

---

# Significado clínico del patrón mixto de anticuerpos (antinucleares y anticitoplasmáticos)

HERMANN GONZALEZ, HENRY ROTHBERGER, ROBERT A. TURNER

---

Aunque se ha investigado extensamente el significado clínico de los anticuerpos antinucleares (ANA) y se han reconocido algunas correlaciones, no está establecido el valor diagnóstico del patrón mixto de ANA y anticitoplasmáticos (ANA + ACA). Nosotros observamos dicho patrón mixto en el suero de 43 pacientes de un total de 7.121 examinados (0.6%). La combinación más común fue con el patrón homogéneo de ANA. Las entidades asociadas al patrón mixto son básicamente las mismas que se asocian con los diferentes ANA; el Lupus Eritematoso Sistémico (LES) es la más frecuente. Concluimos que la información obtenida del hallazgo de un patrón combinado ANA + ACA es la misma que se obtiene con los ANA positivos y que su presencia en pacientes con LES no caracteriza a ningún subgrupo de la enfermedad en particular.

**PALABRAS CLAVES**  
ANTICUERPOS ANTICITOPLASMATICOS  
AUTOANTICUERPOS

---

## INTRODUCCION

Es muy común hallar en las diferentes entidades autoinmunes anticuerpos dirigidos contra distintos constituyentes estructurales de la célula. Algunos anticuerpos contra antígenos nucleares (ANA) como DNA, Sm, RNP, SS-A, etc., se han asociado con ciertas entidades (1-4). También se han identificado anticuerpos anticitoplasmáticos (ACA) dirigidos contra antígenos ribosomales, mitocondriales, lisosómicos, del citoesqueleto y microsomales (5,6). En la actualidad se considera que la inmunofluorescencia indirecta es el método más sencillo y práctico para la búsqueda de ambos tipos de anticuerpos (7-12).

Recientemente informamos la ocurrencia de patrones combinados de fluorescencia nuclear, (homogéneo y nucleolar) en pacientes con LES o escleroderma (8). También hemos observado que algunos

---

DR. HERMANN GONZALEZ, Docente especial de Medicina Interna y Reumatología, Facultad de Medicina, Universidad de Caldas, Manizales, Colombia. DR. HENRY ROTHBERGER, Profesor Asociado de Medicina, Bowman Gray School of Medicine, Wake Forest University. DR. ROBERT A. TURNER, Profesor de Medicina, Bowman Gray School of Medicine, Wake Forest University, Winston-Salem, NC. EE.UU.

El Dr. González fue financiado parcialmente por la Fundación Instituto de Reumatología e Inmunología y por la Asociación Colombiana de Reumatología.

pacientes presentan patrón nuclear y citoplasmático; no hay informes sobre las implicaciones de esta combinación. En consecuencia, hemos realizado el presente estudio con el fin de evaluar el significado clínico del patrón mixto (ANA + ACA).

## MATERIALES Y METODOS

Los sueros con el patrón mixto ANA + ACA provienen de un total de 7.121 pacientes estudiados por inmunofluorescencia, en un lapso de 5 años, para la búsqueda de ANA. Se incluyeron tanto pacientes ambulatorios como hospitalizados en el Hospital Universitario de Carolina del Norte, afiliado a la Facultad de Medicina Bowman Gray de la Universidad Wake Forest. Todos los sueros fueron almacenados a -70° C hasta el momento de realizar la prueba. Para establecer su diagnóstico se revisaron las historias clínicas de los pacientes con ANA + ACA y las de grupos controles con ANA+ y con ANA-; se hizo diagnóstico de LES o de artritis reumatoidea (AR) cuando se llenaron los criterios establecidos por la Asociación Americana de Reumatología (ARA) para el diagnóstico de estas dos entidades (13,14). Otros diagnósticos se establecieron con bases clínicas o de laboratorio.

Con el fin de evitar las discrepancias que a veces se encuentran con los diferentes sustratos comerciales (15), la prueba se realizó usando células VERO, cultivadas y fijadas en nuestro laboratorio bajo condiciones estandarizadas (16). Después de incubar los sueros de pacientes y controles con el sustrato, se lavaron las placas por 15 minutos con solución salina fosfatada (PBS), pH 7.4 y luego se incubaron por 30 minutos con una mezcla de azul de Evans y anticuerpos anti IgG humana. De nuevo se lavaron las placas con solución salina fosfatada (PBS) por 15 minutos e inmediatamente se leyeron usando un microscopio NIKON de inmunofluorescencia, con objetivo 400X. Se consideró que la prueba era positiva cuando se observó fluorescencia a una dilución igual o mayor que 1:50 que es el estándar en nuestro laboratorio (8). Los sueros positivos se diluyeron hasta 1:800. Utilizamos inmunofluorescencia indirecta para la detección de anti-

cuerpos anti-mitocondriales (AMA) y anti-músculo liso (ASMA) usando sustrato de riñón de rata. Los anticuerpos anti-DNA se detectaron por inmuno-peroxidasa, empleando como sustrato *Crithidia luciliae* y se leyeron con objetivo 1000X.

Los anticuerpos precipitantes anti-Sm y anti-RNP se detectaron por doble inmunodifusión (11), usando como antígeno extracto de timo de conejo. Los anticuerpos anti SS-A (Ro) y SS-B (La) se detectaron por contraelectroforesis (18-20).

La detección de factores reumatoideos se hizo por las pruebas de aglutinación de látex y de Waaler-Rose.

Los datos fueron evaluados estadísticamente usando Chi cuadrado o la prueba T. Las variaciones se muestran como error estándar de la media (EEM).

## RESULTADOS

De enero de 1983 a diciembre de 1987 se recibieron en nuestro laboratorio especializado de reumatología, 7.121 sueros para estudio de ANA. El patrón mixto, ANA + ACA se halló en 43 de ellos (0.6%). De los restantes 7.078 sueros, 1.390 (19.6%) tenían solamente ANA positivo y 97 (1.4%) exclusivamente patrón anticitoplasmático. En 77 pacientes se presentaron simultáneamente varios patrones de ANA. Las muestras restantes fueron negativas.

Las características demográficas de los 43 pacientes con ANA + ACA se compararon con las de los controles; se utilizaron como tales 43 pacientes con un solo patrón ANA (ANA+) y 43 seronegativos (ANA-). Como se muestra en la Tabla N° 1, tales características fueron similares en los 3 grupos.

En la Tabla N° 2 se observa que la frecuencia de LES, AR y otras entidades en el grupo ANA + ACA es muy similar a la de los pacientes con sólo ANA positivo; lo contrario ocurre en los seronegativos cuya frecuencia de estas entidades es mucho menor.

En las Tablas N°s 3 y 4 se presentan comparaciones de las características clínicas de los pacientes con LES y AR que tuvieron ANA + ACA y las de los controles con sólo ANA+. La ocurrencia de ANA +

Antibodies, Inc. Davis, California

\*\* AFT system 1, Palbiochem-Behring, LA Jolla, California

\*\*\* Meloy Laboratories, Inc. Spring Field, Virginia)

\*\*\*\* Pel Freez Biologicals, Rogers, Arkansas

TABLA N° 1

CARACTERISTICAS DEMOGRAFICAS DE PACIENTES CON ANA + ACA Y DE CONTROLES

	N°	EDAD	SEXO			RAZA		DURACION ENFERMEDAD MESES
			M	F	N	B		
ANA+ACA	43	48.4 ± 2.5	15	28	14	29	66.7 ± 12.9	
CONTROLES								
ANA +	43	42.7 ± 2.9	11	32	12	31	74.6 ± 16.2	
ANA -	43	48.7 ± 2.5	15	28	3	40	45.1 ± 6.3	

ACA no tiene relación aparente con las características clínicas de estas enfermedades.

En la Tabla N° 5 se presentan las 6 combinaciones diferentes de patrones de inmunofluorescencia; la más común es la homogéneo/citoplasmático (22 casos; 51.2%).

Siete pacientes (16%), con ANA + ACA tenían diferentes patrones hallazgo que es muy sugestivo de LES; éste se demostró en 6 de ellos.

DISCUSION

Si bien es cierto que se dispone de suficiente información relacionada con el significado de los anticuerpos antinucleares, se ha publicado poco con

respecto a las combinaciones de patrones o a la presencia simultánea de ANA y ACA. Basados en la observación durante 5 años, hemos encontrado que las entidades más comunes en los pacientes con ANA + ACA son: LES (32.6%), AR (30.2%) y otras entidades autoinmunes (30.2%). (Tabla N° 2).

Los resultados de los estudios demográficos fueron similares en los pacientes con ANA + ACA y los controles con sólo ANA positivo; lo mismo ocurrió en relación con los anticuerpos anti-DNA, anti-Sm, anti-RNP, ASMA, AMA, anti-SS-A/Ro y anti SS-/La.

Estos hallazgos indican que la presencia simultánea de ANA + ACA es marcadora de padecimientos autoinmunes pero no específica de ninguno de ellos

TABLA N° 2

DAGNOSTICOS DE PACIENTES CON ANA + ACA Y DE CONTROLES

		LES	AR	OTRAS		TOTAL
				AUTOINMUNES	NO AUTOINMUNES	
ANA + ACA	N°	14	13	13	3	43
	%	(32.6)	(30.2)	(30.2)	(6.9)	(100.0)
CONTROLES						
ANA +	N°	13	10	18	2	43
	%	(30.2)	(23.3)	(41.9)	(4.7)	(100.0)
ANA -	N°	1	3	4	35	43
	%	(2.3)	(6.9)	(9.3)	(81.4)	(100.0)
TOTAL	N°	28	26	35	40	129
	%	(21.7)	(20.2)	(27.1)	(31.0)	(100.0)

TABLA Nº 3

CARACTERISTICAS CLINICAS DE PACIENTES CON LES CON ANA + ACA Y CONTROLES CON ANA +

Nº	EDAD	SEXO		RAZA		DURACION ENFERMEDAD (meses)	COMPROMISO RENAL	INDUCCION POR DROGAS	Nº DE CRITERIOS	
		M	F	N	B					
ANA+ACA	14	37.6 ± 4.9	5	9	6	8	47.1 ± 11.8	6	2	4.7 ± 0.4
ANA +	13	32.8 ± 4.9	5	8	7	6	49.2 ± 13.2	5	0	4.9 ± 0.3

TABLA Nº 4

CARACTERISTICAS CLINICAS DE PACIENTES CON AR CON ANA + ACA Y CONTROLES CON ANA +

Nº	EDAD	SEXO		RAZA		DURACION ENFERMEDAD (meses)	LATEX		WAALER-ROSE		Nº DE CRITERIOS	
		M	F	N	B		Nº	TITULO	Nº	TITULO		
ANA + ACA	13	53.4 ± 3	5	8	1	12	84.2 ± 28.8	12	235.3 ± 94.7	6	418.7 ± 32.8	5.4 ± 0.5
ANA+	10	41.6 ± 5	1	9	1	9	119.2 ± 29.4	8	1170.0 ± 524.6	6	110.0 ± 80.8	6.0 ± 0.3

TABLA Nº 5

		LES	AR	OTRAS		TOTAL
				AUTOINMUNES	OTRAS NO AUTOINMUNES	
ANA + ACA	C/H	4	8	8	2	22
	C/N	1	3	3	0	7
	C/M	3	1	2	1	7
	C/H/N	4	0	0	0	4
	C/H/P	0	1	0	0	1
	C/H/N/P	2	0	0	0	2
	TOTAL	14	13	13	3	43
	H	3	7	10	7	27
	N	0	0	1	0	1
	M	8	2	3	2	15
	TOTAL	11	9	14	9	43

Abreviaciones:

C: Citoplasmático; H: Homogéneo; N: Nucleolar; P: Periférico; M: Moteado

TABLA N° 6

CAMBIOS EN EL PATRON DE INMUNOFUORESCENCIA AL REPETIR LA PRUEBA EN PACIENTES CON ANA + ACA Y EN CONTROLES CON ANA +

	LES	AR	OTRAS AUTOINMUNES	OTRAS NO AUTOINMUNES	TOTAL
ANA + ACA					
NUMERO	14	13	13	3	43
CAMBIO PATRON	7	1	0	0	8*
ANA +					
NUMERO	11	9	14	9	43
CAMBIO PATRON	1	0	1	0	2*

\* P < 0.005

en particular; proporciona igual información que los ANA o los ACA aislados.

La positividad de ACA en la población normal es 1-10% (22,23); se encuentran aproximadamente en 63% de los pacientes con lupus eritematoso cutáneo subagudo (24) y ocasionalmente en otras entidades como el rechazo de injerto renal (25) y el melanoma maligno (26).

Recientemente informamos que pacientes con ACA positivo tenían entidades reumatológicas similares a los con ANA positivo. (8).

El LES, como prototipo de enfermedad autoinmune, produce una amplia gama de anticuerpos que reaccionan con componentes nucleares y citoplasmáticos (1-3,25,27,28); los diferentes patrones observados en la inmunofluorescencia resultan de combinaciones de anticuerpos con distintas especificidades (7,12,29,30). Se acepta que la presencia de varios autoanticuerpos es más sugestiva del diagnóstico de LES (31,32).

En nuestro estudio, 8 de los 43 pacientes con ANA + ACA mostraron cambios en el patrón de inmunofluorescencia cuando se repitió la prueba; ello sugiere que el patrón mixto puede ser producido por anticuerpos que son detectados transitoriamente (Tabla N° 6).

Con los diferentes sustratos se conocen 4 patrones de ACA: anti-mitocondrial, anti-músculo liso, ribosomal y microsomal (7). Sin embargo, su significado clínico no está suficientemente establecido (8,33). En consecuencia se puede concluir que el marcador ANA + ACA no es específico de ninguna entidad en particular y quizás tiene igual significado que los ANA positivos. Sin embargo, otros estudios de estos pa-

trones combinados podrían indicar diferencias en los pacientes con entidades autoinmunes, principalmente en relación con la etiología, la patogénesis o la actividad de la enfermedad.

SUMMARY

CLINICAL SIGNIFICANCE OF MIXED ANTI-NUCLEAR AND ANTI-CYTOPLASMIC ANTIBODY PATTERN

To date, the clinical significance of combined anti-nuclear (ANA) and anti-cytoplasmic (ACA) indirect immunofluorescent staining has not been comprehensively studied. ANA + ACA staining was observed in 43 (0.6%) out of 7.121 consecutive sera during ANA screening for immunologic disorders in a referral hospital; both inpatient and outpatient population were included. Homogeneous ANA + cytoplasmic was by far the most common staining pattern among 6 different fluorescent combinations detected. Disease distribution was similar in groups of patients with ANA + ACA and in those with only ANA +. We conclude that information provided by mixed antibody pattern is similar to the one obtained with the sole presence of ANA; also that the presence of the mixed pattern does not characterize any particular subgroup of LES patients.

## BIBLIOGRAFIA

1. ROBBINS WC, HOLMAN HR, DEICHER H, KUNKEL HG. Complement fixation with cell nuclei and DNA in lupus erythematosus. *Proc Soc Exp Biol Med* 1957; 96: 575-579.
2. TAN EM, KUNKEL HG. Characteristics of a soluble nuclear antigen precipitating with sera of patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 1966; 96: 464-471.
3. MATTIOLI M, REICHLIN M. Characterization of a soluble nuclear ribonucleoprotein antigen reactive with LE sera. *J Immunol* 1971; 197: 1281-1290.
4. ALSPAUGH MA, TAN EM. Antibodies to cellular antigens in Sjogren's syndrome. *J Clin Invest* 1975; 55: 1067-1073.
5. FRITZLER MJ, ETHERINGTON J, SOKOLUK C, KINSELLA DT, VALENCIA DW. Antibodies from patients with autoimmune disease react with a cytoplasmic antigen in the Golgi apparatus. *J Immunol* 1984; 132: 2904-2908.
6. KURKI P, VIRTANEN I. The detection of human antibodies against cytoskeletal components. *J Immunol Methods* 1984; 67: 209-223.
7. MOLDEN DP, NAKAMURA RM, TAN EM. Standardization of the immunofluorescence test for autoantibody to nuclear antigens (ANA): use of reference sera of defined antibody specificity. *Am J Clin Pathol* 1984; 82: 57-66.
8. TESSER JRP, ROTHBERGER H, AGUDELO C. The clinical significance of anticytoplasmic antibodies found on fluorescent antinuclear antibody testing. *J Rheumatol* 1983; 10: 227-234.
9. CHRISTIAN CL, ELKON KB. Autoantibodies to intracellular proteins. *Am J Med* 1986; 80: 53-61.
10. TAN EM. Autoantibodies to nuclear antigens (ANA): their immunobiology and medicine. *Adv Immunol* 1982; 33: 167-240.
11. NAKAMURA RM, GREENWALD CA, PEEBLES CL. Autoantibodies to nuclear antigens (ANA): immunochemical specificities and significance in systemic rheumatic diseases. *Am Soc Clin Pathol* 1978; 76: 94-99.
12. NAKAMURA RM, TAN EM. Recent progress in the study of autoantibodies to nuclear antigens. *Hum Pathol* 1978; 9: 85-91.
13. TAN EM, COHEM AS, FRIES JF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1271-1277.
14. ROPES MW, BENNETT EA, COBB S, JACOX R, JESSAR RA. 1958 revision of diagnostic criteria for rheumatoid arthritis. *Bull Rheum Dis* 1958; 9: 175-180.
15. SCOPELITIS E, BIUNDO JJ. Inconsistent staining of Hep-2 cell with anti-SSA antibody. *Arthritis Rheum* 1984; 27: 1318-1320.
16. PARKER MD, KERBY GP. Combined titre and fluorescent pattern of IgG antinuclear antibodies using cultured cell monolayers in evaluating connective tissue diseases. *Ann Rheum Dis* 1974; 33: 465-472.
17. TUCKER ES, NAKAMURA RM, DITO WR, NICHOLS WS. Test compendium. La Jolla, CA: Scripps-Miles, 1981.
18. KURATAN, TAN EM. Identification of antibodies to nuclear acidic antigens by counterimmunoelectrophoresis. *Arthritis Rheum* 1976; 19: 574-580.
19. MCCARTY GA, VALENCIA DW and FRITZLER MJ. Antinuclear antibodies. New York: Oxford University Press, 1984.
20. WANG TY. The isolation and purification of mammalian cell nuclei. *Methods Enzymol* 1967; 12 (Pt A).
21. LEE TK, ROTHBERGER H. Immunoperoxidase assay for anti-dsDNA antibodies using *Crithidia luciliae* substrates. *Scand J Rheumatol* 1985; 14: 386-392.
22. FRITZLER MJ, PAULS JD, KINSELLA TD, BOWEN TJ. Antinuclear, anticytoplasmic and anti-Sjogren's syndrome antigen A (SS-A/Ro) antibodies in female blood donors. *Clin Immunol Immunopathol* 1985; 36: 120-128.
23. WHITTINGHAM S, IRWIN J, MACKAY IR, MARSH S, COWLING DC. Autoantibodies in healthy subjects. *Austral Ann Med* 1969; 18: 130-134.
24. SONTHEIMER RD, MADDISON PJ, REICHLIN M, et al. Serologic and HLA associations in subacute cutaneous lupus erythematosus, a clinical subset of lupus erythematosus. *Ann Intern Med* 1982; 97: 664-671.
25. MCCARTY GA, KING LB, SANFILIPPO F. Autoantibodies to nuclear, cytoplasmic, and cytoskeletal antigens in renal allograft rejection. *Transplantation* 1984; 37: 466-471.
26. THOMAS PJ, KAUR JS, AITCHESON CT, ROBINSON WA, TAN EM. Antinuclear, antinucleolar and anticytoplasmic antibodies in patients with malignant melanoma. *Cancer Res* 1983; 43: 1372-1380.
27. PROVOST TT, AHMED RR, MADDISON P, REICHLIN M. Antibodies to cytoplasmic antigens in lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1977; 20: 1457-1463.
28. CHUBICK A. DNA antibodies in systemic lupus erythematosus and pseudolupus syndrome. *Adv Intern Med* 1980; 26: 467-487.
29. TAN EM. Relationship of nuclear staining patterns with precipitating antibodies in systemic lupus erythematosus. *J Lab Clin Med* 1967; 70: 800-812.
30. WANGEL AG, TEPPPO AM, POLLARD A, HOWARTH S. Antibody profiles of sera giving different nuclear staining patterns. *Scand J Rheumatol* 1984; 13: 303-309.
31. WILLIAMS RC. Antibodies in systemic lupus erythematosus- diversity finally simplified. *J Lab Clin Med* 1982; 100: 161-164.
32. NOTMAN DD, KURATAN, TAN EM. Profiles of antinuclear antibodies in systemic rheumatic diseases. *Ann Intern Med* 1975; 83: 464-469.
33. PALLER MS, MOORE WS, TAN EM, SCHRIER RW. Anticytoplasmic antibodies in antinuclear antibody negative lupus erythematosus. Correlation with clinical course. *Am J Med* 1983; 75: 529-533.