
MEDICINA AL DIA

"ANTICUERPOS ANTINUCLEARES Y SU VALOR DIAGNOSTICO"

- * Dra. Mariella Bobadilla P.
- ** Dr. Jorge Gobaira M.
- *** Dr. Pedro A. Reyes L.

Las enfermedades reumáticas generalizadas: Lupus Eritematoso Sistémico (LES). Enfermedad mixta del Tejido Conectivo (EMTC), Artritis Reumatoide (AR), Esclerosis

- * Reumatólogo, Departamento Inmunología, Instituto Nacional Cardiología "Ignacio Chávez", de México. Dirección Actual: Hospital Militar "Dr. Enrique W. Lithgow Ceara", E.N., Santo Domingo.
- ** Reumatólogo, Departamento Reumatología, Instituto Nacional Cardiología "Ignacio Chávez", de México.
- *** Inmunólogo, Jefe Departamento Inmunología, Instituto Nacional Cardiología "Ignacio Chávez", de México, D. F.

Sistémica Progresiva (ESP), Poli-Dermatomiositis (PM-DM), y otras condiciones clínicas no reumáticas, con frecuencia muestran alteraciones serológicas.¹ Una de estas es la presencia de autoanticuerpos, de los cuales aquellos dirigidos contra componentes macromoleculares del núcleo celular, Anticuerpos Antinucleares (AAN) son, por su frecuencia y significado clínico, los que resultan de interés para el médico reumatólogo o no. Sin embargo, suele ser difícil decidir sobre el valor clínico de estos anticuerpos en un caso determinado, pues la información escueta del laboratorio en ocasiones confunde. ¿Cuál es el valor diagnóstico?, ¿Cuál es el título significativo?. Estas son algunas de las preguntas que con frecuencia escuchamos.

El propósito de este trabajo es poner al alcance del médico no reumatólogo, una visión panorámica de los AAN, de

los métodos de laboratorio con que se cuenta en la actualidad para detectarlos y su significado en la clínica.

I) ANTIGENOS NUCLEARES

Son muchas las macromoléculas nucleares que actúan como antígenos, reaccionando con anticuerpos antinúcleo, ellas son: (Tabla I). El DNA nativo o bicatenario, es el DNA de doble cadena, íntegro, mientras que el DNA desnaturizado es un DNA que se ha fragmentado pudiendo estar en forma de un sólo filamento o simples fragmentos de bases purínicas, pirimidínicas y azúcares-fosfato (Fig. 1).

Las Histonas, son proteínas básicas que se encuentran en contacto directo con el DNA en la cromatina, (Fig. 2). Cuatro Histonas forman un nucleosoma, sobre el cual se enrolla el DNA. Estas proteínas juegan un papel importante en la expresión del genoma. Las nucleoproteínas solubles (NPS) corresponden al complejo deoxiribonucleohistonas.

Las proteínas no histonas, son proteínas ácidas nucleares. En estudios recientes,² se ha demostrado que 2 de estos antígenos denominados RNP y SM, que son reconocidos por anticuerpos presentes en el suero de pacientes con LES, están localizados en pequeñas partículas que contienen un diminuto complejo de RNA nuclear unido a proteína. Asimismo se demuestra en este estudio que los antígenos RO y LA también llamados SSB y SSA relacionados al síndrome de Sjögren y al LES respectivamente corresponden también a ribonucleoproteínas. Es por esto que a lo largo de este trabajo llamaremos a las proteínas no Histonas, ribonucleoproteínas.

FIGURA No.1

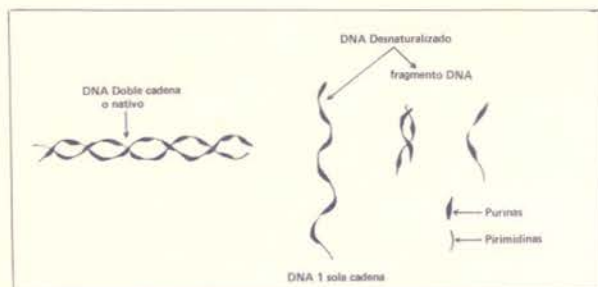
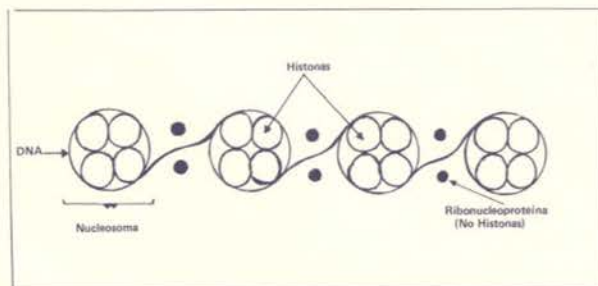


FIGURA No.2



II) ANTICUERPOS ANTINUCLEARES

Los AAN son inmunoglobulinas, generalmente del tipo de la IgG, IgM, más raramente IgA, dirigidos contra macromoléculas nucleares y representan un fenómeno de autoinmunidad.

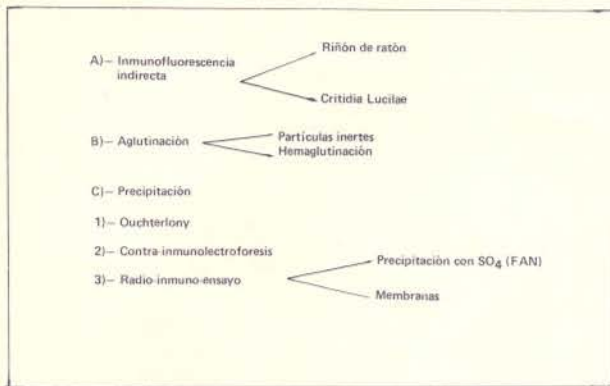
El llamado fenómeno de LE o células de LE, descrito por Hargraves en 1948,^{3,4} en médula ósea, ocurre en presencia de IgG que reacciona con la deoxiribonucleo-proteína en el núcleo de leucocitos. La cromatina alterada y la inmunoglobulina forman una masa homogénea que es ingerida por un leucocito polimorfo-nuclear, dando lo que conocemos como célula de L. E.

Muchos otros AAN han sido reconocidos y son de gran utilidad en el diagnóstico de las enfermedades reumáticas generalizadas, pues algunos se presentan en forma exclusiva en ciertas condiciones,^{5, 6, 7, 8, 10, 11}, otros a pesar de aparecer en varias, sólo se presentan a títulos elevados en una de ellas. Por ejemplo: el RNP-N se encuentra tanto en LES como en la EMTC, sin embargo, solo en la última aparece a títulos mayores de 1:100,000, por lo que se considera un marcador de esta condición,^{12, 13}. Por otro lado algunos de estos anticuerpos han sido involucrados en forma específica en el mecanismo etiopatogénico de las complicaciones de estas enfermedades; es el caso del anticuerpo contra DNA que ha sido relacionado a la glomerulonefritis del LES, ya que este anticuerpo ha sido detectado en la membrana basal del riñón en pacientes lúpicos portadores de nefropatía.^{14 15}

En la siguiente tabla se detallan los principales AAN y su relación con cada enfermedad.

I) Ac a DNA:	
a) Ac a DNA _n	exclusivo LES (asociado a nefropatía)
b) Ac a DNA _d	LES, AR, S. AJOGREN LE por drogas.
c) Ac a NPS (complejo DNA-Histona)	Fenómeno LE clásico LES, AR, LE por drogas H ₂ A y H ₂ B-LE por drogas H ₃ y H ₄ - LES.
II) Ac a Histonas.	
III) Ac a Ribonucleo-proteína (no Histonas)	
a) anti-SM	exclusivo LES
b) anti-RNP-N	Marcador de EMTC a títulos mayores de 1:1000,000 presentes en LES, AR, ESP
c) anti-SSA (antígeno-especie específico)	S. Sjögren, LES marcador S. Sjögren
d) anti-SSB	
e) anti-RANA (antígeno especie específico)	marcador de AR
f) anti-SCL-I	marcador de ESP
g) anti-PM-I	marcador de PM
h) anti-RNA-nucleolar	marcador ESP, se ve en LES.

TABLA No. 1



A pesar de la gran ayuda que ofrece el detectar estos AAN en el diagnóstico de las enfermedades reumáticas generalizadas, no pueden o deben utilizarse como criterios diagnósticos de estas condiciones, según lo establecido por la American Rheumatism Association (ARA), y como dato aislado debe tomarse con cautela, ya que en un 3-5 o/o de sujetos sanos pueden tener AAN positivos y con la edad este porcentaje subir hasta un 10 o/o, asimismo otras condiciones no reumáticas como por ejemplo: Hepatitis crónica activa, pueden presentar AAN. Es aquí donde la caracterización de los mismos es de vital importancia. Por otro lado debe subrayarse que la persistencia de AAN en un paciente en tratamiento, de ninguna manera puede utilizarse como único parámetro de la actividad de la enfermedad, ya que los mismos pueden persistir positivos aún en presencia de remisión clínica, por un tiempo variable.

III) METODOS DE LABORATORIO

Se cuenta en la actualidad con métodos sensibles para detectar y cuantificar anticuerpos contra estructuras nucleares (Tabla 2).

TABLA No. 2

- 1)– ACIDO DEOXIRIBUNUCLEICO NATIVO (DNA_n).
- 2)– ACIDO DEOXIRIBUNUCLEICO DESNATURALIZADO (DNA_d).
- 3)– NUCLEO PROTEINA SOLUBLE (NPS), complejo deoxiribonucleo histona.
- 4)– HISTONAS.
- 5)– ACIDO RIBONUCLEICO.
- 6)– ACIDO RIBONUCLEICO NUCLEOLAR.
- 7)– RIBONUCLEO PROTEINA (Proteínas no Histonas).

Macromoléculas nucleares que reaccionan con anticuerpos antinúcleo.

La inmunofluorescencia indirecta, método de alta sensibilidad es el método inicial de rastreo en la búsqueda de AAN (Fig.3). En ella se utiliza como substrato cortes de tejido ge-

FIGURA No.3

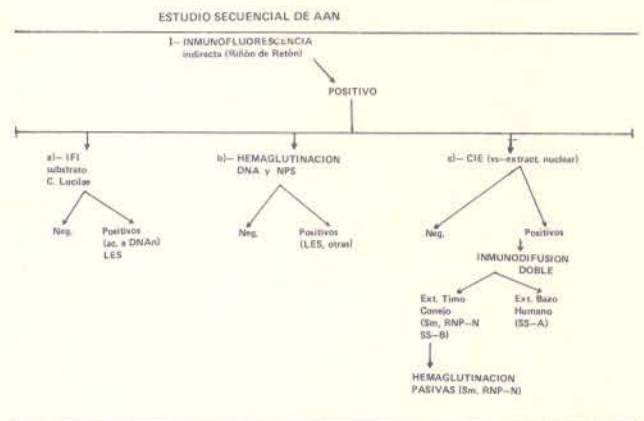
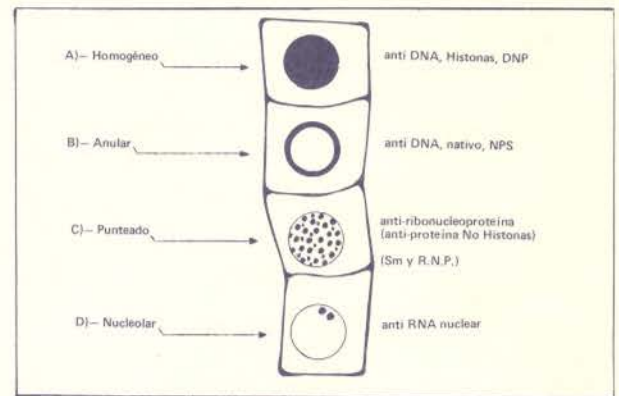


FIGURA No.4



neralmente riñón de ratón que se pone en contacto con el suero del paciente a diluciones de I:4, I:16 inicialmente, agregando posteriormente una antigammaglobulina de tipo IgG obtenida de suero de cabra o conejo sensibilizados con IgG humana. Esta antigammaglobulina es fluorescentada de forma que si el paciente posee en su suero anticuerpos dirigidos contra estructuras nucleares, estos forman un complejo con la antiglobulina fluorescentada que puede ser detectada entonces en los núcleos del tejido utilizado como substrato, mediante un microscopio de fluorescencia. Este método introducido por Friou en 1957, ha permitido reconocer 4 patrones de fluorescencia nuclear (Fig. 4). La negatividad de la prueba prácticamente descarta el LES, recordando siempre que existe un bajo porcentaje de estos pacientes¹⁶ que no presentan AAN positivos por esta prueba, así como los pacientes en terapia esteroidea o citotóxica. En las otras enfermedades reumáticas generalizadas el porcentaje de negatividad suele ser mayor, por lo que deben ser estudiados por otros métodos. De igual manera la positividad debe interpretarse en función de los títulos dilutorios. Una prueba positiva a título de I:16 o mayor se estudian a diluciones mayores de I:64, I:256 o más, pasando posteriormente a estudio de especificidad del AAN (Fig. 4).

Por el método de hemaglutinación de eritrocitos sensibilizados con DNA o NPES, identificamos autoanticuerpos contra estructuras, sin embargo, no nos permite saber si el anticuerpo está dirigido contra DNAn, para lo cual los sueros son estudiados por inmunofluorescencia indirecta usando como substrato un flagelado, la *Critidia Lucilae* que posee en su cinetoplasto, una molécula de DNAn. Este método es el más sensible para detectar anticuerpos contra DNA de doble cadena, ya que los preparados comerciales vienen contaminados con fragmentos de DNA.

Los anticuerpos a ribonucleo-proteína, se buscan por medio de contra inmunoelectroforesis, que consiste en hacer pasar una corriente eléctrica a través de una placa de agarosa, donde se han colocado el antígeno (ETCo EBH)* y el suero del paciente (anticuerpo), estos difunden en la agarosa de acuerdo a su carga eléctrica (en sentido inverso), formando una línea de precipitación detectable. Para caracterizar estos anticuerpos se utiliza entonces técnica de inmunodifusión doble de agarosa (método de Ouchterlony), mediante comparación con un anticuerpo prototipo.

IV) CONCLUSIONES:

El desarrollo de AAN es expresión de autoinmunidad como mencionamos al principio. En el sistema inmunológico normal se genera respuesta autoinmune que es de carácter transitorio, la causa de que estos AAN persistan siendo capaces de producir lesión tisular es desconocida, parece ser que es un proceso multifactorial donde el desequilibrio entre la estructura genética peculiar del individuo, el comportamiento biológico y los agentes ambientales juegan un papel importante.

El estudio de los fenómenos inmunológicos que ocurren en las enfermedades reumáticas han permitido un mejor entendimiento de la etiología de estas enfermedades y un diagnóstico más temprano de las mismas, las cuales muchas veces no se presentan en su forma clásica florida, cambiando el concepto que se tiene de la "rareza" con que ocurren, así como el tratamiento de estos pacientes que con frecuencia van al médico no reumatólogo, sin que su sintomatología pueda ser encasillada en una patología específica, llevando en muchas ocasiones a la muerte del paciente por una terapia inapropiada, por desconocimiento que frecuentemente se etiqueta con el término de "Origen Desconocido", "En Estudio", o de "Origen a Determinar".

Aún cuando solo empezamos a estudiar receptores se viene utilizando lo poco se conoce hace años. Como ejemplos se pueden citar los antihistamínicos, de los cuales hay dos grandes grupos: a) — Los H₁ (ej. difenhidramina) que median en las reacciones alérgicas; y b) — Los H₂ (ej. cimetidina) que median en la producción de ácido gástrico. En la cardiología se usa el propranolol, un bloqueador B-adrenérgico que se usa para controlar trastornos de ritmo, hipertensión y angina. Los bloqueadores B también se usan en la terapia antiasmática.

El fenómeno de la comunicación entre células es un

campo fértil y exitante para la investigación. Quizás en un futuro cercano veamos terapia de desórdenes psiquiátricos con modificación de receptor o de mensajero. Con las nuevas técnicas de ingeniería genética es factible que pronto se preparen bacterias para fabricar encefalinas y encontremos las encefalinas entrando en el campo de la terapéutica como antiálgicos naturales y poderosos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.— Rosental, J. M., Conceptos sobre la Arquitectura de la Membrana Celular, Acta Médica Dominicana.
- 2.— O'Malley, B. W. y Schrader, W. T., The Receptors of Steroid Hormones, Scientific American, Vol. 234, 32—43, 1976.
- 3.— Klein, L. A., Prostatic Carcinoma, NEJM, Vol. 300, 824—833, 1979.
- 4.— Lippman, M. E. y Allegra, J. C., Receptors in Breast Cancer, NEJM, Vol. 299, 930—932, 1978.
- 5.— Henderson, I. C. y Canellos, G. P., Cancer of the Breast, NEJM, Vol. 302, 17—30 y 78—90, 1980.
- 6.— Holland, J. F., Breast Cancer and Chemotherapy, Science, Vol. 192, 1976.
- 7.— Imperato-McGinley, J., Peterson, R. E., Gautier, T. y Sturla, E., Androgens and the Evolution of Male-Gender Identity Among Male Pseudohermaphrodites with 5 α -Reductase Deficiency, NEJM, Vol. 300, 1233—1237, 1979.
- 8.— Peterson, R. E., Imperato-McGinley, J., Gautier, T. y Sturla, E., Male Pseudohermaphroditism Due to Steroid 5 α -Reductase Deficiency, Amer. J. of Medicine, Vol. 62, 170—189, 1977.
- 9.— Bleier, R., Why Does a Pseudohermaphrodite Want to be a Man?, NEJM, Vol. 301, 839—840, 1979.
- 10.— Baxter, J. D. y Funder, J. W., Hormone Receptors, NEJM, Vol. 301, 1149—1161, 1979.
- 11.— Rubenstein, E., Diseases Caused by Impaired Communication Among Cells, Scientific American, Vol. 241, 102—121, 1979.
- 12.— Karlin, A., Molecular Interactions of the Acetylcholine Receptor, Fed. Proc., Vol. 32, 1847—1853, 1973.
- 13.— Adams, R., Myasthenia Gravis and Episodic Muscular Weakness, en Harrison's Principles of Internal Medicine, editor G. W. Thorn, octava edición, McGraw Hill Book Co., N.Y. 1977.
- 14.— Craighead, J. E., Current Views on the Etiology of Insulin Dependent Diabetes Mellitus, NEJM, Vol. 299, 1439—1445, 1978.
- 15.— Maugh, T. H., Hormone Receptors: New Clues to the Cause of Diabetes, Science, Vol. 193, 220—222, 1976.
- 16.— Guyton, A. C., Structure and Function of the Nervous System, W. B. Saunders Co., Philadelphia, 285—292, 1976.
- 17.— Norris, D.M. y Chu, H. M., Chemosensory Mechanism in Periplaneta americana: Electroantennogram Comparisons of Certain Quinone Feeding Inhibitors, J. Insect Physiol., Vol. 17, 85—97, 1974.
- 18.— Henkin, R. I. y Bradley, D. F., Regulation of Taste Acuity by Thiols and Metal Ions, Proc. Nat. Acad. Sci., USA, Vol. 62, 30—37, 1969.
- 19.— Rosental, J. M. y Norris, D.M., Chemosensory Mechanism in American Cockroach Olfaction and Gustation, Nature, Vol. 244, 370—371, 1973.
- 20.— Rosental, J. M., Singer, G. y Norris, D. M., Affinities of Certain Quinone Repellents for Detergent Solubilized Proteins from Periplaneta americana Antennae, Biochem. Biophys. Res. Comm., vol. 65, 1040—1046, 1975.
- 21.— Singer, G., Rosental, J. M. y Norris, D. M., Sulphydryl Groups and the Quinone Receptor in Insect Olfaction and Gustation, Nature, Vol. 256, 222—223, 1975.
- 22.— Pert, C. B. y Snyder, S. H., Opiate Receptor: Demonstration in Nervous Tissue, Science, Vol. 179, 1011—1014, 1973.
- 23.— Snyder, S. H., Receptors, Neurotransmitters and Drug Responses, NEJM, vol. 300, 465—472, 1979.
- 24.— Hirata, F. y Axelrod, J., Phospholipid Methylation and Biological Signal Transmission, Science, vol. 209, 1082—1090, 1980.

* extracto de timo de conejo.
extracto de bazo humano.