

Frecuencia de anticuerpos antinucleares en ancianos sanos

C. Ocaña Medina^a, F. García Hernández^a, M.J. del Castillo Palma^a, I. Wichmann^b,
N. Respaldiza^b y J. Sánchez Román^a

^aUnidad de Colagenosis. Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. ^bServicio de Inmunología. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. España.

Fundamento: Conocer la frecuencia de anticuerpos antinucleares (AAN) en población anciana en Andalucía.

Pacientes y métodos: Se estudiaron 100 ancianos sanos (edad media, 81,6 años) y un grupo control de 199 donantes de sangre (edad media, 33,5 años). Los AAN se determinaron mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI; sustratos triple de rata y HEp-2), los anticuerpos anti-ENA mediante contraelectroforesis y los anticuerpos anti-ADNn con IFI (*Critidia luciliae*).

Resultados: En ancianos, el título de AAN fue > 1/40 en el 51% y > 1/160 en el 36% (sustrato triple de rata), y > 1/40 en el 74% y > 1/160 en el 64% (sustrato HEp-2). El patrón más frecuente fue el moteado fino. Los anticuerpos anti-ADNn y anti-ENA fueron negativos. En controles, la frecuencia de AAN > 1/40 (HEp-2) fue del 7,5% ($p < 0,001$).

Conclusión: La alta frecuencia de AAN en ancianos obliga a valorarlos con cautela en ausencia de indicios clinicobiológicos de enfermedad autoinmunitaria.

Palabras clave: Anticuerpos antinucleares. Ancianos. Contraelectroforesis.

Frequency of antinuclear antibodies in the healthy elderly

Objective: To determine the frequency of antinuclear antibodies (ANA) in the elderly population of Andalusia (Spain).

Patients and methods: We studied 100 healthy elderly individuals (mean age: 81.6 years) and a control group of 199 blood donors (mean age: 33.5 years). ANA were determined by indirect immunofluorescence (IFI) (triple rat and HEp-2

substrates), anti-ENA antibodies were determined by counterimmunoelectrophoresis, and anti-double-stranded DNA antibodies were determined by IFI (*Critidia luciliae* substrate).

Results: In elderly subjects, the ANA titer was >1/40 in 51% and >1/160 in 36%, determined on triple substrate (rat stomach, kidney, liver), and >1/40 in 74% and >1/160 in 64% on HEp-2 substrate. The most frequent pattern was a diffuse speckled pattern. Anti-double-stranded DNA and anti-ENA antibodies were negative. In controls, the frequency of ANA >1/40 (HEp-2) was 7.5% ($p < 0.001$).

Conclusion: The high frequency of ANA in elderly subjects indicates the need for careful assessment when clinical or biological signs of autoimmune disease are lacking.

Key words: Antinuclear antibodies. The elderly. Counterimmunoelectrophoresis.

Introducción

En individuos sanos de edad avanzada y que no están afectados por enfermedades sistémicas autoinmunitarias, se ha encontrado una frecuencia elevada de positividad de anticuerpos antinucleares (AAN) y otros autoanticuerpos^{1,2}. Entre las distintas series publicadas, se observan discrepancias importantes en relación con esta frecuencia que, posiblemente, se deben a variaciones en los métodos de detección, o a diferencias raciales, ambientales o de cualquier otra índole en la muestra considerada. No existen estudios publicados sobre este tema en España, por lo que los autores se propusieron valorar la frecuencia de anticuerpos antinucleares en la población anciana en Andalucía.

Pacientes y métodos

Se estudiaron 100 ancianos, con edad igual o superior a 65 años (36 varones y 64 mujeres), residentes en una institución benéfica no hospitalaria. Su edad media fue de 81,6 años (límites, 65-96; desviación típica, 7,3). Ninguno de ellos tenía antecedentes de

Correspondencia: Dr. J. Sánchez Román.
Plaza de San Martín, 3 F, 20. 41003 Sevilla. España.

Manuscrito recibido el 30-6-2003 y aceptado el 4-5-2004.

TABLA 1. Anomalías clinicoanalíticas

Datos clínicos	%
Aftas orales	8
Artritis	2
Artralgias	57
<i>Livedo reticularis</i>	3
Leucopenia ($< 4 \times 10^9/l$)	3
Linfopenia ($< 1,5 \times 10^9/l$)	34
Trombopenia ($< 100 \times 10^9/l$)	6

enfermedad sistémica ni consumía medicamentos relacionados con una posible inducción de anticuerpos antinucleares (como procainamida, alfa-metil-DOPA o hidantoínas). En todos los casos, se realizó una historia clínica detallada que valoraba específicamente, según un protocolo establecido, la presencia o ausencia, actual o previa, de síntomas y signos clínicos comunes en enfermedades sistémicas autoinmunitaria (eritema malar, lupus discoide, *livedo reticularis*, úlceras mucosas, dolor o inflamación articular, psicosis, fenómeno de Raynaud, síntomas o signos de neuropatía, cardiopatía o nefropatía u otros no explicables por otras causas). Se realizó un estudio analítico general y un estudio inmunológico específico para investigar la presencia de AAN mediante inmunofluorescencia indirecta (IFI) sobre sustrato triple de rata (estómago, riñón, hígado; BioSystems S.A., Barcelona, España) y línea celular HEP-2 (Labodia, Yens, Suiza). Los anticuerpos anti-ENA se determinaron mediante contrainmuno-electroforesis, y los anticuerpos anti-ADN nativo mediante IFI, y se utilizó como sustrato *Critidia luciliae* cepa 30258 (*Strickland*) de Wallace y Clark. Como segundo anticuerpo se utilizó una antiinmunoglobulina total (IgG-A-M) marcada con fluoresceína (DAKO, Glostrup, Dinamarca) para tejido compuesto de rata y para *C. luciliae* a la dilución de 1/40, y para la línea celular HEP-2 el conjugado suministrado ya diluido por Labodia. La referencia de calidad de todos los sustratos viene avalada por los Talleres de Autoinmunidad de la Sociedad Española de Inmunología y de los European Consensus Finding Studies (Autoantibodies in Rheumatic Diseases) organizados por Peter Charles (Londres), en los que participa nuestro laboratorio. Para establecer la presencia o ausencia de enfermedad sistémica, especialmente lupus eritematoso sistémico (LES), se aplicaron los criterios aceptados internacionalmente³⁻⁵. Paralelamente, se investigó la presencia de AAN (sustrato HEP-2) en un grupo control de 199 individuos sanos (donantes de sangre), 139 mujeres y 60 varones menores de 65 años, sin ningún otro criterio de selección. Su edad media fue de 33,5 años (límites, 18-59; desviación típica, 11,6). Para el análisis estadístico se utilizó la prueba de la χ^2 y, cuando así lo exigía la pequeñez de la muestra, la prueba exacta de Fisher para datos no paramétricos, y la t de Student para datos paramétricos.

TABLA 2. Autoanticuerpos (IFI)

Patrón*	100 ancianos N1 (%)	199 controles N1 (%)
<i>Sustrato triple</i>		
Moteado fino	38	ND
Músculo liso	9	ND
Parietal gástrico	6	ND
Mitocondrial	1	ND
Mixto	1	ND
Periférico	0	ND
Nucleolar	0	ND
Homogéneo	0	ND
<i>Sustrato HEP-2</i>		
Moteado fino	67	7 (3,5)
Moteado citoplasmático	10	3 (1,5)
Centriolo	7	4 (2)
Cuerpos intermedios	5	1 (0,5)
Citosqueleto	5	0
Aparato de Golgi	2	0
Centrosoma	2	1 (0,5)
Homogéneo	1	0
Periférico	1	0
Puente intercelular	0	2

ND: no determinado.

*En algunos pacientes se aprecia más de un patrón.

Resultados

En la tabla 1 se recoge el porcentaje de datos clinicoanalíticos (frecuentemente asociados a LES) observados en los individuos objeto de estudio (actuales o previos). Las frecuencias más elevadas correspondían a antecedentes de artralgias (57%); únicamente en un 2% de los pacientes se recogieron antecedentes sugerentes de artritis, y un 8% refería episodios previos de aftas orales (según la sintomatología referida por ellos mismos, no activa en el momento de la exploración). Se constató linfopenia (34%) y trombocitopenia (6%) en el momento de la valoración para el presente estudio. En ningún caso se registró eritema malar, fotosensibilidad, fenómeno de Raynaud, serositis, convulsiones o psicosis. Cuatro individuos cumplían (de forma acumulativa, no simultánea) los criterios de LES. Los AAN fueron positivos, sobre sustrato triple de rata, con un título superior a 1/40, en el 51% y, con un título superior a 1/160, en el 36%. Sobre sustrato HEP-2, los resultados fueron positivos en el 74%, a títulos mayores de 1/40, y en el 64% a títulos superiores a 1/160. La tabla 2 recoge las frecuencias relativas de los distintos patrones de anticuerpos antinucleares observados mediante IFI sobre sustrato triple y sustrato HEP-2, respectivamente. El patrón de AAN más frecuente fue el moteado fino tanto en sustrato triple (38%) como en HEP-2 (67%). Las determinaciones de anticuerpos anti-ADN nativo y anti-ENA fueron negativas en todos los casos. No se observó correlación entre presencia y mayor o menor título de AAN con respecto a la edad en ninguno de los 2 sustratos; tampoco respecto al sexo, aunque en mujeres dichos títulos

tendían a ser más elevados. En el grupo control, la determinación de anticuerpos antinucleares (sustrato HEP-2) fue positiva, superior a 1/40, en 15 individuos (7,5%). De estos, 7 (3,5%) presentaban un título superior a 1/320. El patrón más habitual fue el moteado fino en 7 individuos (35%), seguido de anticentriolo en 4, moteado citoplasmático en 2, puente intercelular en 2, centrosoma en 1 y cuerpos intermedios en 1. Tampoco en este grupo se observó correlación entre la edad y el título de anticuerpos. Las diferencias entre ambos grupos, en cuanto a positividad de AAN (HEP-2) son altamente significativas, tanto si se consideran en bloque ($p < 0,001$ para títulos $> 1/80$; *odds ratio* [OR]: 35,1) como si se refieren a títulos elevados ($p < 0,0005$ para títulos $> 1/160$; OR: 37,7).

Discusión

Los estudios acerca de frecuencia de AAN en ancianos son escasos y no comparables entre sí por diferencias en la población estudiada. Teodorescu y Froelich¹, en sujetos sanos, detectaron AAN mediante IFI en el 5% de los no ancianos y entre el 10 y el 37% de ancianos. Slater et al⁶, comprobaron que la frecuencia de AAN en una muestra de 1.010 pacientes hospitalizados, era mayor en el grupo de individuos mayores de 65 años y que, por el contrario, la sensibilidad de dicha prueba era mucho menor que en los más jóvenes para el diagnóstico de LES. Candore et al⁷, comprobaron que, al contrario de lo que ocurre para los anticuerpos específicos para un órgano, raramente observados en ancianos, la frecuencia de anticuerpos no específicos para un órgano (AAN entre ellos) aumenta paralelamente con la edad y sugieren que son expresión de daño tisular más que de proceso autoinmunitario. Yadin et al⁸, estudiaron los sueros de 506 mujeres sanas en edad fértil y encontraron en 60 de ellas títulos altos de diversos AAN. Tras seguimiento de 5 años, persistían títulos altos en 57, y ninguna de las pacientes presentó datos clínicos claros de enfermedad autoinmunitaria. Según estos autores, en sujetos normales, los títulos altos de AAN no son necesariamente indicativos de alto riesgo de desarrollo de enfermedad autoinmunitaria. En 1990 Ruffatti et al², en un estudio en el que comparaban la frecuencia de AAN, anticuerpos anticardiolipina y factor reumatoide IgM entre ancianos sanos y menores de 65 años, llegan a la conclusión de que es preciso realizar una corrección por edad para evaluar la significación clínica de la positividad de estos anticuerpos en la población anciana. Estos mismos autores⁹, investigaron la frecuencia de anticuerpos anti-ADN nativo en ancianos sanos, utilizando la técnica de inmunofluorescencia indirecta sobre *C. luciliae*, y encontraron una frecuencia del 7,6%. Este resultado difiere, no obstante, del que observaron en pacientes con

LES, y se caracteriza por títulos bajos de anticuerpos exclusivamente de clase IgA, que no fijan complemento y por la no detección de anticuerpos mediante técnica de Farr. Por último, en un trabajo japonés de 1995¹⁰, relativo a 96 ancianos hospitalizados no seleccionados, los AAN fueron positivos en un 33% a títulos bajos. En el 44% de los casos no se hallaron causas para ello, aparte de la edad. En el presente estudio se comprueba una frecuencia muy alta de positividad para AAN en ancianos sanos, que difiere significativamente de la que se observa en sujetos más jóvenes de un grupo control (especialmente cuando se consideran los títulos claramente elevados). Para la detección de AAN, se utilizó la técnica de IFI por ser la más sensible, reproducible y fácil de realizar. Se usaron 2 sustratos, triple de rata y línea celular HEP-2. Aunque el primero es el que se emplea con mayor frecuencia y permite un cierto grado de comparación entre distintas series, en la actualidad se tiende a utilizar líneas de cultivos celulares (células epiteliales humanas HEP-2). Por tener núcleos y nucleolos mayores que los de tejidos de animales y aparecer frecuentemente en fase de división, estas células ofrecen una mayor sensibilidad en la detección de cantidades pequeñas de anticuerpos y una mayor comodidad para la observación al microscopio. Las líneas celulares humanas poseen cantidades detectables de ciertos antígenos (como SSA/Ro) que están ausentes o pobremente expresados en el hígado o riñón de rata. Por ello, su empleo ha permitido detectar la presencia de AAN en sueros, que ensayados previamente sobre tejidos de rata, se consideraron negativos. Todo ello explicaría la diferencia en los porcentajes de positividad en la presente serie, con uno u otro sustrato. El patrón observado sobre HEP-2 fue extremadamente variado (tabla 2). Sin embargo, predominaba el moteado fino (67%) y, a considerable distancia, el moteado citoplasmático (10%) y anticentriolo (7%). El método utilizado para la determinación de anticuerpos anti-ADN nativo (*C. luciliae*) en el presente trabajo, se caracteriza por una gran especificidad ($> 95%$) para el diagnóstico de LES, si bien su sensibilidad es mucho más discreta¹¹. Como ya se mencionó, no se observó ningún resultado positivo. En una primera apreciación superficial podría afirmarse que 4 de los sujetos estudiados cumplían un número suficiente de criterios de la ARA (4) para establecer el diagnóstico de LES (además de la positividad de los AAN, la presencia no simultánea de linfopenia, afección articular y aftas orales en todos ellos). Sin embargo, las siguientes matizaciones inclinan a los autores a afirmar que ninguno de ellos presentaba la enfermedad. En cuanto a la linfopenia, su valoración en el anciano debe ser corregida ya que, en edades avanzadas, se describe un descenso natural, tanto de los linfocitos totales como de sus subpoblacio-

nes¹². La cifra media de linfocitos totales en la presente serie ($1,9 \times 10^9$ células/l; desviación típica, 0,72; límites, 0,64-3,9) es considerablemente baja con respecto a las habituales de la población general, cosa lógica dada su avanzada edad. No se observaron tampoco diferencias significativas para las cifras de linfocitos (ni para la presencia o ausencia de linfopenia) en relación con la positividad o negatividad de los AAN (tomando como punto de corte tanto el valor 1/80 como el valor 1/160). Por tanto, la linfopenia de los 4 individuos en discusión ($1,18$, $1,31$, $1,32$ y $1,47 \times 10^9$ linfocitos/l) es, realmente, muy poco llamativa. El sistema de la ARA describe el criterio *artritis* como *artritis no erosiva que afecte 2 o más articulaciones periféricas, caracterizada por dolor, tumefacción o derrame*. En ninguno de los sujetos se observó dolor, tumefacción o derrame en el momento de la exploración, pero los 4 afirmaban que, en el curso de su dilatada vida, habían presentado alguna vez dolor articular (aunque nunca tumefacción ni signos sugerentes de derrame) cosa que, por lo demás, se registraba en más de la mitad de los individuos de toda la serie. Por lo que respecta a las aftas orales, en ninguno pudieron observarse por el médico (como indica textualmente el citado sistema de criterios) por lo que, con una aplicación rigurosa, no se cumpliría este criterio en ninguno de los pacientes. Este estudio establece, una vez más, la conclusión de que la alta frecuencia con la que se detecta positividad de los AAN en la población anciana, obliga a ser muy cautos en su valoración en ausencia de suficientes indicios clínicos o biológicos de enfermedad autoinmunitaria.

Bibliografía

1. Teodorescu M, Froelich CJ. Laboratory evaluation of systemic lupus erythematosus. En: Lahita RG, editor. Systemic lupus erythematosus. 20th ed. Nueva York: Churchill-Livingstone, 1992; p. 345-68.
2. Ruffatti A, Rossi L, Calligaro A, Del Ross T, Lagni M, Marson P, et al. Autoantibodies of systemic rheumatic diseases in the healthy elderly. *Gerontology* 1990;36:104-11.
3. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982;25:1271-7.
4. Arnett FC, Edworthy SM, Bloch DA, McShane DJ, Fries JF, Cooper NS, et al. The American Rheumatism Association 1987. Revised criteria for the classification of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 1988;31:315-23.
5. Bohan A, Peters JB. Polymyositis and dermatomyositis (first of two parts). *N Engl J Med* 1975;292:344-7.
6. Slater CA, Davis RB, Shmerling RH. Antinuclear antibody testing. A study of clinical utility. *Mech Ageing Dev* 1997;94:183-90.
7. Candore G, Di Lorenzo G, Mansueto P, Melluso M, Frada G, Li Vecchi M, et al. Prevalence of organ-specific and non organ-specific autoantibodies in healthy centenarians. *Clin Exp Rheumatol* 1997;15:603-7.
8. Yadin O, Sarov B, Naggan L, Slor H, Shoenfeld Y. Natural autoantibodies in the serum of healthy women. A five-year follow-up. *Clin Exp Immunol* 1989;75:402-6.
9. Ruffatti A, Calligaro A, Del Ross T, Bertoli MT, Doria A, Rossi L, et al. Antidouble-stranded DNA antibodies in the healthy elderly: prevalence and characteristics. *J Clin Immunol* 1990;10:300-3.
10. Teo SK, Soon PC, Ng SC. Autoantibodies in the hospitalised Oriental elderly. *Singapore Med J* 1995;36:609-11.
11. Tzioufas AG, Terzoglou C, Stavropoulos ED, Athanasiadou S, Moutsopoulos HM. Determination of anti-ds-DNA antibodies by three different methods: comparison of sensitivity, specificity and correlation with lupus activity index (LAI). *Clin Rheumatol* 1990;9:186-92.
12. Calderón E, Sánchez B, Medrano FJ, Stiefel P, Leal M. CD4+ T-lymphocytopenia in the elderly. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1995;14:75-7.