

## TRABAJO ORIGINAL

# AUTOANTICUERPOS Y DIAGNÓSTICO DE ENFERMEDAD AUTOINMUNE

Federico Moscardi<sup>1</sup>

### INTRODUCCIÓN

La presencia de autoanticuerpos (AA), en particular antinucleares, puede o no asociarse, o preanunciar por años ciertas enfermedades autoinmunes (EA). Esa asociación es compleja y como ocurre en general con los procesos autoinmunes está afectada por variables genéticas, étnicas, ambientales, etarias, metodológicas y por el género<sup>1-11</sup>.

La manifestación de esas variables determina que se publiquen resultados discrepantes.

Este trabajo descriptivo se propone precisar la frecuencia y características temporales de la asociación de AA y EA y evaluar el Valor Predictivo de los AA mediante el estudio retrospectivo de todos los pacientes a los que se les solicitó dicho análisis que tuvieron informe de AA positivo significativo, desde enero de 1990 a noviembre de 2006 en este laboratorio hospitalario de Inmunología de Mar del Plata, Argentina.

### MATERIALES Y MÉTODOS

**Plan del estudio:** Del archivo del laboratorio de Inmunología se obtuvo el listado de todos los pacientes remitidos para estudio de A. antinucleares desde enero de 1990 a noviembre de 2006. Se registraron los que tuvieron resultado positivo significativo y estudiaron las historias clínicas (HC) disponibles, descartando aquellas de pacientes seguidos menos de 6 meses o en forma muy discontinua. Se anotó el diagnóstico firme o probable y la demora en establecerlo cuando fue de enfermedad autoinmune relacionada, constituyendo el grupo "con diagnóstico" (C/D). Todo otro diagnóstico fue ignorado a los fines de este trabajo y anotado como "sin diagnóstico" (S/D).

Se anotó el tiempo de seguimiento al cierre del estudio. Se registró la presencia o no de tiroiditis autoinmune y de fenómeno de Raynaud.

**Determinación de AA:** Se estudiaron las muestras por Inmunofluorescencia Indirecta de diluciones seriadas sobre cortes de hígado, estómago y riñón de

rata (HER) en dilución 1/20 o sobre células HEp 2, dilución 1/40 y, cuando fué necesario, por Inmunodifusión para los antígenos SSA (Ro), Ssb (la), Sm y RNP. Se emplearon las técnicas estándar descriptas por los fabricantes de los reactivos.

Los AA registrados fueron 12: antinucleares en patrón homogéneo o punteado (AAN o AAN P), antinucleolares (NUC), anti ADN (DNA), anti mitocondrial (AAM), anti músculo liso (AML), anti centrómero (CEN), anti SCL 70 (SCL), anti SSA, anti SSB, anti Sm y anti RNP.

**Pacientes:** De 9580 órdenes de AA hubo 2778 positivas (29%) y de éstas 2299 (24%) fueron interpretadas como "significativas" por resultar el suero positivo por lo menos en una dilución más que la de partida (significativa: 1/40 sobre corte murino y 1/80 sobre cel. Hep 2). Estas muestras correspondieron a 605 pacientes (1 a 40 determinaciones/paciente).

Con 280 HC elegidas al azar y 20 más de los mismos 605, pertenecientes a un sublistado de pacientes con esclerodermia /crest se completaron los 300 casos con los que se hizo esta investigación.

**Enfermedades autoinmunes relacionadas a esos aa:** Lupus eritematoso sistémico (LES) artritis reumatoidea (AR), síndrome de Sjögren (SS), esclerodermia-crest (E/C), hepatitis autoinmune (HAI), cirrosis biliar primaria (CBP), enfermedad indiferenciada del tejido conectivo (EITC) y enfermedad de superposición (SUP).

Se registraron los escasos casos de AA en EA muy poco frecuentes o que generalmente no se asocian a los autoanticuerpos investigados, como "otras".

**Demora diagnóstica:** Temporalmente el diagnóstico fué estratificado a partir de la detección del AA como: Previo a la presentación (cuando se hizo en la primera ronda de consultas: una o dos semanas), 6 meses, hasta 1 año, hasta 2 años, hasta 5 años y mayor de 5 años.

### ESTADÍSTICA

La (p) fue establecida según tabla de "chi" cuadrado corrección Mantel Haenszeld.

### RESULTADOS

Se estudiaron retrospectivamente 300 pacientes:

<sup>1</sup> Servicio de Laboratorio del Hospital Privado de Comunidad. Córdoba 4545. (B7602CBM) Mar del Plata, Argentina.  
E-mail: federicomoscardi@hpc.org.ar

272 mujeres (90,7 %) y 28 hombres (9,3 %) con edad promedio 56,5 años en el momento del primer estudio de AA, rango 11 a 90 años.

Durante el curso del estudio murieron 48 personas (16 %).

Tuvieron diagnóstico firme o probable de EA 196 de los 300 pacientes (65,3%), 182 mujeres y 14 hombres. Este grupo incluye 14 pacientes (4,6 %) que constituyen el subgrupo "otras": (artritis crónica juvenil 3 casos, S antifosfolipídico 2, dermatomiositis 2 y púrpura trombocitopénica autoinmune, miositis, esclerodermatomiositis, enf. celiaca, cirrosis hepática por virus C, anemia hemolítica autoinmune y Still del adulto 1).

No tuvieron diagnóstico de EA 104 pacientes (34,6 %), 90 mujeres y 14 hombres.

En el grupo C/D la frecuencia de tiroiditis fue: 27/196 = 13,8 %, y de Raynaud 59/196 = 28,5 %.

En el grupo S/D la frecuencia de tiroiditis fue: 22/104 = 21,1% y de Raynaud 18/104 = 17,3 %.

**Frecuencia de AA en las EA investigadas (Tabla 1)**

Se muestran las frecuencias de estos anticuerpos

en los pacientes con diagnóstico. Observando las filas horizontales se ve que el número de distintos AA que se detectó en cada EA varía desde AAN que se halló en todas, a CEN, SSA/SSB, AAM y AML que se encontraron en más de la mitad, a anti DNA, RNP, SCL y Sm de presencia más restringida, este último muy asociado a LES. NUC si bien tiene buena asociación con E/C, no llevó a diagnóstico en más de la mitad de los casos.

Las columnas muestran para cada enfermedad el número de pacientes que expresaron el respectivo anticuerpo. Se observa que el grupo con E/C mostró casi todos los autoanticuerpos (11 de 12), LES y S. de Sjögren mostraron 9 de 12, en HAI y AR se detectaron la mitad de ellos y en CBP se halló siempre y casi exclusivamente AAM. La columna SS + AR-CBP-E/C incluye a los pacientes que tuvieron diagnóstico de S. de Sjögren y además AR o CBP o E/C.

En total en los 196 pacientes con diagnóstico se detectó 347 veces la presencia de un tipo de anticuerpo específico. Obsérvese que no se incluye a las veces que un mismo anticuerpo se detectó en un paciente (que puede variar de 1 a 40 veces) sino a los distintos

**Tabla 1.** Presencia de los distintos autoanticuerpos en cada enfermedad y en el grupo sin diagnóstico

*(47) <sup>1</sup>	LES	E/C	SS			AR	SUP	EITC	HAI	CBP	SS	OTR	S/D	C/D	TOT
	*(43)	+	*(31)			*(3)	*(11)	*(9)	*(13)	*(14)	*(14)				
		AR-CBP-E/C													
		(2)	(6)	(3)											
AAN	38	11	2	6	3	28	3	7	5	1	10	7	53	121	174
AAN P	3	2	1			2	3	7	1		5	6	11	30	41
DNA	29	3					1		1		1		4	35	39
SSA	10	1		1	1			3			4		1	20	21
SSB	5	2	1	1		1		1			5		4	16	20
RNP	2	4						5					0	11	11
Sm	6							1					0	7	7
CEN	1	32		1	2				1	1	1	3	11	42	53
SCL		5						1			1		1	7	8
AML		2		1		4	1		5		3	2	6	18	24
AAM		5		4	1	2			2	13			7	27	34
NUC	1	7									4	1	15	13	28

<sup>1</sup>\*( ) Número de pacientes con cada enfermedad. Los otros números indican el número de pacientes que para cada enfermedad tuvieron el respectivo autoanticuerpo

**Tabla 2.** Valores predictivos de los autoanticuerpos para enfermedad autoinmune

	V+*	F+*	Valor Predictivo
AAN	121	53	69,5%
AANP	30	11	73,1 %
DNA	35	4	89,7 %
SSA	20	1	95, 2%
SSB	16	4	80,0%
RNP	11	o	100,0%
Sm	7	o	100,0 %
CEN	42	11	79,2 %
SCL	7	1	87,5%
AML	18	6	75,0 %
AAM	27	7	79,4%
NUC	13	15	46,4 %

V+

$$V.P. = \frac{V+}{V+ + F+}$$

V+ + F+

V+ (Verdaderos positivos) Pacientes con autoanticuerpos y diagnóstico de e. autoinmune

F+ (Falsos positivos) Pacientes con autoanticuerpos y sin diagnóstico de e. autoinmune.

AA que aparecieron en cada enfermo. Este valor viene dado por la relación  $347/196 = 1,77$  anticuerpos distintos por paciente.

**Valor Predictivo de la presencia de AA para EA (Tabla 2).**

Este Valor Predictivo se refiere a EA en su conjunto, no a EA individuales porque este trabajo investiga la asociación AA+ con EA+, en oposición a AA+ sin diagnóstico de EA. Estos últimos casos son considerados falsos positivos.

Los valores obtenidos son altos, oscilan entre casi 70 % al 100 %, con excepción del correspondiente a NUC.

**Tabla 3.** Frecuencia de las enfermedades autoinmunes diagnosticadas.

Enfermedad autoinmune	Número	%
LES	47	24,0
E/C	43	21,9
SS	14	7,1
AR	2	1,0
SS + CBP	6	3,0
E/C	3	1,5
AR	31	15,8
CBP	13	6,6
EITC	11	5,6
HAI	9	4,6
SUP	3	1,5
OTRAS	14	7,1
99,7	196	99,8

**Frecuencia de las EA investigadas. (Tabla 3)**

Estas frecuencias muestran un sesgo hacia abajo para AR, "a priori" la más frecuente de estas enfermedades, atribuible a que los pacientes de este estudio son aquellos a los que se les pidió AA y el diagnóstico o seguimiento de esta enfermedad se hace generalmente con factor reumatoideo.

Hay un sesgo hacia arriba para E/C debido a que en el registro de 300 pacientes con AA está incluido otro con 20 casos de E/C .

**Demora diagnóstica desde la detección del primer AA (Tabla 4)**

Se expone la demora diagnóstica , en 5 estratos de tiempo a partir de la detección del primer autoanticuerpo. Los números informan la cantidad y porcentaje correspondiente de pacientes, descontando los diagnósticos previos.

**Características del grupo sin diagnóstico de EA (S/D)**

Son 104 pacientes, 90 mujeres y 14 hombres. La edad promedio a la detección de AA es 59,7 años, rango 22 a 91. El seguimiento en este grupo fue de 6 meses hasta 13 años, promedio 6,4 años.

La frecuencia de AA en este grupo se muestra en la tabla 5.

En los 104 pacientes hubo 114 informes de AA, promedio 1,07 AA distintos por paciente.

**DISCUSIÓN**

Este es un estudio descriptivo (dadas las numerosas variables que lo afectan: múltiples enfermedades y autoanticuerpos y criterios diagnósticos no homogéneos), para aproximarse a la determinación del valor predictivo para EA de la presencia de AA, tal como se encontró en este laboratorio.

Se entiende que este trabajo puede evaluar la utilidad de los AA en nuestro medio y en nuestras manos.

La detección de AA tiene una relación imprecisa con la EA. Puede acompañarla, preanunciarla<sup>14</sup>, posiblemente participar de su patogénesis (ej. ANCA)<sup>8</sup> y muy raramente ignorarla. Además, algunos AA pueden detectarse en población "sana" (en estudios que no implican seguimiento) con frecuencias informadas tan variables como 3 a 30 %<sup>8,15</sup>.

Esto puede relacionarse con los múltiples factores: el género, etarios, étnicos, ambientales que actúan sobre la autoinmunidad.

En este contexto la relevancia de la detección de AA en el diagnóstico y seguimiento de las EA es un tema en discusión y las conclusiones publicadas variables<sup>12,13</sup>.

En nuestro caso el espectro de asociaciones de AA

**Tabla 4.** Diagnóstico: Demora del diagnóstico en relación al primer autoanticuerpo encontrado. Se expresa la cantidad de pacientes en cada estrato. En los porcentajes se descuenta los que tenían un informe previo.

Previo	A la presentación	hasta 6 meses	hasta 1 año	hasta 5 años	> de 5 años
41	84 (54,2%)	17 (11,0%)	24 (15,5%)	24(15,5 %)	6 (3,8%)

y EA que muestra la tabla 1 es cualitativamente coherente con lo publicado, pero el grado de la asociación es en general mayor de lo que sugiere la literatura<sup>14</sup>. La fuerza de esa asociación, su utilidad, viene medida por los Valores Predictivos obtenidos. Dados estos valores este trabajo encuentra en los AA una utilidad diagnóstica mayor de la sugerida por otros estudios.

En cuanto a la frecuencia de las EA encontrada puede considerarse dentro de lo previsible, teniendo en cuenta el sesgo ya descrito para AR y E/C.

La demora diagnóstica se muestra estratificada. Al hacer el estudio retrospectivo de las HC se encontraron pacientes que ya tenían diagnóstico. Estos pacientes con informe "previo" no se excluyeron de la investigación porque los sueros fueron procesados con desconocimiento del diagnóstico, pero no se tuvieron en cuenta en el expresión porcentual de las demoras.

El grupo S/D no muestra diferencia etaria con C/D. La frecuencia de hombres en S/D ( $14/104 = 13,4\%$  versus la del grupo C/D ( $14/196 = 7,1\%$ ) sugiere que en éstos sea más probable el "falso positivo" ( $p = 0,07$ ).

La frecuencia 0 de Sm y RNP en este grupo signi-

fica que no dieron "falsos positivos" aunque su sensibilidad es baja. DNA, que es de buena sensibilidad dio pocos "falsos positivos", como también ocurrió con SSA/SSB, aunque éstos son menos sensibles que DNA.

La frecuencia de tiroiditis en S/D, mayor que en C/D también apoya la posibilidad de que algunos autoanticuerpos sistémicos se deban a una enfermedad órgano específica.

El grupo C/D tiene un promedio de 1,77 distinto AA por paciente mientras que el S/D tiene 1,03. Como se ha dicho en C/D hay pacientes que tienen hasta 40 determinaciones del mismo AA (AAN). Eso es sobreuso de esa determinación, ya que no guarda relación directa con la actividad de la enfermedad.

Dada la posibilidad de los AA de preceder a la clínica, incluso por años y a cierta tendencia en disminuir la rigurosidad de la exigencia para diagnosticar algunas EA, como por ejemplo E y EITC (16-20) algunos pacientes del grupo S/D podrían, con esos criterios, pasar al que ya tiene diagnóstico.

Con el creciente refinamiento en la definición estructural y funcional de los antígenos que reconocen los AA y debido a sus características de intervenir en importantes procesos fisiológicos, es de preveer la utilidad creciente de estos estudios en el futuro.

**Tabla 5.** Características del grupo sin diagnóstico N=104: 90 mujeres y 14 hombres

Frecuencia de AA hallada		
AAN		46,5%
AANP		9,6%
DNA		3,5%
SSA		0,9%
SSB		3,5%
RNP		0%
Sm		0%
CEN		9,6%
SCL		0,9%
AML		5,2%
AAM		6,1%
NUC		13,1%
Tiempo de seguimiento		
6 meses:	9	8,7%
hasta 1 año:	3	2,9%
hasta 2 años:	22	21,2%
hasta 5 años:	31	29,8%
> de 5 años:	39	37,5%
El tiempo de seguimiento llega hasta 13 años.		

## RESUMEN

El Valor Predictivo de la presencia de anticuerpos antinucleares (AA) para enfermedades autoinmunes (EA) está afectado por muchas variables (étnicas, geográficas, etc).

Eso nos indujo a revisar retrospectivamente la frecuencia y características temporales de la asociación AA/EA en los pacientes remitidos a este laboratorio hospitalario de inmunología clínica que hubieran tenido alguna determinación significativa de AA desde enero de 1990 a noviembre de 2006. Se registraron 9580 órdenes de AA, de las cuales 2299 (24 %) fueron considerados de título significativo. La metodología analítica empleada fue inmunofluorescencia o inmunodifusión.

Los AA investigados fueron anti: nucleares homogéneo y punteado (AAN y AAN P) adn DNA, SSA/SSB, centrómero, Sm, RNP, SCL 70 (SCL), mitocondrial (AAM), músculo liso (AML) y nucleolar (NUC).

Las EA fueron: LES, esclerodermia/crest (E/C), S. de Sjögren (SS) artritis reumatoidea (AR), hepatitis

autoinmune (HAI), cirrosis biliar primaria (CBP), enfermedad indiferenciada del tejido conectivo (EITC), enfermedad de superposición (SUP) y "otras".

Se registraron así 605 pacientes, eligiéndose de las historias clínicas disponibles 300 pacientes al azar 272 mujeres y 28 hombres de edad promedio 56,5 años rango 11 a 90, con cuyos datos se redactó este trabajo.

De la consulta de la historia clínica se anotó el diagnóstico firme o probable de EA (C/D). Todo otro diagnóstico fue registrado como S/D.

De 196 pacientes (65,3 %) 182 mujeres y 14 hombres resultaron C/D y de 104 pacientes (34,7%) 90 mujeres y 14 hombres resultaron S/D.

Se obtuvieron valores predictivos de la presencia de cada AA para EA en su conjunto, que variaron de 70 a 100 %, valores más altos que los sugeridos por la literatura.

También se estratificó el tiempo de demora en el diagnóstico y se registró la presencia de tiroiditis.

#### BIBLIOGRAFIA

1. Roitt et al. *Fundamentos de Inmunología*. 2003, Panamericana, Buenos Aires, cap 19, pp 453-79.
2. Citera G et al. Influence of HLA-DR alleles on RA in Argentinian patients. *J Rheum* 2001; 7: 1486-91.
3. Bolstadt A. Et al. HLA markers and clinical characteristics in caucasian with Primary Sjögren Syndrome. *J Rheum* 2001; 1554-62.
4. Kuwama R et al. Influence of ethnic background on clinical and serological patients with Systemic Sclerosis. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 465-73.
5. Kuwama R et al. Clinical and prognostic associations based on serum antinuclear antibodies in Japanese patients. *Arthritis Rheum* 1994; 37: 75-83.
6. Tishler M et al. Clinical and immunological characteristics of Elderly onset Sjögren Syndrome: A Comparison with Younger onset diseases. *J Rheum* 2001; 28:795-97.
7. Ramos-Casals et al. Autoimmunity and geriatrics: clinical significance of autoimmune manifestations in the Elderly Lupus 2003;12:341-55.
8. Abu-moucha et al ¿Geographic clusters of Primary Biliar Cirrhosis? *Clin and Develop Immunol* 2003; 10:127-31.
9. Moscardi F et al. Anticuerpos anticitoplasma del neutrófilo y envejecimiento. *Medicina (B Aires)* 1997; 57:36-40.
10. Kern C et al. Measurement of antinuclear antibodies: assesment of Different Test System. *Clin Diag Lab Immunol* 2000;7:72-8.
11. Orton R et al. Practical evaluation of methods for detection and specificity of autoantibodies to ENA. *Clin Diag Lab Immunol* 2004;11:297-301.
12. Wiik A. Appropriateness of autoantibodies testing in clinical medicine. *Clin Chimica Acta* 2003;333:177-80.
13. Lernmark O. Autoimmune diseases :are markers ready for prediction? *J Clin Invest* 2001;108:1091-6.
14. Shmerling R. Autoantibodies in Systemic Lupus Erythematosus- There before you know it. *NEJM* 2003; 349:1499-500.
15. Cainelli F et al. Antinuclear antibodies are common in an infectious environment but do not predict systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2004;63:1707-8.
16. Myckatyn SO et al. Outcome of positive antinuclear antibodies in individuals without connective tissue diseases. *J Rheumatol* 2003; 4:736-9.
17. Al-allaf A et al. The prevalence and significance of positive antinuclear antibodies in patients with fibromyalgia syndrome:2-4 years follow up. *Clin Rheumatol* 2002;6:472-7.
18. Bodolay e et al. UCTD: clinical and serological profile of 578 patients followed for five years (Abstract ). *Orv Hetil* 2002; 5:229-33.
19. Mosca M et al. UCTD. The clinical and serological disease profiles of 91 patients followed for at last 1 year. *Lupus* 1998;7:95-100.
20. Le Roy E et al. Criteria for the Classification of Early Systemic Sclerosis. *J Rheum* 2001;7:1573-76.