

Anticuerpos anti-nucleares

Una familia diversa

Carlos A. Javier-Zepeda*

Autoinmunidad. Paul Ehrlich, a comienzos del s. XX se refirió a la posibilidad de que el sistema inmunitario reaccionara contra los tejidos del mismo individuo y creó el término autoinmunidad. Después de un siglo de investigación se conocen muchos aspectos de la patogénesis de la autoinmunidad, pero aun quedan amplias lagunas en el entendimiento total de este fenómeno. Actualmente se considera que las enfermedades autoinmunes son trastornos que resultan de fallas en la regulación del sistema inmunitario.^{1,2}

El fenómeno de autoinmunidad no es infrecuente y puede ocurrir por vía de las células T o más comúnmente por vía de las células B con la producción de auto anticuerpos. En realidad, muchas veces ambas vías operan simultáneamente. En principio, la auto reactividad del sistema inmunitario no es siempre una actividad anormal y solamente aquellas reacciones autoinmunes que ocasionan daño tisular y enfermedad, deben considerarse patológicas. Dada la amplia variedad de reacciones autoinmunes "normales", a veces es difícil establecer una relación entre dicha reactividad y la patogénesis de las enfermedades autoinmunes.

Auto anticuerpos. Una de las características más notoria de las enfermedades que resultan de procesos autoinmu-

nitarios es la presencia de auto anticuerpos, es decir, inmunoglobulinas con especificidad para componentes antigénicos de nuestros propios tejidos. Algunos de estos anticuerpos participan directamente en la génesis de las reacciones que producen el daño tisular, pero en algunos casos el papel que representan es incierto y en otros su significado es desconocido. Sin embargo, la detección de estos anticuerpos en el suero de las personas es de utilidad como marcadores de procesos autoinmunes.

Algunos autoanticuerpos reaccionan contra componentes presentes en todas las células. Otros con antígenos particulares de tejidos y órganos. Los anticuerpos contra antígenos de distribución general usualmente se asocian con enfermedades de carácter sistémico (ejs: lupus eritematoso sistémico, esclerosis sistémica, artritis reumatoide, síndrome de Sjögren, polimiositis/dermatomiositis), en contraste con los anticuerpos órgano específicos que tienen más relación con enfermedades limitadas a dichos órganos (ejs. diabetes mellitus autoinmune, tiroiditis autoinmune, enfermedad de Graves, hepatitis autoinmune, anemia hemolítica autoinmune, pénfigo bulloso, miastenia gravis, síndrome de Goodpasture, etc.).

Existen muchos métodos de laboratorio para la detección de autoanticuerpos, la especificidad y sensibilidad de los mismos son diferentes. En los laboratorios se deben usar aquellos métodos que son suficientemente sensibles sin sacrificar la especificidad del examen.

* Patólogo Clínico, Laboratorios Médicos, Tegucigalpa.
Dirigir correspondencia a: cajavier@yahoo.com o Apartado postal 1453, Tegucigalpa.

Anticuerpos contra antígenos nucleares (Ac. anti nucleares, ANA).

Aspectos moleculares. Esta es una amplia familia de auto anticuerpos que pertenecen al primer grupo antes mencionado, es decir, tienen reactividad contra antígenos en los núcleos de las células de muchos tejidos y órganos y por ende, se asocian más frecuentemente con enfermedades de carácter sistémico

Los ácidos nucleicos en el interior del núcleo celular se encuentran asociados con proteínas, a esta asociación se le llama cromatina, que es una estructura molecular extremadamente compleja. En la cromatina las proteínas más abundantes son las histonas. Una subunidad de la cromatina es el nucleosoma, cuya base estructural consiste de 146 pares de bases de ADN alrededor de una región central de ocho moléculas de histonas. La cromatina representa uno de los principales blancos de la respuesta auto inmune en diversas enfermedades sistémicas. Hay una variedad de anticuerpos que reaccionan contra diferentes componentes de esta estructura, los más conocidos son anti ADN, anti histonas, anti centrómero, anti RNP, anti Sm, anti SS-A/Ro, anti SS-B/La y anti Scl-70.

Los nucleolos, por otro lado, representan las estructuras más grandes y más complejas de ribonucleoproteínas dentro del núcleo celular, en ellos se encuentran cientos de polipéptidos y pequeñas proteínas acopladas a ARN, especialmente los de la denominada serie U y el antígeno Ro, que también son blanco de auto anticuerpos. En conjunto a estas partículas se les llama ribonucleoproteínas nucleares pequeñas (snRNPs) y cuando están en el citoplasma, ribonucleoproteínas citoplásmicas pequeñas (scRNPs).

Algunos antígenos que reaccionan con los anticuerpos anti nucleares pueden extraerse de las células usando solución salina, a éstos se les llama antígenos extractables del núcleo o ENA y a los anticuerpos correspondientes, anti ENA. Los principales anti ENA son: anti RNP, anti Sm, anti SS-A/Ro, anti SS-B/La y anti Scl-70, los cuales se pueden detectar en conjunto o individualmente.

Consideraciones técnicas. El examen para demostrar anticuerpos anti nucleares (ANA) se inicia con un método suficientemente sensible que permita detectarlos en

forma general. Desde la descripción original del fenómeno de las células LE (Mayo Clin Proc 1948; 27: 25-28), se han hecho muchos esfuerzos para estandarizar las técnicas para la ejecución de éstos exámenes.³ Usualmente se utilizan métodos de inmunofluorescencia indirecta o enzimoimmunoensayo. Para fines prácticos, un resultado negativo con este examen inicial, excluye la presencia de estos anticuerpos.

Con el método de inmunofluorescencia se pueden utilizar varios sustratos celulares, tradicionalmente se han usado cortes congelados de hígado o riñón de ratón pero es preferible usar una línea de células humanas (cultivo de células neoplásicas) llamada Hep-2, que a diferencia de las de origen animal se considera más sensible y expresa algunos antígenos que no se expresan en el tejido murino, ej. el antígeno Ro. La falta de expresión de algunos antígenos en ciertos sustratos puede dar lugar al diagnóstico de "LES con ANA negativo". Sin embargo, la alta sensibilidad de las células Hep-2 compromete la especificidad del método y se encontrarán algunos resultados positivos en otras enfermedades. Algunos proponen que esto se puede compensar utilizando una dilución de suero más alta para considerar el examen como positivo, pero esto disminuiría la sensibilidad. Como se discutirá más adelante, es muy importante tomar en cuenta la forma de presentación clínica del paciente al interpretar estos resultados.

Se considera que para la detección genérica de ANA no es muy recomendable usar el método de enzimoimmunoensayo ya que aún no ha sido sometido a una evaluación poblacional exhaustiva. Pero este método si se recomienda para la detección de anticuerpos específicos contra antígenos nucleares.

La técnica de inmunofluorescencia usando sustratos de origen animal permite la demostración de ciertos patrones morfológicos de fluorescencia en el núcleo de las células. En el pasado estos patrones tuvieron importancia porque se asociaban con la presencia de determinados anticuerpos y con ciertas enfermedades. Actualmente la relevancia de los mismos ha sido suplantada en gran medida por la posibilidad de detectar anticuerpos de diversa especificidad en forma directa.

Un resultado positivo del examen por ANA, aunque muchas veces es de utilidad, no es patognomónico de una

enfermedad en particular y si no se interpreta en función de la presentación clínica y tomando en cuenta el título o la concentración de anticuerpos presente, más bien puede causar confusión. El cuadro No. 1 muestra la frecuencia con que se encuentran ANA en pacientes con diferentes enfermedades.

CUADRO No. 1

CONDICIONES ASOCIADAS CON RESULTADOS POSITIVOS DEL EXAMEN POR ANTICUERPOS ANTINUCLEARES*

CONDICION	FRECUENCIA DE RESULTADO POSITIVO (%)
Condiciones donde el resultado es de mucha o alguna utilidad para el diagnóstico.	
Lupus eritematoso sistémico	95-100
Esclerosis sistémica (escleroderma)	60-80
Síndrome de Sjögren	40-70
Miositis inflamatoria idiopática (polimiositis/dermatomiositis)	30-80
Artritis oligoarticular crónica juvenil con uveítis	20-50
Fenómeno de Raynaud	20-60
Lupus inducido por medicamentos	100**
Enfermedad hepática autoinmune	100**
Enfermedad mixta del tejido conectivo	100**
Condiciones donde el resultado no es de utilidad para el diagnóstico.	
Artritis reumatoide	30- 50
Esclerosis múltiple	25
Púrpura trombocitopénica idiopática	10- 30
Enfermedad tiroidea autoinmune	30 50
Lupus discoide	5- 25
Enfermedades infecciosas	muy variable
Enfermedades malignas	muy variable
Pacientes con implantes mamarios de silicon	15-25
Fibromialgia	15-25
Parientes de pacientes con enfermedad autoinmune (LES o Scl)	15-25
Personas clínicamente normales***	
Título = 1:40	20-30
Título = 1:80	10-12
Título = 1:160	5
Título = 1:320	3

* Basados en el método por inmunofluorescencia indirecta.

** Esto es así porque el resultado de ANA es parte de la definición de caso.

*** Sobre todo mujeres de edad avanzada.

(Tomado de Kavanaugh A. et al. Guidelines for clinical use of ANA test and tests for specific autoantibodies for nuclear antigens. Arch Path Lab Med. 2000; 124:71-81).

También se pueden encontrar títulos o concentraciones bajas de ANA en personas "normales", a veces en forma transitoria, sobre todo en mujeres mayores de 65 años. Recientemente un conjunto de expertos de varias instituciones y organizaciones se reunió para proponer una guía para el uso clínico de los exámenes para ANA.⁴ Estos criterios comprenden la revisión de más de 800 artículos publicados en la literatura y las recomendaciones del grupo de Medicina Basada en Evidencia publicadas en 1994 (JAMA 1994; 271: 389-391 y 703-707).

Uso diagnóstico^{4,5}

Lupus eritematoso sistémico.

Se debe indicar el examen genérico para ANA cuando el médico tiene una sospecha razonable de una enfermedad auto inmune sistémica, particularmente lupus eritematoso sistémico (LES), basándose en la información clínica y otros estudios de laboratorio. El examen no debe usarse como un método de tamizaje ("screening") rutinario para detectar LES ya que debido a la baja prevalencia de LES (una de las enfermedades auto inmunes más frecuentemente asociadas a la presencia de ANA) en la población general, la mayor parte de las personas en las cuales se demuestra un resultado positivo cuando se hace el examen al azar, no padecen de esta enfermedad.

Una vez que se demuestra la presencia de ANA en un paciente, con base clínica razonable y sobre todo en un

título significativo, ej. más de 1:40, el siguiente paso es tratar de demostrar cual o cuáles de los anticuerpos de esta familia es o son responsables de dicha positividad (Arthr Rheumat 1996;39:1055-1061).

Algunos autores han propuesto un sistema de exámenes en cascada sin prestar atención a las características clínicas del paciente, pero esta práctica tiene poco apoyo y costo elevado. Además, conduce a diagnósticos errados. De manera que cualquier estudio adicional debe ser guiado por indicaciones específicas. Los exámenes para anticuerpos específicos virtualmente nunca son positivos si el examen genérico es negativo y con excepción de anti ADN de doble hélice (ds-ADN o ADN nativo)*, si el resultado es positivo no es necesario informar los títulos (diluciones de suero) ya que no proveen información clínica adicional. Ante la sospecha de LES, cuando ya se tiene un examen de ANA positivo, se procede a efectuar anti ADN y anti Sm.

Anti ADN se considera muy específico (casi 100%) de LES, sobre todo si se demuestra un título elevado. Sólo muy raramente se encuentra en personas "normales" o con otras enfermedades y en esos casos el título es bajo. El porcentaje de pacientes con LES que tienen anti ADN varía entre 25 y 85%. Se puede decir entonces que si el cuadro clínico es compatible, un resultado positivo apoya fuertemente el diagnóstico pero un resultado negativo no lo excluye. La presencia de anti ADN tiene alguna correlación con la actividad de la enfermedad y en particular con la actividad de nefritis lúpica, pero esta correlación no es tan fuerte como lo es para el diagnóstico y preferentemente deben usarse otros parámetros para establecer el grado de actividad de la enfermedad.

Anti Sm sólo se detectan en 15 a 30% de los pacientes con LES y raramente en personas "normales" o con otras enfermedades, al igual que anti ADN su ausencia no excluye el diagnóstico de LES.

Anti snRNPs no son específicos de LES y no son de gran ayuda para establecer el diagnóstico, se demuestran en 30 a 40% de los pacientes.

* Cuando se habla de anti ADN, generalmente se trata de anti ADN nativo o de doble hélice. Aunque existen métodos para detectar anti ADN de cadena simple (ssADN) y que estos anticuerpos tienen sus propias características y asociaciones clínicas, generalmente no se usan ya que carecen de utilidad clínica.

Anti Ro se encuentran en 35 a 60% de pacientes con LES, sobre todo en asociación con fotosensibilidad, síntomas y signos de sicca, trombocitopenia y exantema agudo. Además, tienen una asociación importante con lupus neonatal.

Lupus inducido por medicamentos. En estos pacientes se puede demostrar la presencia de ANA aún cuando no hayan aparecido los síntomas y signos de la enfermedad y aunque no hay criterios estándar para el diagnóstico de esta forma de lupus, la presencia de estos anticuerpos es un requisito para considerarlo. En estos pacientes también se encuentran anticuerpos anti histonas en 90 a 100% de los casos pero no son específicos (Rheum Dis Clin N.A. 1992;18:415-36). Hasta ahora los datos son insuficientes para recomendar el uso de este examen y el médico debe basarse en la clínica y el examen genérico para ANA para el diagnóstico de la enfermedad.

Síndrome de Sjögren. 40 a 70% de los pacientes con esta enfermedad muestra ANA genérico pero el examen no es requisito para el diagnóstico. Los anticuerpos específicos más frecuentemente asociados a esta enfermedad son anti SS-A/Ro y anti SS-B/La, la frecuencia con que se demuestran varía de acuerdo al método empleado, siendo el más sensible enzimoimmunoensayo. Anti La se demuestra con menos frecuencia y casi nunca está presente a menos que haya anti Ro. Cuando estos anticuerpos están presentes, los pacientes suelen tener enfermedad extraglandular, incluyendo vasculitis, púrpura, linfadenopatía o trombocitopenia.

Esclerosis sistémica. Los pacientes con escleroderma pertenecen a dos categorías, la forma limitada (Síndrome CREST) con mejor pronóstico y la forma difusa. La forma limitada se asocia más frecuentemente con la presencia de anticuerpos que muestran el patrón anti centrómero en el test genérico para ANA y no es necesario hacer otros exámenes. La forma difusa se asocia con la presencia de anti ADN-topoisomerasa 1 (anti Scl-70) o ANA con patrón nucleolar. Aunque estos exámenes no son enteramente diagnósticos y la correlación clínica es sumamente importante al interpretar los resultados. Los ANA se demuestran en 60 a 90% de los pacientes con esclerosis sistémica pero su presencia no es requisito para el diagnóstico pero lo apoya. Un resultado negativo es útil porque hace pensar al médico en otras enfermedades

similares (escleroderma localizado, fasciitis eosinofílica o escleredema).

Otras enfermedades. En la enfermedad mixta del tejido conectivo y la hepatitis auto inmune, la presencia de ANA es parte integral del diagnóstico. Debido a esta regla es imposible evaluar la sensibilidad y especificidad del examen en estas enfermedades. En la artritis juvenil crónica el examen para ANA no es de utilidad para el diagnóstico pero su presencia en estos pacientes puede predecir la aparición de uveítis (Sem Arthr Rheum 1984; 13: 329-336). Los pacientes con fenómeno de Raynaud pueden tener diversas enfermedades subyacentes, la presencia de ANA en estos pacientes aumenta la posibilidad de que dicha manifestación clínica esté asociada con una enfermedad autoinmune sistémica. De igual manera, en los pacientes que tienen anticuerpos antifosfolípidos, la presencia de ANA aumenta las posibilidades de que se trate de un LES.

Se han resumido algunos conceptos sobre el tema, indudablemente hay mucho más que tratar sobre el mismo, las referencias 4 y 5 son un buen punto de partida para estudio adicional.

REFERENCIAS

1. Anderson DE, Hafler DA. Immune tolerance. Cap 7, En: Text book of the Autoimmune Diseases. RG Lahita, *et al.* Eds. Philadelphia, Lippincott-Williams Wilkins 2000.
2. Steinberg AD. Mechanisms of Disordered Immune Regulation. Cap 30, En: Basic and Clinical Immunology, 8 ed. DP Stites *et al.* Eds. Norwalk, Ct. Appleton-Lange, 1994.
3. Molden DP, Nakamura RM, Tan EM. Standardization of the immunofluorescence test for autoantibody to nuclear antigens (ANA). Am J Clin Path 1984; 82: 56-66.
4. Kavanaugh A, *et al.* Guidelines for clinical use of the anti-nuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. Arch Path Lab Med 2000; 124: 71-81.
5. Tozzoli R, *et al.* Guidelines for the laboratory use of autoantibody tests in the diagnosis and monitoring of autoimmune rheumatic diseases. Am J Clin Path 2002; 117: 316-324.

LOS ACTOS SON LOS FRUTOS,
LAS PALABRAS SON LAS HOJAS.

PROVERBIO INGLÉS