Dickson ER, Ludwig J, Maccarty RL, Hunter EB, et al. Primary sclerosing cholangitis: Natural history, prognostic factors and survival analysis. *Hepatology*. 1989;10:430–436.
6. Stinton LM, Bentow C, Mahler M, Norman GL, Eksteen B, Mason AL, et al. PR3-ANCA: a promising biomarker in primary sclerosing cholangitis (PSC). *PLoS One*. 2014;9:e112877.