



Prevalencia de anticuerpos antinucleares en un grupo de adultos sanos residentes en Santafé de Bogotá

Diana Constanza Núñez, Claudia Yanneth Ruiz, Nancy Barrera, José Félix Restrepo, Alvaro Sánchez

Se analizaron 625 sueros provenientes de igual número de personas sanas residentes en Santafé de Bogotá, con el fin de establecer la prevalencia de anticuerpos antinucleares (ANAs), mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta sobre células HEP-2. Se encontró una positividad global de 2.9% (18/625) con una diferencia entre hombres (2.3%) y mujeres (3.5%) no significativa ($p > 0.05$). El mayor porcentaje de positividad se observó en el grupo etéreo comprendido entre 56 y 75 años de edad (7.2%). Los patrones de inmunofluorescencia encontrados fueron nucleolar (44%), moteado (38%), mixto moteado y nucleolar (11%), citoplasmático (5.6%). En 83.4% de los casos positivos los títulos fueron iguales o menores de 1/320. El presente estudio confirma la posibilidad de que una persona pueda ser portadora de ANAs sin que sufra de ninguna afección autoinmune. El potencial patogénico de estos anticuerpos en individuos sanos es desconocido.

Introducción

La detección de anticuerpos antinucleares circulantes dirigidos contra antígenos nucleares celulares se ha convertido en los últimos años en un instrumento importante para el diagnóstico y seguimiento de las enfermedades reumáticas autoinmunes. Las técnicas de laboratorio para su determinación han sido suficientemente desarrolladas y son múltiples, pero la prueba de inmunofluorescencia indirecta continúa siendo la más extendida y aceptada en la práctica médica; no obstante, esta misma técnica y aun otras más sensibles aunque menos comunes, permiten el descubrimiento de anticuerpos antinucleares en concentraciones relativamente importantes sin evidencia de enfermedad. A pesar del difundido uso de preparados comerciales plenamente confiables, que incluyen sustratos antigénicos a veces diferentes, los valores que expresan la concentración de anticuerpos antinucleares en el suero no han sido, hasta el momento, estandarizados en relación con la población colombiana. Dicho de otra manera, se desconoce la prevalencia de tales

anticuerpos en los diferentes grupos poblacionales del país. Si se añade a esto la falta de verificación de la actividad de los sueros que sirven como controles positivos en las preparaciones comerciales, es fácil imaginar que pueden surgir errores, generalmente por exceso, en la aplicación clínica de la prueba. Si se establecieran valores de prevalencia en cuanto a títulos y patrones, éstos podrían servir como referencia para los resultados encontrados y para aceptar la posibilidad, cuantificada estadísticamente y de acuerdo con la clínica, que una persona pueda portar anticuerpos antinucleares sin padecer necesariamente de una enfermedad autoinmune. En estas circunstancias, el conocimiento de tal prevalencia en la población sana puede constituirse en un auxiliar importante para la correcta evaluación de un paciente y quizá para su vigilancia. En Colombia no existen estudios de esta naturaleza en personas sanas, por tanto el objeti-

Diana Constanza Núñez, Claudia Yanneth Ruiz: Estudiantes de Bacteriología, Universidad Javeriana; Lic. Nancy Barrera: Jefe de Laboratorio, Instituto de Reumatología e Inmunología; Dres. José Félix Restrepo, Alvaro Sánchez: Profesores Asistentes, Departamento de Medicina Interna. Unidad de Reumatología. Universidad Nacional. Santafé de Bogotá.

vo de este trabajo ha sido la determinación de los mencionados anticuerpos en un grupo de adultos sanos residentes en Santafé de Bogotá.

Material y métodos

Se calculó el tamaño de la muestra poblacional para un nivel de confianza de 95% con una población finita.

De acuerdo con consideraciones estadísticas, se utilizó la fórmula de muestreo $N = z \times P (1-P) / e$, en donde la razón Z tiene un valor de dos, "p" es la probabilidad de encontrar una persona sana con anticuerpos positivos; ante el desconocimiento de la magnitud del problema en Colombia se adjudicó a esa probabilidad un valor de 50% ($P = 0.5$) "e" es la probabilidad de error (4%, considerado arbitrariamente).

De acuerdo a esto se obtuvo una muestra poblacional de 625 personas ($N = 2 \times 0.5 (1-0.5) / (0.04)^2$). Fueron incluidos adultos de ambos sexos, residentes en la ciudad por más de un año, con edades comprendidas entre los 16 y 75 años y que fuesen "sanos". Según los criterios utilizados en el estudio fueron distribuidos en seis grupos etéreos, incluyendo en cada uno de ellos un número similar de individuos de cada sexo, para un total de 309 varones y 316 mujeres (Tabla 1).

Los requisitos para ser clasificados como "sanos" eran los siguientes:

1. No padecer ninguna enfermedad en el momento de la obtención de la muestra, ni haberla padecido en los últimos seis meses, con excepción de estados gripales transitorios y concluidos, o infecciones agudas corrientes tratadas y resueltas

(amigdalitis, infecciones urinarias, etc.) En algunos casos, en particular en las personas mayores de sesenta años, se admitían personas con hipertensión arterial moderada no tratada y algunas otras enfermedades de tipo degenerativo. En caso de persistir dudas respecto a la posible influencia de una patología dada en la aparición de anticuerpos antinucleares, se aplicaba como criterio de exclusión una tabla de afecciones susceptibles de inducir anticuerpos (1, 2) y que incluye alteraciones autoinmunes reumáticas, enfermedades infecciosas, neoplasias, enfermedades neurológicas de patogenia inmunológica, enfermedades glomerulares y un grupo heterogéneo de patologías.

2. No haber tomado ningún medicamento de manera continua en los últimos tres meses, ni haber recibido vacunas o transfusiones en los últimos tres años.

3. No tener entre los familiares de primer grado de consanguinidad en alguna persona con historia de enfermedad autoinmune del tejido conectivo.

4. No tener contacto profesional con pacientes (exclusión por lo tanto de estudiantes de medicina, médicos, enfermeras, bacteriólogos, odontólogos, etc.)

Las personas incluidas fueron voluntarios reclutados en un lapso de tres meses en empresas comerciales privadas, entidades gubernamentales, universidades, cuarteles militares y ancianatos de la ciudad. A todos ellos se les sometía a una encuesta previa de selección con el fin de determinar si podían ser incluidos en el estudio de acuerdo a los criterios mencionados. Por último, las personas en las cuales se encontraban anticuerpos antinu-

Grupo	Edad	Sexo		Total de personas
		Hombres	Mujeres	
I	16-25	53	55	108
II	26-35	56	58	114
III	36-45	55	57	112
IV	46-55	49	53	102
V	56-65	49	48	97
VI	66-75	47	45	92

Tabla 1. Grupos de edad.

Grupo	Edad Años	Sexo		ANAs			Tasa de positiv.
		Hom- bres	Mu- jeres	(-)	(+)	Total	
I	16-25	53	55	107	1	108	0.9%
II	26-35	56	58	112	2	114	1.8%
III	36-45	55	57	109	3	112	2.7%
IV	46-55	49	53	99	3	102	2.9%
V	56-65	49	48	90	7	97	7.2%
VI	66-75	47	45	90	2	92	2.2%
Total		309	316	607	18	625	2.9%

Tabla 2. Distribución estadística de la población en grupos etéreos y casos positivos de anticuerpos antinucleares.

Anticuerpos antinucleares en adultos sanos

Grupo	Sexo			
	Hombres	Tasa de positiv.	Mujeres	Tasa de positiv.
I	0	0.0%	1	1.8%
II	0	0.0%	2	3.4%
III	1	1.8%	2	3.5%
IV	2	4.1%	1	1.9%
V	3	6.1%	4	8.8%
VI	1	2.1%	1	2.2%
Total	7	2.3%	11	3.5%

Tabla 3. Distribución etárea de casos positivos de anticuerpos antinucleares por sexo.

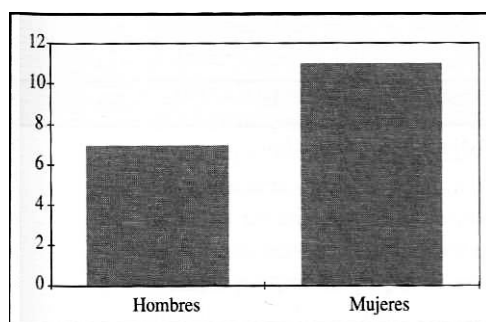


Figura 1. Prevalencia de ANAs en adultos sanos.

cleares positivos eran sometidas a una evaluación médica especializada detenida para eliminar toda posibilidad de enfermedad o factores determinantes de la positividad y si existía alguna duda, un segundo médico realizaba una nueva historia clínica. Si en la segunda ocasión persistían las dudas respecto a la calidad de "sano", la persona era excluida del estudio y reemplazada por otra.

La determinación de anticuerpos antinucleares se realizó mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta, usando como sustrato antigénico células HEp-2 (equipo Kallestad Quantafloor). Se consideró positiva la prueba cuando la fluorescencia tuvo una intensidad luminosa de ++ de acuerdo con las escalas de lectura del fabricante del preparado, y cuando ella era observada de manera uniforme en más de la mitad del pozo examinado. Se tomó como título inicial significativo 1/40, y en cada caso se determinó el título final y naturalmente el patrón predominante. Con los datos se creó un archivo computadorizado y se buscó su significancia en cuanto a las proporciones por edad y sexo, aplicando la prueba del chi cuadrado (χ^2) para diferencia de proporciones.

Resultados

De las 625 personas incluidas en el estudio, 22 tuvieron anticuerpos antinucleares positivos, pero en las evaluaciones médicas posteriores al análisis sérico se descartaron cuatro casos, todos ellos de sexo femenino con síntomas leves sugestivos de enfermedad autoinmune, y que debieron ser reemplazadas por otras tantas personas que tuvieron re-

sultados negativos. Por lo tanto el número de casos positivos fue 18 (2,9%). Siendo los grupos de edad homogéneos en cuanto al número de sujetos incluidos, llama la atención la notable diferencia entre el porcentaje de positividad del grupo I (un caso, 0.9%) y del grupo V (siete casos, 7.2%) y el brusco descenso de este porcentaje en las personas de mayor edad del grupo VI (dos casos, 2.2%) (Tabla 2).

Entre los casos positivos, 11 fueron mujeres para una tasa de 3.5% sobre el total de individuos de sexo femenino, siete fueron hombres (2,3% de un total de 309 individuos), sin que la diferencia por sexos fuera estadísticamente significativa ($p > 0.05$) (Figura 1). Las tasas de positividad discriminadas por sexo en cada uno de los grupos etáreos estudiados se observan en la Tabla 3. Entre algunos de ellos puede haber en apariencia diferencias importantes pero teniendo en cuenta el reducido número de casos por grupo es osado dar una significancia médica real a una significancia estadística aparente.

Cuando los grupos de edad se reúnen en parejas se observan resultados significativos: en los grupos I y II en conjunto, es decir, en las personas comprendidas entre 16 y 35 años se hallaron tres casos positivos (1.4%), mientras en los grupos III y IV (de 36 a 55 años) se hallaron seis casos (2,8%), y en los grupos V y VI (56 a 75 años) nueve casos (4,7%) ($p < 0.05$).

Los patrones de inmunofluorescencia encontrados fueron: nucleolar en ocho casos (44.4%); moteado en siete casos (38.9%); mixto (moteado y nucleolar) en dos casos (11,1%) citoplas-

mático en un caso (5.6%). La prevalencia de patrones por sexo se puede observar en la Tabla 4. Con respecto a los títulos obtenidos la mayoría fueron iguales o inferiores a 1/320 (15 casos, es decir, 83.4% del total de casos positivos) y sólo en tres casos éstos fueron superiores a 1/320 (16.6%) (Tabla 5).

Discusión

Los anticuerpos antinucleares son inmunoglobulinas fundamentalmente del tipo IgG e IgM que reaccionan con innumerables antígenos autólogos del núcleo celular, dando origen a los patrones básicos de fluorescencia observados en el microscopio. La identificación de éstos se logra de un modo bastante confiable para la práctica médica corriente utilizando un sustrato de células epiteliales cultivadas especialmente para tal fin (células HEp-2). La primera descripción de los factores antinucleares la hizo Hargraves en 1948 (3); más tarde Friou en 1958, mostró la utilidad de la técnica de inmunofluorescencia indirecta para la detección de los autoanticuerpos antinucleares (4). Beck, en 1961, describió los patrones vigentes y desde entonces ha habido numerosas contribuciones que han reafirmado y extendido el lugar de la prueba en el estudio de los pacientes con enfermedades del tejido conectivo, aunque no exista especificidad de un anticuerpo dado con respecto a una afección determinada (1,5). Existen muy pocos informes en la literatura acerca de la prevalencia de estos anticuerpos en adultos sanos (6,7) y mucho menos estudios sobre su valor predictivo para el desarrollo de

Sexo	Patrón nucleolar	Tasa de positiv. (%)	Patrón moteado	Tasa de positiv. (%)	Patrón moteado nucleolar	Tasa de positiv. (%)	Patrón citoplasmático (%)	Tasa de positiv. (%)	Total	Tasa de positiv. (%)
M	6	85.3	1	14.3	0	0	0	0	7	100.0
F	2	18.2	6	54.5	2	18.2	1	9.1	11	100.0
Total	8	44.4	7	38.9	2	11.1	1	5.6	18	100.0

Tabla 4. Distribución del patrón con relación al sexo.

una enfermedad en los portadores aparentemente sanos.

En la presente investigación fueron estudiadas 625 personas sanas (309 hombres, 316 mujeres), habiéndose encontrado una tasa global de positividad de 2.9% con una ligera diferencia, no significativa estadísticamente, entre mujeres (3.5%) y hombres (2.3%). Estos resultados concuerdan con los de Hawkins y cols (6) quienes encontraron una prevalencia de 3.4% en caucásicos normales, pero contrastan con los datos de Shigeru y cols en Japón (7) quienes hallaron una prevalencia de 6.8% en hombres (15 casos entre 229) y de 15% en mujeres (49 casos entre 327). En un estudio en niños realizado en Australia, sobre un total de 100 muestras, los autores encontraron una tasa de 18% para diluciones iguales o mayores de 1/40, pero solamente 9% para títulos mayores de 1/160. y en ningún caso se encontró asociación con posibles infecciones intercurrentes (8). Es difícil especular sobre las posibles causas de las diferencias tan marcadas con nuestro estudio, pero debe recordarse que aun cuando exista igualdad de condiciones técnicas, las poblaciones y los factores genéticos y ambientales son distintos. No obstante, vale la pena mencionar que en un estudio realizado en pacientes y controles normales en Bogotá, la tasa de positividad en estos últimos fue de 16%, si bien

Dilución	Número de casos	Porcentaje
1/40	5	27.8
1/80	3	16.7
1/160	3	16.7
1/320	4	22.2
1/640	1	5.5
>1/1280	2	11.1
Total	18	100

Tabla 5. Diluciones de ANAs.

el número de adultos sanos fue bajo y se trataba de personal paramédico que laboraba en el medio hospitalario, en algunos casos en contacto con pacientes afectados por enfermedades reumáticas autoinmunes (9).

El presente estudio confirma la aseveración de que la presencia aislada de anticuerpos antinucleares no hace el diagnóstico de enfermedad autoinmune del tejido conectivo. Es una prueba de laboratorio que debe ser respaldada por la clínica, aunque valdría la pena hacer estudios prospectivos acerca del valor predictivo para enfermedad de tales anticuerpos: una persona en apariencia sana (especialmente si es joven) con anticuerpos positivos, debe ser vigilada en el tiempo porque no se puede eliminar la posibilidad de que desarrolle una enfermedad reumática autoinmune. Posiblemente el papel patogénico de los anticuerpos esté ligado a los factores habitualmente invocados: raza, edad, sexo, estructura genética, medio ambiente. El que se encuentren anticuerpos positivos en personas normales podría sugerir que los mecanismos de su producción no son los mismos que en los individuos enfermos. Los resultados muestran una prevalencia de anticuerpos moderadamente mayor en mujeres, sin significancia estadística (prueba de χ^2 cuadrado), pero que tiende a corroborar lo informado por otros autores (7, 9); también confirma la noción que existe una mayor prevalencia de alteraciones del tejido conectivo en el sexo femenino.

En el presente estudio llama la atención la prevalencia de 4.7% en los grupos V y VI considerados en conjunto (56 a 75 años),

aunque la observación está de acuerdo con el concepto generalmente admitido del envejecimiento celular y la probabilidad de una mayor exposición de antígenos antes ocultos. No obstante, en los pacientes de más edad (grupo VI exclusivamente) la tasa es menor que en el grupo V (56 a 65 años), lo que no apoyaría la idea del envejecimiento. Son hallazgos de interpretación azarosa por el momento. Por otra parte, aun en las personas jóvenes, el mecanismo de producción de los anticuerpos puede no ser el mismo: en los pacientes con enfermedades autoinmunes existe básicamente una pérdida de tolerancia en las células T con diferenciación posterior de células B en plasmocitos e inducción de autoanticuerpos (10). En los individuos normales el mecanismo es desconocido. El potencial patogénico tanto en sanos como en enfermos es desconocido.

El patrón de inmunofluorescencia más frecuentemente encontrado fue el nucleolar, seguido por el moteado. Pero al discriminar por sexos los patrones, en las mujeres predominó el moteado, mientras en los hombres predominó el nucleolar. Como existen grandes variaciones en este sentido, aun con una misma muestra y según la dilución a que se observe la fluorescencia, es muy aventurado lanzar cualquier interpretación al respecto. Como cada patrón puede indicar la presencia de anticuerpos detectables por otras técnicas, no es posible descartar que en cada caso positivo existiesen algunos autoanticuerpos considerados como característicos de ciertas enfermedades del tejido conectivo (RNP, Sm, Ro,

La, Ki, Scl 70, Jo, etc.) (11-13). No realizamos tales determinaciones ante la ausencia de síntomas. Hecho significativo fue el no hallar ningún caso con patrón homogéneo o periférico, corrientemente asociados con anticuerpos anti-DNA, típicos del lupus eritematoso sistémico.

Las diluciones iguales o menores a 1/320 fueron las más comunes (83% de los casos positivos). Sólo una persona tuvo un título de 1/640 y dos un título de 1/1280. En estos sujetos se tuvo especial cuidado en la valoración clínica, sin que ella aportara ninguna sospecha de enfermedad alguna. En general este estudio confirma la noción, hartamente conocida pero poco estudiada en poblaciones normales, de que es posible encontrar autoanticuerpos antinucleares en bajos títulos en personas sin enfermedad aparente del tejido conectivo. La muestra, si bien es cierto fue realizada según un mínimo de exigencias estadísticas, no permite extrapolar los resultados a la población global de Santafé de Bogotá, y aun menos a la población colombiana. Es un trabajo preliminar que refleja, en última instancia, una tendencia que debe ser tenida en cuenta cuando se estudien otras zonas del país, y sobre todo cuando se valore un paciente determinado.

Summary

Six hundred twenty five healthy residents in Santafé de Bogotá were studied (309 men and 316 women) in order to find the prevalence of antinuclear antibodies by indirect immunofluorescence on HEp-2 cells. The findings showed a positivity of 2.9% (18/625) with a non significant difference

between men (2.3%) and women (3.5%). The greatest positivity was found in the group 56 to 75 years old (7.2%). The immunofluorescence patterns were nucleolar (44%), speckled (38.9%), mixed speckled nucleolar (11%) and cytoplasmatic (5.6%). In 83.4% of positive cases the titers were less than or equal to 1/320. This study supports the fact that isolated positive ANAs aren't diagnostic of autoimmune rheumatic disease, but their pathogenic significance remain unknown.

Agradecimientos

Este estudio fue patrocinado en su totalidad por el Instituto de Reumatología e Inmunología de Santafé de Bogotá. Los autores expresan su reconocimiento a la entidad y en especial a su director científico Dr. Fernando Chalem. Del mismo modo agradecemos al Dr. Oswaldo Cáliz por su asesoría en materia estadística.

Referencias

1. **Craft J, Hardin JA.** Antinuclear antibodies. In: Kelley WN, Harris ED, Ruddy S, Sledge C, eds. Textbook of Rheumatology. 4th ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1993: 164-187.
2. **Reichlin M.** Antinuclear antibodies. In: Kelley WN, Hams ED, Ruddy S, Sledge C. Textbook of Rheumatology. 3rd ed. Philadelphia: WB Saunders Company; 1989: 208-225.
3. **Hargraves MM, Richmond H, Morton R.** Presentation of two bone marrow elements: The "Tart" cell and "L E Cell". Proc Staff Meet Mayo Clinic 1948; **23**: 25-28.
4. **Friou GJ, Finch SC, Detre KD.** Interaction of nucleic and globulin from lupus erythematosus serum demonstrated with fluorescent antibody. *J Immunol* 1958;**80**: 324-329.
5. **Beck JS.** Variations in the morphological patterns of autoimmune nuclear fluorescence. *Lancet* 1961; **1**: 1203-1205.
6. **Hawkins BR, O'Connor KJ, Dawkins RL, Dawkins B, Rodger B.** Autoantibodies in an Australian population. I. Prevalence and persistence. *J Clin Lab Immunol* 1979; **2**:211-215.
7. **Shigeru Kohsokabe, Tatsou Imai.** Prevalence of positive antinuclear antibodies in healthypersons. Abstracts XVIIth Ilar Congress of Rheumatology. Poster 430.
8. **Allen RC, Dewez P, Stuart L, Gatenby PA, Sturgess A.** Antinuclear Antibodies using HEp-2 cells in normal children and in children with common infections. *JPediatr Child Health* 1991; **27**: 39-42.
9. **Rojas C, Sánchez A, Villota O, Rueda J, Lizarazo H, Peña M.** Experiencia con Anticuerpos Antinucleares en el Hospital San Juan de Dios de Bogotá. XI Congreso Colombiano de Medicina Interna. Resumen 228. *Acta Med Colomb* 1990; **15** (Supl 4): 273.
10. **Winchester RJ.** The major histocompatibility complex. In: Kelley WN, Harris ED, Ruddy S, Sledge C, eds. Textbook of Rheumatology. 3rd ed. Philadelphia; WB Saunders Company; 1989; 101-137.
11. **Harmon CE, Deng JS, JS, Peebles CL, Tan EM.** The importance of Tissue Substrate in the SS-A/Ro antigen-antibody system. *Arthritis Rheum* 1984; 166-173.
12. **Nishikai M, Reichlin M.** Heterogeneity of precipitating antibodies in polymyositis and dermatomyositis. Characterization of the Jo-1 antibody system. *Arthritis Rheum* 1980; **23**: 881-888.
13. **Tan EM, Rodnan GP, García I, Moroi Y, Fritzler MJ, Peebles C.** Diversity of antinuclear antibodies in progressive systemic sclerosis. Anti-Centromere antibody and its relationship to CREST syndrome. *Arthritis Rheum* 1980; **23**: 617.