

## EXPERIENCIAS

# AUTOANTICUERPOS CONTRA ANTÍGENOS NUCLEARES SOLUBLES SU ESTUDIO A PARTIR DEL TÍTULO Y PATRÓN ANTINÚCLEO

*Dres. Adrián A. Schoijedman, Graciela Rey, Guillermo A. Tate y Alejandro Malbrán.*

### INTRODUCCIÓN

La determinación de anticuerpos dirigidos contra componentes celulares constituye uno de los pilares diagnósticos de las enfermedades autoinmunes.

Distintos autoanticuerpos se asocian con diferentes cuadros clínicos<sup>1,2</sup>. Diversas técnicas se emplean con el objeto de precisar el antígeno hacia el cual se dirige el anticuerpo. En el caso de las enfermedades del tejido conectivo, se emplean para el diagnóstico la inmunofluorescencia indirecta (IFI) para los anticuerpos antinucleares (AAN), y una variedad de sistemas de detección de anticuerpos dirigidos contra antígenos nucleares extraíbles (ENA)<sup>3</sup>. Estas últimas, aunque costosas y complejas, suelen ser pedidas en forma simultánea con la determinación de los AAN, con el objeto de ahorrar tiempo en el diagnóstico y sufrimiento a los pacientes, pero sin tomar en cuenta el costo que le imponen al sistema de salud. Esta actitud puede ser potencialmente modificada, si luego de la simple determinación del AAN por IFI, el laboratorio pudiera decidir que sueros deben ser estudiados para la detección de anticuerpos anti ENA. Se ha sugerido en la literatura un sistema jerárquico, donde el título y el patrón de AAN se toman como base para decidir si es necesario buscar otros autoanticuerpos<sup>4,5,6</sup>. Siguiendo estos esquemas de diagnóstico, se puede ahorrar tiempo y dinero, evitando realizar determinaciones que serán negativas de acuerdo a la sensibilidad de la técnica de elección y criterios estadísticos.

El objeto de nuestro estudio fue determinar, a partir de muestras AAN positivo, que títulos y patrones pueden establecerse para simplificar la determinación de autoanticuerpos específicos, mediante técnicas de doble inmunodifusión.

### MATERIALES Y MÉTODOS

Analizamos 1535 muestras, remitidas al laboratorio del centro para investigar la presencia de autoanticuerpos, con y sin enfermedad reumática conocida, durante un periodo comprendido entre enero de 1996 y marzo de 1998. La solicitud de AAN en el grupo de autoanticuerpos pedidos fue el criterio de selección. Se cuenta con registros computarizados que incluyen al 100% de las muestras.

Estudiamos los AAN en todos los sueros mediante IFI, utilizando como sustrato células HEpII

(Kallestad), y suero antiinmunoglobulinas totales marcadas con fluoresceína. El grueso de los estudios fue valorado por dos observadores distintos que acordaron el título y patrón de cada muestra. Los patrones han sido comparados con los de referencia del Center for Disease Control (CDC, Atlanta, Estados Unidos). Se trabajó con una dilución inicial de las muestras de 1/40, con posterior titulación de aquellas que resultaron positivas. La lectura se efectuó con un microscopio de fluorescencia equipado con epiiluminación (Nikon), a 400 y 1000 aumentos. La presencia de autoanticuerpos dirigidos contra los ENA se investigó por doble inmunodifusión, independientemente del título y patrón del AAN. Para ello utilizamos como fuente de antígeno, extracto de timo de conejo y bazo de carnero (Peel Freez, Arkansas, USA con garantía del fabricante para la presencia de todos los antígenos estudiados) y sueros de referencia del CDC y de la Arthritis Foundation, USA.

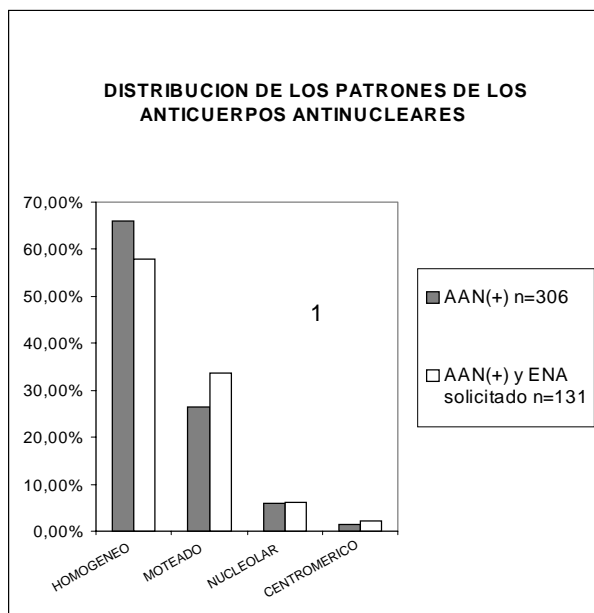
Los datos fueron analizados con el programa Epi 6, versión 6.01 (CDC).

### RESULTADOS

De los 1535 sueros analizados, 306 (20%) resultaron positivos para AAN por IFI. La distribución de patrones fue la siguiente: homogéneo: 66% (n: 202), moteado fino o grueso: 26.5% (n: 81), centromérico: 1,6% (n: 5), nucleolar moteado u homogéneo: 5,9% (n: 18) (fig.1). Titulamos a 300 de 306 sueros. La distribución de los títulos fue la siguiente: 1/40: 44,7% (n: 134), 1/80: 17,7% (n: 53), 1/160: 9,3% (n: 28), 1/320: 9% (n: 27), 1/640: 10,7% (n: 32), 1/1280: 8% (n: 24), 1/2560: 0,3% (n: 1) y 1/5120: 0,3% (n: 1) (fig.2).

De las 306 muestras que resultaron AAN positivo, 131 tuvieron en forma conjunta solicitud de anticuerpos dirigidos hacia uno o más de los siguientes ENA: Ro, La, Sm y RNP. Las muestras AAN negativas no se estudiaron, ya que es escasa la probabilidad de encontrar un anti ENA en muestras que son negativas por IFI con sustrato Hep II<sup>7</sup>. Las 131 muestras en las que se pidió ENA presentaban por IFI los siguientes patrones: 76(58%): homogéneo, 44(34%): moteado, 3 (2%) centromérico y 8 (6%) nucleolar (Fig.1).

En 24 (18.3%) de los 131 sueros detectamos anticuerpos contra uno o más de los ENA estudiados. Como se ve en la tabla 1, todos los sueros que encontramos positivos para ENA tuvieron un título de AAN mayor o igual a 1/160, y en el 87,5% el título fue superior a 1/320.



**Figura 1.** Distribución de los patrones de los anticuerpos antinucleares

En el grupo de sueros con AAN positivo y patrón homogéneo a los que les realizamos ENA (n:76), sólo 2 fueron positivos (2,6%), en el grupo de AAN positivo con patrón moteado a los que les realizamos ENA (n:44), 22 (50%) identificaron ENA por doble inmunodifusión. Finalmente no observamos ningún ENA positivo en los sueros con patrón nucleolar.

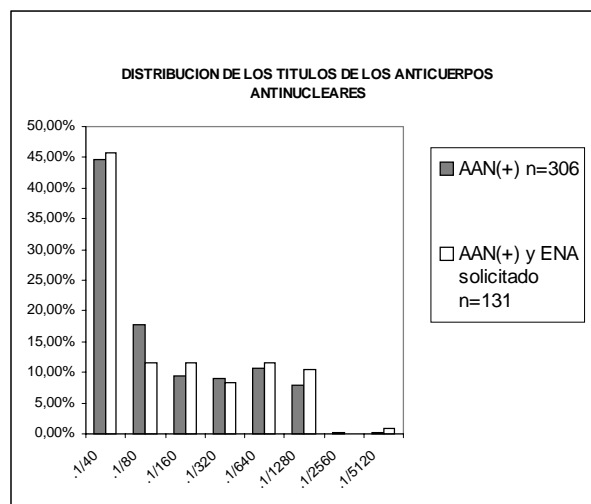
Resumiendo, entre las 24 muestras ENA positivo, 22 se correspondían con un patrón moteado y las 2 restantes tenían patrón homogéneo (una fue Ro-La positiva y la otra Ro/Sm-RNP positiva), además todas ellas tenían títulos mayores o iguales a 1/160.

En 107 oportunidades se solicitó al laboratorio la búsqueda de ENA cuyo resultado fue negativo. En 75 muestras (69,4%), los títulos de AAN fueron de 1/40 y 1/80.

Utilizando tablas 2x2 para la población con ENA estudiado, el valor predictivo positivo (VPP) para aquellas con título de AAN igual o mayor a 1/160 fue del 41%, el VPP para aquellas con título de AAN igual o mayor a 1/160 y patrón moteado es del 76%. El valor predictivo negativo para aquellas muestras con título de AAN menor a 1/160 es del 100% (tabla 2).

**Tabla 1.** Distribución de los títulos y patrones de los anticuerpos antinucleares en la población con solicitud de ENA

DISTRIBUCION DE LOS TITULOS Y PATRONES DE LOS ANTICUERPOS ANTINUCLEARES EN LA POBLACION CON SOLICITUD DE ENA			
131 SOLICITUDES DE ENA (SSa/Ro, SSb/La, Sm y RNP)			
ENA (+) N=24 (18,3%)		ENA (-) N= 107 (81,7%)	
Patrón moteado	n= 22 (92%)	Patrón moteado	n=22 (21%)
Patrón homogéneo	n= 2 (8%)	Patrón homogéneo	n=74 (69%)
Título > o = 1/160	n= 24 (100%)	Título < 1/160	n=80 (75%)
Título > 1/320	n= 21 (87,5%)		



**Figura 2.** Distribución de los títulos de los anticuerpos antinucleares

## COMENTARIOS

El desarrollo de mejores técnicas inmunológicas para la detección de autoanticuerpos ha logrado mejorar enormemente el diagnóstico de las enfermedades autoinmunes. Para el grupo de enfermedades que afectan el tejido conectivo, la presencia de determinados autoanticuerpos se correlaciona con la presencia de enfermedades o síntomas definidos, o bien predice su desarrollo en el tiempo. Dada la frecuente superposición de síntomas y enfermedades, los médicos clínicos solicitan un «panel» de autoanticuerpos en forma mas o menos rutinaria. La utilización masiva de estas técnicas no contribuye necesariamente a aumentar la información obtenida simplemente a través de AAN.

Como se demuestra en nuestro trabajo y en el de otros<sup>5,6,7</sup>, en aquellos laboratorios que tienen solo la posibilidad de realizar IFI e inmunodifusión, no parece racional investigar la presencia de autoanticuerpos dirigidos contra ENA, cuando el título del AAN es igual o inferior a 1/80. En el mercado se encuentran técnicas de inmunoblotting o ELISA con mayor sensibilidad y variable especificidad (8,9,10,11), que podrían ayudar a resolver aquellas muestras conflictivas, que provienen de pacientes con evidencia clínica de enfermedad y títulos de AAN menores a 1/160.

Si se da al laboratorio la libertad de interrumpir la investigación de sueros que cumplan estas condiciones, se lograría un ahorro sustancial en recursos, que debidamente administrados, podrían enriquecer el diagnóstico del laboratorio de estas o cualquier otra patología. Así mismo, si existiera la potencial

**Tabla 2.** Investigación de ENA

Investigación de ENA	Título del AAN > o = 1/160	Título de AAN > o = 1/160 y patrón moteado
Valor predictivo positivo	41%	76%
Valor predictivo negativo	100%	98%

libertad del laboratorio de continuar, en ciertas circunstancias, con el estudio de determinados sueros para la detección de anticuerpos más específicos, se podría realizar un análisis completo y útil, sin que esto significara mayor molestia para los pacientes (extracciones sucesivas, etc.). Esta situación sólo es posible cuando este tipo de estudios los realizan laboratorios con entrenamiento suficiente para valorar los resultados y su implicancia clínica.

#### **BIBLIOGRAFÍA**

1. Hughes GR. Autoantibodies in lupus and its variants: experience in 1000 patients. *Br Med J.* 1984; vol 289: 339-345.
2. Von Mühlen CA, Tan EM. Autoantibodies in the diagnosis of systemic rheumatic diseases. *Sem Arthritis and Rheum.* 1995; 24,5: 323-358.
3. Pisetsky DS. Antinuclear antibodies. *Immunology and Allergy Clínic of North América.* 1994; 14,2.
4. Swaak AJG, Huysen V, Smeenk RJT. Antinuclear antibodies in routine analysis: the relevancia of putative clinical associations. *Ann Rheum Dis.* 1993; 52: 110-114.
5. Homburger HA. Cascade testing for autoantibodies in connective tissue diseases. *Mayo Clin Proc.* 1995; 70: 183-184.
6. Moder KG. Use and interpretation of rheumatologic tests: a guide for clinicians. *Mayo Clin Proc.* 1996; 71: 391-396.
7. Tan E.M. y col. Range of antinuclear antibodies in healthy individuals. *Arthr. And Rheum.* 1997; 40,9 : 1601-1611.
8. Manoussakis MN, Kistis KG, Liu X, Aidinis V, Guialis A, Moutsopoulos HM. Detection of anti Ro(SS-a) antibodies in autoimmune diseases: comparison of five methods. *Br J Rheum.* 1993; 32: 449-455.
9. Bridges AJ, Lorden T E, Havighurst TC. Autoantibody testing for connective tissue diseases. Comparison of immunodiffusion, immunoblot, and Enzyme Immunoassay. *Am J Clin Pathol.* 1997; 108: 406-410.
10. Sanchez-Guerrero J, Lew RA, fossel AH, Schur PH. Utility of anti-Sm, anti-RNP, anti Ro/SS-A, and anti La/SS-B (extractable nuclear antigens) detected by Enzime-linked immunosorbent assay for the diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Arth and Rheum.* 1996; 34, 6: 1055-1061.
11. Juby A, Jhonston C, Davis P. Specificity, sensitivity and diagnostic predictive value of selected laboratory generated autoantibody profiles in patients with connetive tissue diseases. *J rheumatol.* 1992; 18: 354-358.