

Laboratorio Inmunológico en Reumatología

Paola Toche P.
Inmunóloga Clínica
Hospital Clínico Universidad de Chile

Anticuerpos antinucleares

Los anticuerpos antinucleares (ANA) son autoanticuerpos dirigidos contra estructuras del núcleo o estructuras presentes en el citoplasma, pero que provienen del núcleo. Se distinguen dos tipos de antígenos nucleares:

1. Antígenos nucleares solubles en solución salina: estos antígenos son cada vez más numerosos debido a los avances en el conocimiento de la biología molecular. Los más conocidos son los antígenos Sm, U1 RNP, Ro, La y otros.

2. Antígenos nucleares insolubles en solución salina: ellos corresponden a los ácidos nucleicos y a las proteínas asociadas a la cromatina. Los más utilizados en clínica son el ADN y las histonas, entre otros.

Estructuras del núcleo

Como se mencionó previamente, los anticuerpos antinucleares se dirigen contra antígenos (Ag) presentes principalmente en el núcleo, por lo que es importante conocer la organización nuclear.

Las principales estructuras del núcleo son:

1. Los ácidos nucleicos que corresponden al ADN y el ARN, y
2. Las proteínas ligadas a estos ácidos nucleicos.

Dentro de las proteínas relacionadas al ADN destacan las histonas y algunas enzimas.

Dentro de las proteínas relacionadas con el

RNA están las ribonucleoproteínas, por ejemplo, Ro y La, entre otras.

En resumen, en el núcleo encontramos:

1. Ácidos nucleicos: ADN y ARN
2. Proteínas a) ligadas al ADN (histonas y enzimas)
b) ligadas al ARN (Ro, La, otras ribonucleoproteínas, etc.)

1. ACIDOS NUCLEICOS

ADN

El ADN codifica toda nuestra información genética y está presente en el núcleo y nucléolo de todas las células.

La unidad básica del ADN es el nucleótido, que está formado por una pentosa (desoxirribosa), una base nitrogenada (purina y pirimidina) y una molécula de fosfato.

El ADN es una doble hélice constituida por dos cadenas antiparalelas de nucleótidos. La doble hélice puede disponerse espacialmente hacia la derecha (disposición **B**) o disponer la doble hélice hacia la izquierda (disposición **Z**).

ARN

Es el otro ácido nucleico y está constituido por una sola cadena de nucleótidos. El ARN está presente en el núcleo, especialmente en nucléolo, y también en citoplasma, específicamente en los ribosomas.

Existen varios tipos de ARN que cumplen diferentes funciones relacionadas principalmente con la síntesis proteica. Estos ARN son el ARN ribosomal, el ARN de transferencia, el ARN mensajero y los pequeños ARN del núcleo.

Los ARN pequeños son de bajo peso molecular y se denominan **sn ARN** (de *small nuclear* ARN). Se han identificado a la fecha más de 22 tipos de sn ARN y se les denomina U ARN debido a que son ricos en uracilo. Se les ha numerado anteponiendo el prefijo U, que va de U1 a U22 ARN.

Otros ARN de bajo peso molecular son los **hy ARN** (de *human cytoplasmic* ARN) y los **sno ARN** (de *small nucleolar* ARN)

2. PROTEINAS

a) Proteínas ligadas al ADN

Están constituidas principalmente por las histonas y las enzimas.

Histonas. Las histonas son proteínas básicas que poseen carga negativa y que se asocian al ADN, que es ácido, el cual tiene carga positiva. Casi todo el ADN está ligado a las histonas para formar la cromatina.

Hasta el momento se han identificado 5 tipos de histonas: H1, H2A, H2B, H3 y H4.

El DNA se enrolla en las histonas H2A, H2B, H3 y H4 para formar el complejo nucleoproteico o core, que es la unidad básica de la cromatina, la cual es un octámero. La histona H1 se asocia al core para formar el nucleosoma.

La función fisiológica de las histonas es descondensar el ADN para que sea replicado a ADN o transcrito a ARN.

Enzimas: Muchas enzimas están involucradas con diversas funciones de los ácidos nucleicos; entre ellas podemos mencionar:

- La ADN polimerasa, cuya función es la replicación del ADN.
- La **ADN topoisomerasa**, cuya función es cortar los enlaces del ADN para desenrollarlo y posteriormente poder ser transcrito.
- La ARN polimerasa, cuya función es la transcripción de ADN a ARN.
- Las polipolimerasas: su función es regular las interacciones entre el ADN y proteínas nucleares tales como las **CENP**, que son proteínas del centrómero involucradas en la mitosis.

b) Proteínas ligadas al ARN

Las proteínas ligadas al ARN están constitui-

das principalmente por ribonucleoproteínas, que poseen diferentes denominaciones según el tipo de ARN al que se unen. Existen tres tipos de ribonucleoproteínas (RNP):

1. La sn ribonucleoproteína (sn de *small nuclear*): los sn ARN se unen a péptidos llamados A, B, B', C, D, E, F, G y la proteína 68 para formar complejos ARN-péptidos denominados sn ribonucleoproteínas (sn RNP). Los antígenos de estos complejos son algunos de los péptidos ya mencionados. El antígeno más conocido y uno de los más abundantes en el núcleo perteneciente a este grupo es el U1 RNP.

2. Las sc ribonucleoproteínas (sc de *small cytoplasmic*): los sc ARN están unidos también a péptidos; ejemplo de estas ribonucleoproteínas son el Ag **Ro** y **La**. Los péptidos que constituyen el Ag Ro tienen tres isoformas, de peso molecular 60 kDa, 54 kDa y 52 kDa, los cuales varían para LES o síndrome de Sjögren. El Ag La está constituido por un péptido con un peso molecular de 46 a 48 kDa.

3. Las sno ribonucleoproteínas (sno de *small nucleolar*): los sno ARN, especialmente U3 ARN, se unen a proteínas como la fibrilarina.

Anticuerpos antinucleares (ANA)

Historia

La primera célula lúpica fue descrita en 1948 por Hargraves en el frotis de la médula ósea de un paciente con LES. En 1957 se determinó que el antígeno era el nucleosoma, es decir, el ADN unido a las histonas, como se mencionó previamente.

La célula lúpica corresponde entonces a un PMN que fagocita el núcleo (previamente alterado) de un linfocito o PMN cubierto por un anticuerpo dirigido a un Ag presente en el nucleosoma.

Método de detección de los ANA

En la actualidad la detección de los ANA se sigue haciendo por el método de inmunofluorescencia indirecta (IFI). Esta técnica puede realizarse en cortes de tejidos (hígado y riñón de ratas) o en frotis de líneas celulares de carcinoma laríngeo denominadas células Hep 2. Estas células tienen

el mayor rendimiento en la detección de los ANA.

Los ANA se pueden determinar también por ELISA o Western blott (WB); sin embargo, mediante IFI se han identificado más de 30 anticuerpos con distintas especificidades (cuyo significado aún no se conoce del todo) y por ELISA o WB sólo se dispone de 10 o 12 Ag.

Existen estudios que han intentado comparar la detección de los ANA con IFI vs ELISA cuyas conclusiones no son siempre concordantes. En la mayoría de estos estudios no se correlacionan los resultados con la clínica. Un estudio que comparó los resultados obtenidos con ambos métodos y los correlacionó con la clínica concluyó que la detección de los ANA aún no es fácil y definió las ventajas y desventajas de ambos métodos:

— La detección mediante la IFI tiene como desventaja el presentar mucha variabilidad intra e interlaboratorio y el poseer un valor predictivo positivo bajo para LES de aproximadamente un 11% a un 13%, es decir, sólo el 11% al 13% de los pacientes con ANA positivos tienen LES. La ventaja de la IFI como método de pesquisa para los ANA es el detectar antígenos nucleares “desconocidos” y poseer un valor predictivo negativo alto para LES, permitiendo así apoyar la exclusión del diagnóstico de LES, es decir, los ANA negativos alejan el diagnóstico de LES.

— Por otro lado, concluye que ELISA como método de detección de los ANA es una alternativa muy dependiente del tipo de *kit* utilizado, existiendo *kits* que fijan los antígenos sobre la placa y otros que utilizan extracto de núcleos enteros de células Hep 2 más el antígeno Ro sobre la placa (recordemos que el Ag Ro está presente principalmente en el citoplasma). Los *kits* que utilizan los extractos de núcleos enteros tienen mayor sensibilidad; sin embargo, poseen baja especificidad, es decir, tienen muchos falsos positivos. El método ELISA podría ser una alternativa de seguimiento para los pacientes con ANA positivo detectado por IFI.

Resultados e interpretación

Los ANA pueden informarse cualitativamente según los patrones que se expresen en la IFI; sin embargo, el real valor es el cuantitativo, es decir, si es positivo o negativo, lo cual no siempre es fácil de definir e interpretar.

La convención es aceptar como positivos los ANA en células Hep 2 en títulos de **1/40**.

El porcentaje de positividad de ANA en títulos de 1/40 en enfermedades del mesénquima es el siguiente:

Lupus sistémico	(LES)	95%
Artritis reumatoidea	(AR)	45%
Esclerodermia	(Escl)	75%
Síndrome de Sjögren	(SS)	52%
Polidermatomiositis	(DM/PM)	74%
Enf. mixta del tejido conectivo	(EMCT)	93%
Lupus inducido por drogas	(LI)	100%

Se ha observado que el corte del título de los ANA de 1/40 es sensible, pero poco específico, es decir, es adecuado como *screening*, porque casi todos los pacientes son positivos (evidentemente que los pacientes enfermos, pero también aquellos sanos, incluso llegando al 37% según las series). El corte de título de los ANA de 1/160 discrimina mejor aquellos pacientes sanos de los pacientes con LES, esclerodermia (Escl), síndrome de Sjögren (SS), pero no de aquellos pacientes con artritis reumatoidea (AR).

Algunos autores sugieren que cada laboratorio debería informar los ANA en dos diluciones (1/40 y 1/160) y el número de pacientes sanos con resultados positivos en estas diluciones con el fin de interpretar mejor este examen en relación al cuadro clínico.

Además, existen otras causas de ANA positivos que no se relacionan con enfermedades del mesénquima, por ejemplo, las neoplasias, leucemias agudas, hepatopatías agudas o crónicas, insuficiencia renal, mononucleosis, incluso pueden observarse durante el embarazo y la vejez. En general, en estas situaciones los ANA están presentes en títulos bajos.

Finalmente, ¿cuál es el significado clínico de los ANA positivos en títulos bajos en gente sana? No está del todo claro: podrían ser anticuerpos de baja afinidad por un antígeno nuclear determinado, puede ser un fenómeno transitorio postinfeccioso, puede ser un anticuerpo contra un antígeno que se exprese poco o finalmente podría ser un verdadero autoanticuerpo en bajas concentraciones.

Anticuerpos antiantígenos nucleares insolubles

Los Ag nucleares insolubles poseen la característica fisicoquímica de ser insolubles en solu-

ción salina. Estos antígenos están constituidos por los ácidos nucleicos y las proteínas ligadas a ellos.

Dentro de los ácidos nucleicos se distingue el ADN de cadena doble, también denominado bicatenario o nativo (por el estado natural en el que se le encuentra), y el ADN de cadena simple, llamado también monocatenario o denaturado.

Dentro de las proteínas se distinguen las histonas como Ag nuclear insoluble.

1. Anticuerpos (Ac) antiácidos nucleicos

Existen tres tipos de anticuerpos anti ADN:

1. Los Ac dirigidos exclusivamente contra el ADN bicatenario, cuya detección es excepcional y se dirigen específicamente contra formas de plegamiento B o Z del ADN

2. Los Ac dirigidos contra el ADN bicatenario (o nativo) y contra ADN monocatenario, cuyos Ag son la molécula de fosfato y desoxirribosa.

3. Los Ac dirigidos exclusivamente contra el ADN monocatenario o denaturado, cuya detección es frecuente y sus Ag son las bases nitrogenadas.

a) Ac anti ADN nativo

Los Ac anti ADN generalmente son de tipo IgG contra las formas de plegamiento B y Z del ADN tanto nativo (bicatenario) como monocatenario. Los Ac de tipo IgM pueden estar presentes en pacientes sanos y se dirigen principalmente contra ADN monocatenario.

Método de detección

Existen dos métodos para la detección de los Ac anti ADN, en fase líquida y en fase sólida:

1. En fase líquida: estas técnicas se realizan por radioinmunoensayo (RIA), de las cuales se distinguen:

a) La precipitación con sulfato de amonio, conocida como test de Farr, que utiliza ADN bicatenario marcado y que detecta Ac anti ADN de tipo IgG e IgM.

b) El tamizaje en filtro de nitrocelulosa.

2. En fase sólida:

a) Realizado por IFI en *Chrithidia lucillae* (protozoo con una estructura circular rica en ADN bicatenario dispuesta en un polo del microorganismo). Esta técnica sólo detecta Ac anti ADN bicatenario de tipo IgG.

b) Realizado sobre placas. El método de ELISA utiliza ADN bicatenario de mamíferos o bacterias. Esta técnica detecta las IgG anti ADN de alta y baja afinidad y puede dar resultados francamente positivos, es decir, IgG anti ADN bicatenario, o resultados débilmente positivos, que detectan IgG anti ADN monocatenario.

Resultados e interpretación

Los Ac anti ADN poseen una importancia indiscutida como sello y marcador de actividad en LES; sin embargo, pueden estar presentes en bajo porcentaje en otras enfermedades del mesénquima, como en la EMTC en hasta un 24% y en AR, SS y esclerodermia en menos del 5% detectados por método ELISA.

El rol patogénico de los Ac anti ADN ha sido documentado en el daño renal en pacientes con LES. En la glomerulonefritis se ha identificado la presencia de Ac anti ADN que forman complejos con el ADN. Este ADN podría estar presente en el medio extracelular proveniente de linfocitos T que liberarían mayor cantidad de nucleosomas por un proceso apoptótico aumentado.

Se ha observado que los Ac anti ADN son en su mayoría de subclase IgG 1 y 3, las cuales fijan complemento (C³), lo que explicaría el daño mediado por estos complejos inmunes; sin embargo, las IgG 2, que no fijan C³, también han sido encontradas en los glomérulos.

Recientemente se ha atribuido un rol importante a los Ac antinucleosomas, los cuales serían altamente específicos para el diagnóstico de LES y se correlacionarían con la actividad de la enfermedad. Recordemos que el ADN en su estado de reposo se encuentra asociado a las histonas, conformando los nucleosomas.

b) Ac anti DNA denaturado

El mayor valor de estos anticuerpos es de ser fuertemente orientadores hacia un cuadro de lupus inducido por drogas. Estos Ac están también presentes en el LES, AR, SS, esclerodermia, enfermedad mixta del tejido conectivo y hepatitis crónica.

Método de detección: ELISA y RIA.

2. Ac antihistonas

Las histonas son proteínas asociadas al ADN que participan en su embalaje.

La **función fisiológica** de las histonas es regular la transcripción del ADN.

Método de detección: ELISA, IFI y RIA.

Los Ac dirigidos contra estas proteínas asociadas al ADN están presentes principalmente en el lupus inducido por drogas (60-80%), en LES (40-50%), en AR (5-8%) y en sujetos normales hasta un 4%.

En el lupus inducido por procainamida los antígenos identificados son las histonas H2A y H2B y por hidralazina son las histonas H3 y H4.

Antígenos nucleares extractables o solubles (ENA)

Historia

El primer anticuerpo de este grupo en ser aislado fue el Ac anti Sm en un paciente con LES, luego se identificó el Ac anti U1 RNP, el que generalmente estaba asociado al anterior. Luego se descubrieron los Ac anti Ro y La. En la actualidad continúa la identificación de nuevos anticuerpos y sus antígenos nucleares.

Los Ag de Sm y U1 RNP serían del grupo de la sn ribonucleoproteínas (sn RNP).

Los Ag Ro y La son del grupo de las sc ribonucleoproteínas (sc RNP).

Ac anti Sm

Los Ag Sm son ribonucleoproteínas asociadas a pequeños ARN ricos en uracilo (sn ARN), dentro de los que destacan los U1, U2, U4/6 y U5 sn RNP, los cuales están asociados a los péptidos B, B', D, E/F y G.

El péptido B del Ag Sm y los péptidos A y C del Ag U1 RNP tendrían epítopes comunes y presentarían una reactividad cruzada, lo que explicaría la presencia simultánea no excepcional de ambos anticuerpos en el suero de pacientes.

Método de detección: ELISA.

La **función fisiológica** de este Ag es regular el *splicing* del pre ARN mensajero.

Pese a que las asociaciones clínicas y valor pronóstico de los Ac anti Sm son aún controversiales, no hay lugar a dudas de que su presencia se relaciona con el LES, ya que se ha determinado casi exclusivamente en los pacientes portadores de esta enfermedad en hasta un 30%, valor quizás subestimado, ya que se ha reportado pérdida del Ag Sm durante la preparación de los extractos celulares.

Ac anti U1 RNP

El Ag U1 RNP es también parte de las ribonucleoproteínas asociadas a RNA pequeños (sn RNA) ricos en uracilo. Es la RNP más abundante del núcleo y está constituido por 9 polipéptidos, 3 de ellos: los péptidos A, C y la proteína 70, son inmunorreactivos, especialmente la proteína 70.

Existe una importante correlación clínica entre la presencia de los Acs anti proteína 70 y la EMTC, ya que se encuentran en casi el 100% de los pacientes con esta mesenquimopatía y cerca del 30% de los pacientes con LES.

La **función fisiológica** de U1 RNP es regular el *splicing* del pre ARN.

Método de detección: ELISA, RIA.

Ac anti centrómero/kinetocoro

El centrómero es la región de constricción primaria de los cromosomas y el kinetocoro constituye la región funcional de la cromatina centromérica, que es el punto de unión del cromosoma en mitosis al huso del aparato mitótico.

Hasta el momento se han identificado seis proteínas del centrómero como Ag principales:

La proteína CENP-A hasta la CENP-F. Casi todos los sueros reaccionan contra CENP-B, la mitad es positiva para CENP-C y cerca del 43% reaccionan a CENP-E.

Los Ac anti centrómero están entre el 90% y 60% de los pacientes con CREST y en un 8% a un 15% de los pacientes con esclerodermia difusa.

Pueden estar presentes también en la EMTC (10%), hipertensión pulmonar y CBP.

La **función fisiológica** del centrómero es regular el movimiento de los cromosomas en división.

Método de detección: ELISA, IFI (sobre células en división).

Ac anti DNA topoisomerasa (Scl 70)

La topoisomerasa es una enzima nuclear involucrada en la replicación y transcripción del ADN. Su epítipo principal está en la región C terminal de 109 aminoácidos.

Los Ac anti Scl 70 están presentes en pacientes con esclerodermia difusa en 40% a 75%, 15% de pacientes con CREST y en menos de 5% de pacientes con EMTC.

Existe un estudio que ha correlacionado la presencia de estos Ac con un riesgo aumentado

de desarrollar fibrosis pulmonar en pacientes con esclerodermia. Otro estudio correlacionó la presencia de este Ac en pacientes con Raynaud con un mayor riesgo de desarrollar esclerodermia; sin embargo, faltan más estudios que lo confirmen.

La **función fisiológica** de la topoisomerasa es desenrollar la hélice del ADN para que sea transcrito.

Método de detección: ELISA.

Ac anti Ro

El Ag Ro es una ribonucleoproteína asociada a ARN pequeño que constituye el sc RNP (sc de *small cytoplasmic*). El Ag Ro está constituido por dos polipéptidos de 52 y 60 kDa cuyos epítopes son principalmente de tipo conformacional. Aun no está claro si el Ag Ro se encuentra en el núcleo o el citoplasma.

Los Ac anti Ro (SS-A) de pacientes con LES y síndrome de Sjögren (SS) reconocen diferentes epítopes en Ro 52.

Los Ac anti Ro están presentes en un 46% a 70% de los pacientes con SS y en un 35% de los pacientes con LES, en 85% a 95% de madres de hijos portadores de lupus neonatal, en un 80% de lupus cutáneo subagudo y en menos de un 5% en pacientes con EMTC y polidermatomiositis.

La **función fisiológica** del Ag Ro es desconocida.

Método de detección: ELISA.

Los pacientes con SS y Ac anti Ro presentan con mayor frecuencia manifestaciones extraglandulares, como vasculitis, linfoma y lesiones del SNC. Asimismo, en pacientes con títulos elevados de Ac anti Ro y La se ha evidenciado con mayor frecuencia la presencia de púrpura, leucopenia, linfopenia e hipergamaglobulinemia policlonal.

Ac anti La

El Ag La (SS-B) es una ribonucleoproteína de 50 kDa asociada a RNA pequeños del citoplasma que constituye la sc RNP y que está presente principalmente en el núcleo.

Los Ac anti La serían más específicos de SS, ya que están presentes en el 40% a 50% de los pacientes con esta patología y estarían sólo en el 15% de pacientes con LES. También los Ac anti Ro y La se han detectado en el citoplasma de las células plasmáticas de las glándulas salivales.

Al Ac anti La se le ha adjudicado un rol "protector" de daño renal en el LES, ya que pacientes que poseen sólo los Ac anti Ro presentarían con

mayor frecuencia nefritis que aquellos con Ac anti Ro y anti La juntos. Por otro lado, la presencia del Ac anti La se ha asociado a bajos títulos de Ac anti DNA, lo que podría explicar el menor compromiso renal.

La **función fisiológica** del Ag La es regular la adecuada terminación de la transcripción del ARN polimerasa III.

Método de detección: ELISA

Ac anti Jo-1 (histidil ARN sintetasa)

El Ag Jo-1 o histidil ARN sintetasa es parte del sistema enzimático llamado aminoacil ARNt sintetetas. Estas enzimas se asocian al ARN de transferencia, ejerciendo una función clave en la síntesis proteica.

Los Ac anti Jo-1 son un marcador serológico útil en miopatías inflamatorias, como PM/DM, presentándose en el 35% de los casos. Estos Ac distinguen un subgrupo de pacientes que presentan una alta incidencia de enfermedad intersticial pulmonar, artritis y fenómeno de Raynaud.

La **función fisiológica** de Jo-1 es catalizar la unión del ARN de transferencia a sus respectivos aminoácidos.

Método de detección: ELISA.

Factor reumatoideo

Historia

Meyer, en 1922, observó que los sueros de algunos enfermos aglutinaban con glóbulos rojos de cordero recubiertos con heteroanticuerpos. Waaler demostró 18 años más tarde que este fenómeno era más frecuente en pacientes con AR.

El Factor Reumatoideo (FR) son autoanticuerpos de tipo inmunoglobulinas M (IgM) dirigidos contra la fracción Fc de las IgG.

El fragmento Fc contra el cual reacciona el FR posee múltiples antígenos. Estos determinantes antigénicos serían de tipo conformacional y se ubicarían en el 2º y 3er dominio (CH2 y CH3) de la cadena pesada de la IgG clase 1, 2 y 4.

En general, los FR están dirigidos contra Ig de tipo IgG. Se ha reportado la presencia de FR dirigidos contra Ig de tipo IgA, lo que se ha observado en pacientes con déficit de IgA y aun más raro se han descrito FR dirigidos contra Ig de tipo IgE en pacientes con enfermedades alérgicas.

Los FR clase IgM se unen más frecuentemente a IgG agregadas o en complejos inmunes (CI) y

en menor proporción a Ig libres, lo que se explicaría tal vez por la capacidad de captar varias IgG a la vez o por exposición de nuevos sitios antigénicos.

Dentro de los FR se distinguen los FR "aglutinantes", que son IgM que aglutinan partículas o células cubiertas por IgG, los cuales son poli u oligoclonales, y los FR "no aglutinantes", que son generalmente IgG y tienden a agregarse entre ellos más que a reaccionar con IgG normales.

Existen tres subpoblaciones de FR, los que reaccionan contra: a) Ig de origen humano, b) contra Ig de origen animal (especialmente conejo) y c) contra ambos tipos de Ig. La afinidad de los FR es mayor por las IgG de conejo que las de origen humano.

Se ha observado que los FR pueden reaccionar cruzadamente con histonas, ADN monocatenario y Ag Ro.

Las Ig son glicoproteínas. Se ha evidenciado que las IgG de los pacientes con FR positivo presentan modificaciones de azúcares (galactosa) en el segundo dominio de la cadena pesada (CH2), lo que produciría una alteración conformacional de las Ig. Este fenómeno es debido a una alteración en la galactosamil transferasa de los linfocitos B de estos pacientes. Estas alteraciones podrían explicar la manera que las IgG ejercen su efecto inmunogénico en la artritis reumatoidea.

Métodos de detección

1. Método de látex: en este método se usan como soporte partículas de poliestireno recubiertas por IgG humanas presentes en la fracción II de Cohn. El límite de positividad es 1/80.

2. Método de Waaler Rose: en este método se utiliza glóbulo rojo (GR) de cordero sensibilizado por IgG de conejo. Este método presentaba el problema de que algunos sueros humanos contenían Ac heterófilos dirigidos contra los Ag de cordero (Ag de Forssman) presentes en el GR de cordero, por lo que el método se modificó.

3. Waaler Rose (WR) modificado: utiliza GR humanos Rh negativo sensibilizados por IgG de conejo. El límite de positividad es 1/64.

4. Nefelometría: este método posee como ventaja el detectar todos los isotipos de Ig.

5. ELISA/RIA: estos métodos utilizan Ig de conejo para la detección del FR.

El FR puede estar presente en los sueros de la población normal por método de WR en 0% a 6% y por látex en 2% a 25%. La prevalencia aumenta con la edad, pero disminuye a partir de los

70 años. Estos FR son de tipo IgM e IgG, pero IgA estaría ausente en sujetos sanos.

En artritis reumatoidea (AR) del adulto el FR está presente en el 70% de los casos. Este porcentaje varía con la antigüedad de la enfermedad. El FR estaría presente en el 30% en los primeros seis meses y aumentaría al 80% luego de algunos años de evolución.

Se ha estudiado la presencia de FR como posible predictor del desarrollo de AR. Un estudio prospectivo finlandés, realizado en 13.858 voluntarios sanos, mostró que luego de 13 años de evolución 33 de 173 sujetos con FR (+) inicialmente sanos desarrollaron una AR. Ningún paciente FR (-) desarrolló AR. En la AR se estimó que el FR detectado por látex poseía una sensibilidad de un 28% y una especificidad del 87%. Sin embargo, si la población estudiada es reumatológica, la sensibilidad del FR aumenta al 78% y la especificidad al 97%, pesquisada por el mismo método.

Los FR de tipo IgG se han asociado a vasculitis y los FR de tipo IgA se asocian a SS secundario a AR. La AR puede ser más erosiva cuando los FR son de tipo IgE.

Los FR pueden estar presentes hasta en un 75% de los pacientes con SS, 30% de LES, 50% de EMTC y 30% en esclerodermia.

Los FR también pueden estar presentes en el curso de infecciones y no relacionarse con enfermedades reumatológicas. Se ha detectado el FR en 8% de casos de TBC, 13% de sífilis, 50% de EBSA y 100% en leishmaniasis. También puede estar presente en asbestosis, fibrosis pulmonar idiopática y cirrosis hepática.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- Kahn M-F, Peltier A, Meyer O, Piette J-C. *Maladies et syndromes systémiques*, 4ª Ed. Paris 2000. Págs 76-101.
- Emlen W y O'Neill L. Clinical significance of antinuclear antibodies. *Arthritis & Rheumatism* 1997 (Sept); 40(9):1612-1618.
- Tan E, Felkamp W, Smolen JS et al. Range of antinuclear antibodies in "healthy" individuals. *Arthritis & Rheumatism* 1997 (Sept); 40(9):1601-1611.
- Galperin C, Leung P, Gershwin E. Molecular biology of autoantigens in rheumatic diseases. *Clinical Immunology and The Rheumatologist, Rheumatic Disease Clinics of North America* 1996 (Feb); 22(1):175-183.
- Evans J. Antinuclear antibody testing in systemic autoimmune disease. *Clinics in Chest Medicine* 1998 (Dec); 19(4):613-625.
- Cuchacovich R. Anticuerpos en Reumatología. *Reumatología* 1996; 12(4):141-149.
- Hannahs B. Antibodies to DNA. *The New England Journal of Medicine* 1998 (May); 338(19):1359-1368.
- Bruns A, Blass S, Hausdorf G et al. Nucleosomes are major T and B cell autoantigens in systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism* 2000 (Oct); 43(10):2307-2315.