

ANTICUERPOS ANT-ADN Y MANIFESTACIONES CLÍNICAS DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

C. J. Castresana—Isla*, Rafael Castillo S.**, Hugo Mora M.***
Silvia Lahmann V.**, Franz Chaves Ch. *

Key Word Index: Anti - DNA antibodies, Systemic Lupus Erythematosus

RESUMEN

Se determinó la presencia de anticuerpos anti-ADN/doble cadena en 73 pacientes con lupus eritematoso sistémico y en 20 pacientes con enfermedades reumáticas no inflamatorias, usando ADN marcado con I^{125} y precipitación con sulfato de amonio.

Los pacientes testigo con enfermedades reumáticas no inflamatorias presentaron títulos promedio de 5.8 unidades (ámbito de 1 a 11).

Cuarenta y siete pacientes (64%) con lupus eritematoso sistémico presentaron elevación de anticuerpos. En cada una de las manifestaciones clínicas evaluadas, los porcentajes de pacientes con elevación de títulos de anticuerpos anti-ADN fueron; manifestaciones cutáneas y de mucosa (72%), artritis (79%), nefropatía (67%), hipocomplementemia (77%), serositis (100%) y lupus del sistema nervioso central (100%).

La elevación de anticuerpos anti-ADN/dc es un dato importante en la evaluación de actividad de la enfermedad, pero la existencia de cifras normales no descarta la presencia de dicha actividad. [Rev. Cost. Cienc. Méd. 1985; 6(4):177-181].

INTRODUCCION

En 1957, varios grupos independientes de investigadores, descubrieron la reactividad del suero de pacientes que padecían lupus eritematoso sistémico (L.E.S.) con el ácido desoxirribonucleico (ADN) purificado; para ello utilizaron métodos de precipitación (14), hemaglutinación pasiva (8) y fijación del complemento (13). Posteriormente, por digestión con desoxirribonucleasa, se aisló el factor sérico activo, que resultó ser una inmunoglobulina (12).

Se han determinado dos tipos de anticuerpos reactivos contra el ADN:

1. Anticuerpos anti-ADN desnaturalizado, o de cadena simple (anti-ADN/cs), que se presen-

tan con una frecuencia de 90 por ciento en pacientes con L.E.S. y que pueden ser encontrados en otras enfermedades autoinmunes como artritis reumatoide, hepatitis crónica activa y cirrosis biliar primaria.

2. Anticuerpos anti-ADN nativo, o de doble cadena (anti-ADN/dc), menos frecuentes en el L.E.S., pero que se presentan excepcionalmente en otras enfermedades (10).

Desde el punto de vista clínico, los métodos que determinan el anticuerpo anti-ADN/dc son altamente específicos para la detección del L.E.S. activo (15); esto es particularmente cierto en relación a la presencia de glomerulonefritis (10). Existe además una relación directa entre títulos del anticuerpo y número de manifestaciones clínicas de actividad en estos pacientes (9). Estudios seriados de determinación de anticuerpos anti-ADN/dc en L.E.S. han demostrado que la elevación de los títulos de éstos, antecede y acompaña a los episodios de actividad de la enfermedad (6).

En Costa Rica, se ha reportado únicamente la investigación de anticuerpos anti-ADN/cs en L.E.S. y otras enfermedades inflamatorias, sin correlacionar la presencia de éstos con manifestaciones clínicas de la enfermedad (5).

El objetivo de esta comunicación es establecer la frecuencia con la que los anticuerpos antiADN/dc se encuentran positivos en pacientes costarricenses con L.E.S. activo, utilizando el método de radioinmunoensayo, previa precipitación con sulfato de amonio (1).

MATERIAL Y METODOS

Para este estudio se utilizó ADN con I^{125} (Amersham Int. Ltd. White Lion Road, Amersham, Buckinghamshire England HP7-922). El método usado está basado en la importante capacidad de precipitación que tiene el sulfato de amonio (17).

El ADN radioactivo es incubado con suero y el sulfato de amonio es usado para precipitar el complejo inmunoglobulina-ADN.

La actividad anti-ADN es expresada en términos de porcentaje de radioactividad precipitada. Los

* Servicio de Reumatología

** Laboratorio de radioinmunología

*** Servicio de Medicina Interna, Hospital Dr. R. A. Calderón G., San José - Costa Rica

sueros son diluidos al 1/10 en solución tampón y se incuban a 56°C durante 30 minutos, para inactivar el complemento sérico y otras proteínas no específicas que alterarían la prueba. Luego se agrega igual volumen de ADN marcado con I¹²⁵ y se incuba 1 hora a 37°C.

La segunda incubación se efectúa a 2-6°C durante la noche. A continuación se agrega el sulfato de amonio, se centrifuga y se cuenta el precipitado en un contador gama.

Se analizó el suero de 73 pacientes (69 mujeres y 4 hombres) que cumplían los criterios de clasificación provisional de la American Rheumatism Association para L.E.S. (2).

Todos los pacientes, excepto dos, presentaban manifestaciones de actividad inflamatoria en el momento de la toma de la muestra. Estos dos pacientes presentaron hipocomplementemia asociada, a pesar de no existir otra evidencia clínica o de laboratorio de actividad inflamatoria en ese momento.

Dado que el L.E.S. es una enfermedad multisistémica, se buscaron manifestaciones de actividad de la enfermedad a nivel de diversos órganos, tejidos y sistemas:

a. Manifestaciones cutáneas y de mucosas:

Eritema facial, lupus discoide, alopecia, fotosensibilidad, fenómeno de Raynaud y ulceraciones de mucosa oral.

b. Presencia de artritis: Constatada en el momento del examen clínico.

c. Manifestaciones renales: Proteinuria mayor de 0.5 gr. en 24 horas, hematuria (más de 5 eritrocitos por campo en el sedimento urinario) y cilindros celulares.

d. Serositis: Presencia de pleuritis y/o pericarditis.

e. Manifestaciones neurológicas: Compromiso del sistema nervioso central, psicosis, presencia de neuritis periférica.

f. Manifestaciones hematológicas: Leucopenia, anemia hemolítica con prueba de Coombs positiva y trombocitopenia.

Además, se correlacionó la elevación de anticuerpos anti-ADN/dc con la existencia de hipocomplementemia (C₃) y con la positividad de células LE.

Se determinó la presencia de anticuerpos anti-ADN/dc en 20 pacientes con enfermedades reumáticas no inflamatorias – inmunológicas como

grupo control.

De acuerdo al fabricante del ADN, se consideran elevados niveles mayores de 25 unidades de anticuerpos anti-ADN/dc.

RESULTADOS

Veinticinco pacientes (34%) presentaron manifestaciones en piel y mucosas. De ellos, 18 (72%) tenían anticuerpos anti-ADN/dc elevados. Los detalles se anotan en el cuadro 1. Cuando hubo más de una manifestación cutánea (7 casos) los anticuerpos se elevaron en todos los pacientes.

Otros criterios clínicos se anotan en los Cuadros 2 y 3.

Además seis pacientes tuvieron manifestaciones hematológicas aisladas; tres de ellos (50%) elevaron sus anticuerpos y solo uno más allá de 50 unidades. El grupo testigo presentó anticuerpos anti-ADN de 5.8 unidades como promedio (ámbito de 1 a 11 unidades).

CUADRO 1

MANIFESTACIONES EN PIEL Y MUCOSAS EN L.E.S. CORRELACION CON ANTI-ADN/DC (Relativos) (N=73)

Criterio Clínico	Porcentajes		
	Del total	Anti-ADN/dc	
		+	-
Eritema Facial (N°=12)	16	100	0
Lupus Discoide (N=3)	4	67	33
Fenómeno de Raynaud (N=7)	10	57	43
Alopecia (N=4)	10	86	14
Fotosensibilidad (N=4)	6	50	50
Ulceración oral (N=2)	3	100	0

*N= número de pacientes.

CUADRO 2
OTROS CRITERIOS CLINICOS
DE L.E.S. CORRELACION
CON ANTI-ADN/DC
(Relativos)
(N=73)

Criterio Clínico	Porcentajes		
	Del total	Anti-ADN/dc	
		+	-
Artritis (N=43)	59	79	21
Célula Le (N=28)	38	85	15
Proteinuria Mayor de 0.5G (N=24)	33	67	33
Cilindros Urina- rios Celulares (N=14)	19	86	14
C ₃ Bajo (N=13)	18	77	23
Serositis (N=6)	8	100	0
Lupus del SNC (N=2)	3	100	0
Anormalidades Hematologicas (N=30)	41	67	33

DISCUSIÓN

Gran parte de las alteraciones clínicas que se producen en el LES. dependen de fenómenos inflamatorios secundarios al depósito de complejos inmunes en la microcirculación de diversos territorios del organismo (piel, riñón, sinovial, plexos coroides). (3).

Un componente importante de estos complejos inmunes es el ADN, cuya presencia se ha demostrado por inmunofluorescencia en glomérulos renales y en plexos coroides de pacientes con L.E.S. (15).

Esto ha llevado a diseñar métodos para determinar la afinidad de las inmunoglobulinas de estos pacientes con dicho ácido nucleico, uno de los cuales valoramos en este estudio.

Como se desprende de los resultados obtenidos, los niveles de anticuerpos anti-ADN/dc se elevaron en forma paralela a las principales manifestaciones clínicas del L.E.S. en un porcentaje importante de los casos (64%).

Cuando se valoran en forma individual los diferentes parámetros clínicos, se observa que, en algunas de estas manifestaciones, la elevación de estos anticuerpos es más llamativa.

Así por ejemplo, dentro de las manifestaciones dermatológicas destaca la presencia de anticuerpos anti-ADN/dc en el ciento por ciento de los pacientes que tuvieron eritema facial. Actualmente, se ha establecido que este tipo de lesión presenta depósitos de inmunoglobulinas y complemento en la unión dermo-epidérmica; sin embargo no se ha logrado demostrar la presencia de ADN en esos depósitos (16).

La existencia de artritis coincidió con anticuerpos anti-ADN/dc elevados en el 79 por ciento de los pacientes. Desde el punto de vista experimental, hay hechos que sugieren que este proceso inflamatorio es producido por inmunocomplejos ADN/anti-ADN, pues en el líquido sinovial de pacientes con LES. se han demostrado anticuerpos anti-ADN (11) en este material biológico y se ha descrito la presencia del fenómeno LE "in vivo" (7) en él; este fenómeno es mediado por anticuerpos anti-ADN/histona.

La elevación de anticuerpos anti-ADN/dc ha sido descrita como un parámetro de gran utilidad para la detección de nefritis lúpica activa (9). En nuestros pacientes, hubo elevación de anticuerpos anti-ADN en el 67 por ciento de los casos. Cuando esta elevación se correlacionó con la presencia de cilindros celulares en el sedimento urinario, analizado por un nefrólogo, este fue de un 86 por ciento; esto sugiere que la presencia de cilindria es un indicador importante de nefritis lúpica activa.

Solamente 6 pacientes (82%) presentaron manifestaciones de serositis todos tuvieron anticuerpos anti-ADN/dc elevados; se ha descrito la presencia del fenómeno LE en el exudado de pacientes con L.E.S. y pleuritis o pericarditis, sugiriendo el papel del ADN-histona como antígeno en este tipo de manifestación inflamatoria (4). Entre los pacientes que presentaron manifestaciones hematológicas, el 67 por ciento tenían anticuerpos elevados; 6 pacientes que sólo tuvieron anomalías de este tipo, elevaron sus anticuerpos en un 50 por ciento de los casos y

CUADRO 3
CORRELACION DEL NUMERO DE CRITERIOS CLINICOS
CON NIVELES DE ANTI-ADN/DC

Número de criterios presentes	Total de casos	Anti-ADN/dc		
		Positivos		Negativos
		50U	25U	
0	2**	0/ 0%	0/ 0%	2/100%
1	14	1/ 7%	7/ 50%	7/ 50%
2	12	4/ 33%	7/ 58%	5/ 42%
3	19	7/ 37%	11/ 58%	8/ 42%
4	12	5/ 42%	9/ 75%	3/ 25%
5	9	5/ 56%	8/ 89%	1/ 11%
6	1	1/100%	0/ 0%	0/ 0%
7	2	1/ 50%	1/100%	0/ 0%
8	2	2/100%	0/ 0%	0/ 0%
	r =	0.888	0.921	0.922

** Complemento bajo (C₃)

en cifras menores que en otras manifestaciones clínicas; las alteraciones hematológicas se deben a anticuerpos citolíticos sin afinidad por el ADN (3).

Hasta aquí, se ha analizado la correlación entre elevación de anticuerpos anti-ADN/dc y manifestaciones clínicas de la enfermedad en distintos órganos y sistemas. Sin embargo, existe otro hecho interesante que se observa claramente en el Cuadro 2; cuanto mayor es el número de órganos y sistemas comprometidos por la enfermedad, mayor también es la frecuencia de positividad de estos anticuerpos y mayores también los niveles encontrados en el suero de los pacientes; de lo anterior, se desprende que existe una relación directa entre elevación de anticuerpos anti-ADN/dc y extensión del cuadro clínico. Como conclusión final, podemos decir que la elevación de anticuerpos anti-ADN/dc en pacientes con L.E.S. es un dato útil que permite suponer la presencia de un proceso inflamatorio activo, generalmente multisistémico. Sin embargo, no debe perderse de vista que un porcentaje importante de pacientes con L.E.S., no presentan elevación de anticuerpos anti-ADN/dc, a pesar de presentar manifestaciones de actividad

de la enfermedad, por lo que la normalidad en los niveles séricos de estos anticuerpos no descarta la presencia de la enfermedad ni excluye que esta se encuentre en una fase de actividad clínica.

ABSTRACT

Anti-DNA levels were measured in 73 patients with Systemic Lupus Erythematosus (S.L.E.) and in 20 control patients with non-inflammatory rheumatic diseases, using DNA (1²⁵) and ammonium sulphate precipitation.

Patients with non-inflammatory rheumatic diseases had levels of anti-DNA of (1 to 11) and ammonium sulphate precipitation.

Patients with non-inflammatory rheumatic diseases had levels of anti-DNA of 1 to 11 units (mean 5.8 units). Forty-seven patients with S.L.E. had increased levels of anti-DNA antibodies (64%). Anti-DNA antibodies were increased in relation to isolated clinical features as follows: dermatological features (72%), arthritis (79%), nephritis (67%), urinary cellular casts (86%), hematological abnormalities (67%), hypocomplementemia (77%), serositis (100%) and central nervous system disease (100%).

Increased levels of anti-DNA antibodies are an important feature of S.L.E. activity, but normal levels do not discard such inflammatory activity.

BIBLIOGRAFIA

1. Brunner CM, Davis JS. Immune mechanisms in the pathogenesis of Systemic Lupus Erythematosus. *Bull. Rheum. Dis.* 1975; 26:854-861.
2. Cohen A, Reynolds WC, Franklin EC, Kulka JP, Ropes MW, Shulman LE et al. Preliminary criteria for the classification of Systemic Lupus Erythematosus. *Bull. Rheum. Dis.* 1971; 21:643-648.
3. Coombs RRA, Gell PGH. Classification of allergic reactions responsible for clinical hypersensitivity and disease. In: *Clinical Aspects of immunology*, 3rd Ed. PGH Bell, editor. Oxford. Blackwell Scientific Publications, 1975; 761-768.
4. Dubois EL. The clinical picture of Systemic Lupus Erythematosus. In: *Lupus Erythematosus*, 2nd Ed. EL Dubois, editor. University of South California Press, Los Angeles, California, 1974; 232-379.
5. Gutiérrez A., Porras AA, Castro A. Anticuerpos DNA como ayuda en el diagnóstico de lupus eritematoso diseminado y otras enfermedades inflamatorias o neoplásicas. *Acta Med. Cost* 1979; 22:199-207.
6. Halsey JF, Woolery WA, Oleinik S, Kahale MB, Leroy EC. DNA binding activity of patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Clin. Exp. Immunol.* 1979; 35:356-363.
7. Hender GG, Pierce, RJ. In vivo LE formation in synovial fluid. *Arthritis Rheum.* 1970; 13:448-452.
8. Köftter D, Carr RI, Agnello V, Fiezi T, Kunkel HG. Antibodies to polinucleotides: distribution in normal serum. *Science.* 1969; 166:1645-1649.
9. Kredich NM, Skyler J, Roote L. Antibodies to native DNA in Systemic Lupus Erythematosus. *Arch. Int. Med.* 1973; 131:639-644.
10. McDuffie FC, Bunch TW. Immunologic tests in the diagnosis of rheumatic diseases. *Bull. Rheum. Dis.* 1976; 27:900-905.
11. Pekin TJ, Malinin TI, Zvaifler NJ. The clinical significance of deoxyribonucleic acid particles in synovial fluid. *Ann. Intern. Med.* 1966; 65:1229-1235.
12. Ouisorio FP, Friou GJ. Immunologic phenomena in patients with Systemic Lupus Erythematosus. In: *Lupus Erythematosus*, 2nd Ed. El Dubois editor, University of South California Press, Los Angeles, California, 1974; 164-190.
13. Robbins WC, Holman HR, Dercher H, Kunkel HG. Complement fixation with cell nuclei and DNA in Lupus Erythematosus. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1957; 96:575-579.
14. Schur PH, Sanson J. Immunological factors and clinical activity in Systemic Lupus Erythematosus. *New Engl. J. Med.* 1968; 278:533-538.
15. Tan EM, Schur PH, Carr RT, Kunkel HT. Deoxyribonucleic acid (DNA) and antibodies to DNA in the serum of patients with Systemic Lupus Erythematosus. *J. Clin. Invest.* 1966; 45:1732-1740.
16. VanJosst TH. An attempt to identify the nature of immunoglobulin complement deposits in the skin in Lupus Erythematosus. *Brit. J. Med.* 1973; 89:15-20.
17. Wold RT, Young FE, Tan EM, Farr RS. Deoxyribonucleic acid antibody: a method to detect its primary interaction with deoxyribonucleic acid, *Science.* 1968; 161:806-807.