

Interpretación del Laboratorio en Reumatología

Patricia Abumohor G.

Inmunóloga y Reumatóloga, Sección de Medicina,

Clínica Las Condes

Sección de Inmunología, Hospital Clínico, Universidad de Chile

El Laboratorio en Reumatología debe ser considerado una ayuda al diagnóstico y debe complementar la información recolectada por una cuidadosa anamnesis y examen físico. Otros exámenes complementarios en Reumatología son los radiográficos.

Analizaremos la utilidad de:

1. Exámenes de evaluación general.
2. Exámenes inmunológicos.
3. Líquido articular.

EXAMENES DE EVALUACION GENERAL

Estos exámenes son frecuentemente solicitados en la evaluación inicial del paciente, como en el curso de su evolución, para documentar compromiso orgánico y/o efectos secundarios a drogas. Los exámenes a pedir dependerán de la orientación clínica inicial.

a) **Hemograma:** El recuento de glóbulos blancos, rojos y/o plaquetas puede verse alterado en diversas afecciones reumatológicas. Leucopenia, linfopenia, anemia y trombopenia pueden verse en el Lupus Eritematoso Sistémico (LES) activo. La anemia hemolítica Coombs positiva puede verse en LES, y asociada a trombopenia en el Síndrome de Evans y en el Síndrome Antifosfolípidos (SAFL). Una anemia normocítica normocrómica frecuentemente acompaña a las enfermedades inflamatorias crónicas del ámbito reumatológico. La anemia megaloblástica la podemos encontrar asociada al uso de medicamentos que depletan de folatos, como el Metotrexato. La leucocitosis es frecuente observarla con el uso de corticoides; sin embargo, también puede deberse a una infección intercurrente, como compromiso poliarticular activo (ej.

Enfermedad de Still). Una trombocitosis leve se asocia a una Artritis Reumatoide (AR) activa.

b) **VHS y PCR:** Son indicadores inespecíficos sugierentes de inflamación, útiles de solicitar cuando sospechamos de una enfermedad reumatológica de carácter inflamatorio y/o infeccioso o en monitorear la actividad de la enfermedad. Se ha observado que el LES activo cursa con PCR normal, y la elevación de la PCR es más frecuente de observar en una infección sobreagregada.

c) **Perfil bioquímico:** Esto incluye determinaciones de distintas macromoléculas séricas, cuyos niveles pueden estar alterados en diversas patologías reumatológicas. Pueden encontrarse **hiperglicemias** secundarias al tratamiento con corticoides. La elevación del **nitrógeno ureico** y **creatinina** se puede observar en patologías reumatológicas que cursan con compromiso renal frecuente, como el LES y diversas vasculitis. Las **pruebas hepáticas** pueden estar alteradas en distintos cuadros autoinmunes y virales (virus hepatotróficos), como también por efecto de distintos medicamentos. Los estados inflamatorios crónicos tienden a cursar con hipoalbuminemia e hipergamaglobulinemias (**albúmina** baja y **proteínas totales** aumentadas). La **calcemia**, **fosfemia** y **fosfatasas alcalinas** pueden verse afectadas en distintas patologías que cursan con alteraciones del metabolismo óseo, como el hiperparatiroidismo, la osteomalacia, el Paget y las enfermedades que cursan con insuficiencia renal crónica. La hiperuricemia es frecuente de observar en sujetos obesos, como también en la gota no tratada (puede ser normal en las crisis de gota), en la insuficiencia renal crónica y en la psoriasis, entre otros.

d) **Creatinfosfoquinasa**, CPK: Esta enzima se encuentra en altas concentraciones en tejido cardíaco y muscular, y en menor concentración, en tejido cerebral, tracto genitourinario e intestinal. En el contexto reuma-

tológico puede revelar inflamación muscular asociada a cuadros como la Polimiositis. Otras enzimas como la aldolasa, las transaminasas y la LDH también pueden estar elevadas en esta entidad.

e) **Orina completa:** La presencia de proteinuria y leucocituria en ausencia de infección urinaria puede reflejar compromiso renal por diversas afecciones renales o sistémicas, como las vasculitis y/o enfermedades por complejos inmunes como el LES. La presencia de hematuria microscópica puede asociarse a compromiso de diversas estructuras del tracto urinario. La presencia de cilindros hemáticos indica una hematuria glomerular, estructura renal frecuentemente comprometida en las afecciones reumatológicas.

EXAMENES INMUNOLOGICOS

Para su comprensión, podemos dividirlos en dos grandes grupos:

a) Exámenes que identifican “**marcadores**” de distintas enfermedades autoinmunes. Son en general autoanticuerpos que se encuentran elevados en estos distintos procesos de enfermedad (conectivopatías, vasculitis y Síndrome Antifosfolípidos). Estos anticuerpos tienen distinta sensibilidad y especificidad en las diversas enfermedades.

Pertenecen a este grupo:

- Factor reumatoide (FR)
- Anticuerpos antipéptido C citrulinado
- Anticuerpos antinucleares (ANA)
- Anticuerpos anti-DNA (a-DNA)
- Anticuerpos antiantígenos nucleares extractables (a-ENA)
- Anticuerpos antifosfolípidos: anticardiolipinas (aCL) y anticoagulante lúpico (LAC).
- Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos: ANCA.

b) Exámenes complementarios al diagnóstico. Son exámenes no diagnósticos de enfermedad, pero de ayuda en identificar fenómenos asociados a ellas, como el consumo de proteínas del complemento, la presencia de proteínas que precipitan con frío, o una elevada tasa de anticuerpos. Los estudios histológicos y por inmunofluorescencia de los tejidos biopsiados en un grupo de pacientes con enfermedades reumatológicas son también de utilidad en el estudio.

Pertenecen a este grupo:

- Determinación de Complemento C3, C4 y CH50.

- Crioglobulinas.
- Electroforesis de proteínas y cuantificación de inmunoglobulinas.

FACTOR REUMATOIDE

Los factores reumatoides (FR) son autoanticuerpos dirigidos contra el fragmento Fc de una inmunoglobulina G. Estos autoanticuerpos pueden ser de clase IgG, IgM, IgA o IgE. La técnica más usada en clínica para su determinación es la Aglutinación del Látex. En ella, se recubren partículas de látex con anticuerpos IgG humanos. En un paso posterior se agrega la muestra del paciente en estudio. Si este suero tiene anticuerpos que reconocen los fragmentos Fc, habrá aglutinación de las partículas de látex, lo que es visible a ojo desnudo.

La técnica de látex detecta fundamentalmente FR de clase IgM, ya que es una inmunoglobulina pentavalente y eficiente como aglutinante. Se informa en títulos o en UI/ml. Son significativos títulos mayores de 1:80 o mayores de 50 UI/ml. Otras técnicas que están siendo utilizadas para pesquisar FR son la nefelometría y los ensayos de inmunoenzimas. Cada técnica varía en la forma de expresión de resultados, por lo que el clínico debe informarse con el laboratorio de cuál ha sido la técnica utilizada y lo que es considerado como positivo.

El FR se asocia principalmente a Artritis Reumatoide y a Síndrome de Sjögren. 75%-90% de las AR tienen un FR positivo para IgM en títulos significativos > 1:80 (AR seropositivas). Los pacientes con AR y títulos elevados de FR, tienden a tener una enfermedad agresiva y con mayor compromiso extraarticular.

Los FR no son específicos de AR. Pueden encontrarse en otras condiciones: tuberculosis, endocarditis bacteriana, sarcoidosis, lepra, fibrosis pulmonar, enfermedades hepáticas y sífilis. También pueden encontrarse en otras afecciones reumatológicas inflamatorias con títulos más bajos que en la AR. Los FR, al igual que otros autoanticuerpos, pueden encontrarse en población sana (1%-5%) en títulos bajos, como en personas > de 60 años, donde la frecuencia alcanza hasta el 20%. Dado lo anterior, la presencia de un FR positivo debe ser interpretada en el contexto de cada paciente individual.

ANTICUERPOS ANTIPEPTIDO C CITRULINADO (ACCP)

Son de más reciente uso en clínica. Están presentes en artritis erosiva en forma muy precoz. Son útiles en el diagnóstico temprano de la Artritis Reumatoide, que cursa con FR negativo.

ANTICUERPOS ANTINUCLEARES (ANA)

La primera evidencia de anticuerpos antinucleares surge con la descripción de la “Célula del Lupus”, o célula LE, por Hargraves en 1948. Corresponde a un polimorfonuclear (PMN), que ha fagocitado material nuclear de una segunda célula que ha sido reconocida por autoanticuerpos. Este fenómeno, que puede ser producido *in vitro*, es un test poco sensible y poco específico para LES; por lo tanto, de poca utilidad como técnica de *screening*. Sin embargo, su aparición *in vivo* en líquidos pleurales o en ascitis orientan a un LES. Es una técnica algo engorrosa para la detección de anticuerpos, por lo que ha sido desplazada en la actualidad.

Los ANA se detectan más frecuentemente, por Inmunofluorescencia Indirecta (IFI), usando como sustrato cortes de tejido de roedores o líneas de cultivo, como las Hep-2, que son el sustrato preferido. De existir ANA, éstos son reconocidos con el uso de un microscopio de fluorescencia.

La fluorescencia puede mostrar distintos patrones de tinción nuclear, y muchas otras veces muestra tinción citoplasmática. Esto se debe a que distintas estructuras antigénicas son reconocidas. Existen cinco patrones clásicos de tinción nuclear: homogéneo, granular o moteado, nucleolar, periférico y anticentrómero. El patrón homogéneo y el periférico son los más frecuentes de observar en LES, pero son inespecíficos. El patrón moteado o granular se observa frecuentemente en Síndrome de Sjögren y LES, y, a la vez, se asocian con anticuerpos a-ENA. El patrón nucleolar se observa principalmente en la Esclerosis Sistémica Progresiva (ESP). El único patrón que es altamente específico es el anticentrómero, que es marcador de una variedad de ESP, denominada CREST.

Los ANA se pueden observar prácticamente en todas las enfermedades del tejido conectivo (ETC), es decir, tienen alta sensibilidad para este grupo de enfermedades reumatológicas, pero a su vez carecen de especificidad. En las ETC los ANA tienen por lo general títulos elevados (>1:160), sobre todo en enfermedad activa. Al igual que otros autoanticuerpos, los ANA se pueden observar en sujetos jóvenes, y son más frecuentes en personas > de 60 años. También pueden estar presentes en otras condiciones de enfermedad (enfermedades hepáticas, pulmonares, infecciones crónicas, neoplasias, asociados a drogas); en estos casos, sus títulos tienden a ser más bajos.

En resumen, los ANA son un buen test de *screening* de autoanticuerpos en ETC. El reconocer cuál es el antígeno blanco reconocido por estos ANA (DNA, histonas o proteínas no histonas o asociadas a RNA) por las técnicas que vamos a conocer a continuación, nos da una información

adicional y de mayor especificidad para una enfermedad en particular.

ANTI-DNA

Los anticuerpos anti-DNA pueden estar dirigidos contra el DNA de una hebra (denaturado) o el de doble hebra o “nativo”. Los a-DNA nativos son bastante específicos para LES (95%), por lo tanto, útiles en el diagnóstico de esta entidad. Estos pueden fluctuar con la actividad de la enfermedad. Se asocian a compromiso renal lúpico.

Los a-DNA nativo se pueden detectar por IFI usando como sustrato *Crithidia luciliae* (parásito hemoflagelado). También se pueden detectar por técnica de Farr (basado en la precipitación de complejos inmunes que contienen DNA) y por Elisa.

Los a-DNA de una hebra o denaturados no se usan de rutina en la práctica clínica. Pueden encontrarse en muchas enfermedades reumatológicas y carecen de especificidad.

ANTI-ENA

Los anticuerpos dirigidos contra antígenos nucleares extractables reciben el nombre de a-ENA. Estos antígenos nucleares son por lo general proteínas no histonas o complejos RNA-proteínas. Se pueden detectar por doble difusión en agar, Elisa o inmunoblot. Lo más frecuente en nuestro medio es el Elisa.

Los anti-ENA de mayor uso en clínica son:

- Anti-Ro: se encuentran en LES y Síndrome de Sjögren, en el Lupus cutáneo subagudo y en el Lupus neonatal.
- Anti-La: también observados en LES y Síndrome de Sjögren
- Anti-Sm: poco frecuentes, pero altamente específicos de LES.
- Anti-RNP: se pueden observar en LES y otras ETC. Cuando se detectan como único anticuerpo, caracteriza a la Enfermedad Mixta del Tejido Conectivo.
- Anti-Scl-70 o antitopoisomerasa 1: frecuentes en la Esclerodermia.
- Anti-Jo-1 o anti-Histidil t-RNA transferasa. Se encuentra en Polimiositis, Dermatomiositis o enfermedades de sobreposición. Clínicamente caracteriza a un grupo de pacientes con miositis, Raynaud y compromiso pulmonar con fibrosis intersticial.

ANTICUERPOS ANTIFOSFOLIPIDOS (AFL)

Estos anticuerpos se encuentran en el Síndrome Antifosfolípidos (SAFL), que es una entidad autoinmune que

se puede dar aislada (SAFL Primario) o asociada a alguna otra entidad, más frecuentemente el LES (SAFL Secundario).

En lo clínico este síndrome se caracteriza por trombosis recurrentes y pérdida habitual de embarazos de poca edad gestacional o mayores, como la muerte fetal.

Los AFL de mayor uso en clínica a la fecha y que sirven como *screening* de esta entidad son:

- Anticardiolipinas (ACL). Se detectan por Elisa, lo que permite identificar la clase de anticuerpo y su título. Lo más asociado al SAFL son los ACL clase IgG, y a títulos moderados o elevados. Se informan en unidades GPL o MPL o APL según sea la clase de inmunoglobulina identificada (IgG, IgM o IgA, respectivamente).
- Anticoagulante Lúpico: Se detecta por técnicas de coagulación. No detecta título de anticuerpo o nivel de positividad.

Para identificar serológicamente al SAFL, los dos anticuerpos (ACL y Anticoagulante Lúpico) deben ser solicitados, ya que no siempre se dan juntos. Numerosas condiciones de enfermedad, inflamación y/o infección pueden dar AFL en forma transitoria. Por el contrario, la persistencia de la positividad de AFL en al menos dos mediciones separadas por un mínimo de seis semanas es lo que caracteriza al SAFL.

ANTICUERPOS ANTICITOPLASMA DE NEUTROFILOS; ANCA

Estos anticuerpos son útiles de solicitar cuando se sospecha vasculitis. Se detectan por IFI, usando como sustrato polimorfonucleares. Cuando los PMN se fijan en etanol, se pueden identificar dos tipos de tinción. La fluorescencia citoplasmática (C-ANCA) y la perinuclear (P-ANCA). Los anticuerpos que dan C-ANCA están dirigidos mayoritariamente contra la proteinasa 3 (PR3), y son altamente específicos de Granulomatosis de Wegener. Los anticuerpos que dan un P-ANCA pueden estar dirigidos contra la mieloperoxidasa (MPO), elastasa, catepsina y otros antígenos. Los que reconocen MPO se asocian a vasculitis sistémica con compromiso renal rápidamente progresivo. La especificidad de los ANCA debe ser confirmada por enzimoimmunoensayo (Elisa).

COMPLEMENTO

La medición del complemento en Reumatología busca investigar si el mecanismo de daño en la enfermedad de un paciente involucra el consumo de sus componentes, lo

que se ve en enfermedades por complejos inmunes. El complemento puede estar bajo, además, por otras causas: deficiencia congénita de complemento o por falla en su síntesis.

Un *screening* de la actividad del complemento es el CH50 (complemento hemolítico), cuyo valor normal asegura una cantidad y funcionalidad adecuadas de cada uno de sus componentes; y por lo tanto, ausencia de su consumo por complejos inmunes. Este test no está disponible de rutina y es algo más engorroso que la determinación de algunos de los componentes, como el C3 y el C4, que son los más utilizados en clínica.

En patologías por complejos inmunes se pueden encontrar C3 y C4 disminuidos. El C4 puede disminuir antes que el C3, ya que el C4 se encuentra en cantidades más pequeñas y su consumo se traduce rápidamente en descensos séricos.

Los componentes de complemento también pueden buscarse en tejidos, como en una biopsia (renal, piel), usando inmunofluorescencia directa.

CRIOGLOBULINAS

Estas son proteínas que precipitan con el frío y se redissuelven al aumentar la temperatura. Esta característica se aprovecha para su detección. Su presencia se asocia con patología por complejos inmunes. Las crioglobulinas se pueden encontrar en neoplasia de linfocitos B (mieloma múltiple, leucemia linfocítica crónica), enfermedades del tejido conectivo (LES, S. Sjögren. AR), infecciones agudas y crónicas (virus hepatitis C, citomegalovirus, EBSA) y en estados de hipersensibilidad al frío.

ELECTROFORESIS DE PROTEINAS

La utilidad máxima de esta técnica es en la detección de componentes monoclonales, como en el Mieloma Múltiple o la Macroglobulinemia de Waldenstrom. En el área reumatológica encontramos componentes monoclonales con cierta frecuencia asociados a patologías inflamatorias crónicas y al Síndrome de Sjögren.

Lo más frecuente de observar en patología inflamatoria (como las enfermedades del tejido conectivo o las vasculitis) es un aumento policlonal de la zona gama que es donde migran los anticuerpos. Esto se conoce como hipergamaglobulinemia difusa o policlonal.

LIQUIDO ARTICULAR

El examen del líquido sinovial es muy útil en la evaluación inicial de un paciente que tiene artritis y es

de rutina si se trata de una monoartritis. Permite hacer el diagnóstico de artritis infecciosa y de artritis por cristales, y diferenciarla de otras entidades que cursan con aumento del líquido articular.

El líquido obtenido por artrocentesis puede ser analizado en los siguientes aspectos:

– **Aspecto macroscópico**

Color: El líquido normal es levemente amarillento, los inflamatorios pueden teñirse amarillos más intensos o verdosos. El líquido hemorrágico (hemartrosis) puede verse en trastornos de la coagulación, traumatismos y neoplasias.

Transparencia: El líquido normal es transparente; a medida que un líquido se hace más inflamatorio va perdiendo transparencia y puede ser opalescente.

Viscosidad: El líquido normal es viscoso. Esto se pierde en los líquidos con mayor inflamación.

– **Recuento celular:** Permite clasificarlos en distintos grupos. El líquido normal tiene < 200 glóbulos blancos/ μ l. En los líquidos no inflamatorios del Grupo 1, como en las artrosis, el recuento puede llegar hasta 2.000 GB/ μ l. En el Grupo 2 la celularidad va entre 2.000 a 50.000, y es lo esperable de encontrar en una artritis por cristales,

o en enfermedades como el LES o la AR. Los líquidos del Grupo 3 son francamente purulentos, tienen más de 50.000 células y se pueden observar en cuadros de infección articular. El recuento celular, sin embargo, no permite un diagnóstico de certeza y esta información debe complementarse con los cultivos y el examen del líquido bajo luz polarizada.

– **Examen microscópico:** Permite identificar la presencia de cristales y su forma. La luz polarizada muestra la forma como reflejan la luz. Los cristales de urato, que identifican al cuadro de gota, tienen puntas aguzadas y al estar paralelos a la luz polarizada se ven amarillos; al estar perpendiculares a ella, se ven azules. Los cristales de pirofosfato de calcio son más gruesos, romboides, y deflecan la luz polarizada en el sentido opuesto.

– **Exámenes microbiológicos:** Todo líquido inflamatorio debe ser analizado con una tinción de Gram y cultivos. Los cultivos para hongos, micobacterios o para gonococos deben ser analizados en medios especiales y ser solicitados si se sospecha que existe esta posibilidad diagnóstica.

El examen de todos estos parámetros del líquido articular va a permitir un diagnóstico de la naturaleza de la artritis.