

Anticuerpos anticitoplasma del neutrófilo (ANCA): prevalencia en población sana de Santa Fe

Brissón, Cecilia María; Blanzaco, Plácido Daniel; D' Alessandro, María Eugenia; Pedro, Angela María; Giugni, María Cristina; Minella Kiryan; Denner, Susana Graciela; Fernández, Verónica Guillermina; Roldán José Nicolás

Departamento de Bioquímica Clínica y Cuantitativa. Facultad de Bioquímica y Cs. Biológicas.
Universidad Nacional del Litoral
Dirección postal: Prof. Cecilia Brissón
Paraje El Pozo – Ciudad Universitaria – CC 230 – (3100) – Santa Fe
Dirección electrónica: cbrisson@enrterios.net
TE: 03446-15632275 – Fax: 0342- 4575221

RESUMEN: Se determinó la prevalencia de anticuerpos anticitoplasma del neutrófilo (ANCA) en una serie de individuos normales de la provincia de Santa Fe. Pacientes y métodos: 450 sueros de individuos sanos fueron evaluados por inmunofluorescencia indirecta (IFI). Resultados: se detectaron ANCA en 13 sueros, lo que arroja una prevalencia global de 2.8%. Conclusiones: la prevalencia hallada es similar a la referida por otros autores en otras poblaciones y la determinación de ANCA por IFI puede ser útil para el diagnóstico de varias formas de vasculitis o en el diagnóstico diferencial de las enfermedad inflamatoria intestinal (EII) por su baja frecuencia en la población sana.

Palabras clave: ANCA – anticuerpos anticitoplasma del neutrófilo – vasculitis – enfermedad inflamatoria intestinal

SUMMARY: Antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA): prevalence in healthy individuals from Santa Fe. Brissón, Cecilia María; Blanzaco, Plácido Daniel; D' Alessandro, María Eugenia; Pedro, Angela María; Giugni, María Cristina; Minella Kiryan; Denner, Susana Graciela; Fernández, Verónica Guillermina; Roldán José Nicolás. The aim of the present study was to determine the prevalence of antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) in healthy individuals from the province of Santa Fe. Patients and methods: 450 sera obtained from healthy individuals were tested using an indirect immunofluorescence assay (IIF). Results: ANCA were detected in 13 sera, leading a global prevalence of 2.8%. Conclusions: the prevalence found is similar to other populations as it has been referred by different authors. ANCA determination by IIF can be useful for the diagnosis of several forms of vasculitis or in the differential diagnosis of the inflammatory bowel disease (IBD) for its low frequency in the healthy population.

Key words: ANCA - antineutrophil cytoplasmic antibodies – vasculitis – inflammatory bowel disease

Introducción

Los anticuerpos anticitoplasma del neutrófilo (ANCA) comprenden un grupo heterogéneo de autoanticuerpos contra enzimas presentes, principalmente, en los gránulos azurófilos o primarios de los granulocitos neutrófilos (PMN), pero también en monocitos y en células endoteliales. Los ANCA fueron descritos por primera vez por Davies y colaboradores en 1982 (1). Mediante la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) con neutrófilos tratados con etanol se distinguen dos patrones fundamentales: patrón citoplasmático (ANCA-c) y patrón perinuclear (ANCA-p). Las vasculitis sistémicas constituyen una

Nota: Este trabajo fue parcialmente presentado en el II Encuentro Bioquímico del Litoral y V Jornadas de Comunicaciones Técnico Científicas. Santa Fe, 15, 16 y 17 de junio de 2000.

rara condición, de diagnóstico dificultoso que han sido reclasificadas a partir del estudio de los ANCA, incluyéndose una nueva entidad: vasculitis sistémicas asociadas a ANCA (2-4). Por otra parte, se ha propuesto a ANCA en el diagnóstico diferencial entre las dos formas principales de enfermedad inflamatoria intestinal (EII), la colitis ulcerosa (CU) y la enfermedad de Crohn (EC), donde se ha encontrado una elevada especificidad de ANCA para la CU (5). Teniendo en cuenta las diferencias de prevalencia entre las series publicadas (6-9) es necesario conocer la misma en el área geográfica en estudio (uno de los objetivos centrales de nuestra investigación) y la prevalencia de los anticuerpos en la población normal de esta área geográfica. Finalmente, se ha encontrado ANCA en pacientes reumáticos, sépticos, HIV positivos, etc. (10-13).

Pacientes y Método

Pacientes

En el período comprendido entre febrero de 1998 y setiembre de 2000 se estudiaron 450 individuos sanos. El criterio de selección se basó en la ausencia de enfermedades reumáticas, autoinmunes, renales, diabetes, hipertensión o gastrointestinales y sin infección actual. El rango de edades abarcó de 7 a 87 años y se estudiaron 270 mujeres y 180 varones. Los datos se obtuvieron por interrogatorio directo al individuo.

Los sueros se extrajeron por punción venosa y se conservaron a -20°C hasta su utilización.

Inmunofluorescencia indirecta

Para la determinación de ANCA se utilizó la técnica de IFI sobre PMN humanos fijados con etanol absoluto según la metodología de Wiik (14) propuesta en el First International ANCA Workshop (Copenhague, Dinamarca, 1988). Los sueros se diluyeron 1/20 con tampón fosfato salino (PBS) y se colocó aproximadamente 40 ml de esta dilución en cada pocillo de portas que contenían PMN fijados con etanol absoluto (The Binding Site, Birmingham, UK). Simultáneamente se procesaron improntas de preparación propia en proceso de estandarización. Se incubó en cámara húmeda durante 30 minutos a temperatura ambiente. Se lavó con PBS y se incubó otros 30 minutos con anti-IgG humana marcada con isotiocianato de fluoresceína (Pasteur). Se lavó con PBS y se montó con glicerina tamponada. La observación se realizó en microscopio de epifluorescencia (Olympus CH40) en forma ciega por dos investigadores.

Se consideraron positivos los patrones IFI ANCA-p y ANCA-c. Los sueros que presentaron patrón perinuclear o nuclear se ensayaron para evaluar la presencia de anticuerpos antinucleares usando improntas comerciales con células HEP2 como sustrato (Biocientífica). Los sueros positivos para factor antinúcleo (ANA) se descartaron.

Análisis estadístico

Se obtuvo el porcentaje de individuos con ANCA en cada uno de los grupos: total, mujeres y hombres y se estableció el intervalo de confianza de 95% para estos valores.

Tabla 1: Prevalencia de los ANCA en el total de individuos estudiados, en el total de mujeres y en el total de varones

Grupo	Número de individuos	ANCA positivos		Patrón IFI			
		n	Intervalo de confianza (%) [*]	ANCA-p		ANCA-c	
				n	%	n	%
Total	450	13	2.8 1.5-4.9	13	100	0	0
Mujeres	270	6	2.2 0.8-4.8	6	100	0	0
Hombres	180	7	3.8 1.6-7.8	7	100	0	0

ANCA: anticuerpos anticitoplasma del neutrófilo; IFI: inmunofluorescencia indirecta; ANCA-p. Patrón perinuclear; ANCA-c: patrón citoplasmático.

^{*} intervalo de confianza de 95%

Resultados

Prevalencia de los anticuerpos anticitoplasma del neutrófilo

Se detectaron ANCA en 13 de 450 pacientes, 6 de ellos en mujeres y 7 en varones. Predominó en forma absoluta (100%) el patrón perinuclear (ANCA-p) sobre el citoplasmático (ANCA-c).

Anticuerpos antinucleares (ANA)

Los sueros positivos para ANCA-p se despistaron para ANA, observándose 6 positivos entre los 450 sueros estudiados, cifra que se encuentra dentro de los valores esperados para la población.

Relación entre los ANCA y las características demográficas de los individuos estudiados

No existe diferencia estadísticamente significativa fijando el nivel de significación en 0.05 en la prevalencia controlando por sexo.

Discusión

Las casuísticas consultadas informan porcentajes variables de positividad. Kallenberger (15) reporta su presencia hasta en un 5% de las personas sanas, Cardinali (13) reporta 0% en su serie, Moscardi (16) halla 1.8% en ancianos (0.7% ANCA-c y 1.1% ANCA-p), Papo (5) encuentra 2.5% de ANCA-p. Las discrepancias pueden deberse a los criterios de interpretación de la fluorescencia, presencia o ausencia de ANA o GS-ANA, a las diluciones empleadas, de lo estricto de los criterios de definición de individuo sano que se utilizan o bien, a diferencias reales de prevalencia en las poblaciones estudiadas. La baja frecuencia de ANCA en la población sana estudiada es un requisito esencial para que su presencia provea un elemento diagnóstico en las situaciones clínicas a las que se han descrito asociaciones.

Bibliografía

1- Davies D., Moran J., Niall J., Ryan G., 1982. Segmental necrotising glomerulonephritis with antineutrophil antibody: possible arbovirus aetiology. *BMJ* **285**: 606-609.
2- Hall J., Wadman B., Wood C., Ashton V., Adam W., 1984.

Vasculitis and glomerulonephritis: a subgroup with an antineutrophil cytoplasmic antibody. *Aust N Z J Med* **14**: 277-278.

3- Van Der Woude F., Rasmussen N., Lobatto S., Wiik A., Perman H., Van Es La et al., 1985. Autoantibodies against neutrophils and monocytes: tool for diagnosis and marker of disease activity in Wegener's granulomatosis. *Lancet* **1**: 425-429.

4- Falk R., Jennette J., 1988. Antineutrophil cytoplasmic autoantibodies with specificity for myeloperoxidase in patients with systemic vasculitis and idiopathic necrotizing and crescentic glomerulonephritis. *N Engl J Med* **25**: 1651-1657.

5- Papo M., Quer J., Pastor R. et al., 1998. Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilo en la enfermedad inflamatoria del intestino. *Medicina Clínica*. **110**, 11-15.

6- Duerr R., Targan S., Landers C., Sutherland L., Shanahan F., 1991. Antineutrophil cytoplasmic antibodies in ulcerative colitis. Comparison with other colitides/diarrheal illness. *Gastroenterology* **100**: 1590-1596.

7- Desuch K., OberstadT., Schaedel W., Weber M., Classen M., 1993. P-ANCA as a diagnostic marker in ulcerative colitis. *Adv Exp Med Biol* **336**: 527-531.

8- Mulder A., Broekroelofs J., Horst G., Limburg P., Neils G., Kallenberg C., 1993. Antineutrophil antibodies in inflammatory bowel disease recognize different antigens. *Adv Exp med Biol* **336**: 515-518.

9- Cambridge G., Rampton D., Stevens R. et al., 1992. Antineutrophil antibodies in inflammatory bowel disease: prevalence and diagnostic role. *Gut* **33**: 668-674.

10- Savige J. et al., 1994. Antinuclear, antineutrophil cytoplasmic and anti-glomerular basement membrana antibodies in HIV infected individuals. *Autoimmunity* **18**: 205-211.

11- Galperin C. et al., 1996. Anti-neutrophil cytoplasm antibodies in patients with chromomycosis. *Clin Exp Rheumatol* **14**: 479-483.

12- Efthimiou J., Spickett G., Lane D., Thomson A., 1991. Antineutrophil cytoplasmic antibodies, cystic fibrosis, and infection. *Lancet* **337**: 1037-1041.

13- Cardinali A., 1999. Anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos: aspectos bioquímicos y metodológicos. Importancia en diferentes patologías. *Acta Bioquímica Clínica Latinoamericana* **2**: 167-196.

14- Wiik A., 1989. Delineation of a standard procedure for indirect immunofluorescence detection of ANCA. *APMIS* **97**: 12-13.

15- Kallenberg C., Mulder A., Tervaert J., 1992. Antineutrophil cytoplasm antibodies: a still growing class of autoantibodies in inflammatory diseases. *Am J Med* **93**: 675-682.

16- Moscardi F., Ianiro J., Maxit M., 1997. Anticuerpos anticitoplasma del neutrófilo (ANCA) en ancianos. *MEDICINA (Buenos Aires)* **51**: 36-40.