

Anticuerpos anti-ribosomales como marcadores de actividad en el LES

D. ALMEIDA, J. ANTOLÍN, M. J. AMÉRIGO, A. CANTABRANA, A. ROCES, M. HAYECK

Servicio de Medicina Interna. Sección de Reumatología y Servicio de Análisis Clínicos. Complejo Hospitalario Ntra. Sra. de la Candelaria. Santa Cruz de Tenerife

ANTI-RIBOSOMAL ANTIBODIES AS MARKERS OF ACTIVITY IN PATIENTS WITH ERYTHEMATOSUS SYSTEMIC LUPUS (ESL)

RESUMEN

Objetivos: a) determinar la prevalencia de anticuerpos anti-ribosomales P en pacientes con LES en nuestro medio; b) averiguar si existen asociaciones entre manifestaciones clínicas en el LES y estos autoanticuerpos; c) analizar si existe correlación entre la presencia de anti-P en pacientes con LES y otros parámetros de laboratorio determinados habitualmente, y d) valorar la utilidad de introducir, como determinación habitual los anticuerpos anti-P.

Material y métodos: Se incluyeron en el estudio 60 pacientes diagnosticados de LES y 61 individuos sanos como grupo control. La determinación de anticuerpos anti-ribosomales se realizó mediante ELISA. En el análisis estadístico se utilizaron los test de Chi-cuadrado, Fisher y t de Student.

Resultados: De los 60 pacientes con LES, 29 (48%) tenían anticuerpos anti-P mediante ELISA. No se observó asociación entre la presencia de anticuerpos anti-P y psicosis, depresión, afectación hepática, afectación renal o cualquier otra manifestación clínica del LES.

Se encontró correlación entre los niveles de anticuerpos anti-P determinados por ELISA y los anticuerpos anti-histonas, ANA y AMA.

Conclusiones: La prevalencia de los anticuerpos anti-P en nuestros enfermos de LES es elevada (48%). Su presencia no se asoció significativamente con ninguna manifestación clínica, pero sí con otros marcadores de laboratorio relacionados con la presencia de enfermedad activa.

PALABRAS CLAVE: Anti-P. LES.

ABSTRACT

Objectives: a) to determine the prevalence of anti-ribosomal P antibodies in patients with ESL in our setting; b) to determine if there are associations between clinical signs of ESL and these autoantibodies; c) to analyze if there is any correlation between the presence of anti-P in patients with ESL and the results of other routine lab tests; and d) to assess the usefulness of implementing as routine test the determination of anti-P antibodies.

Material and methods: The study included 60 patients diagnosed of ESL and 61 healthy subjects as the control group. ELISA was used to determine anti-ribosomal antibodies. Chi-square, Fisher and Student t tests were used for the statistical analyses.

Results: Of the 60 patients with SLE, 29 (48%) had anti-P antibodies as determined by ELISA. No association was observed between the presence of anti-P antibodies and psychosis, depression, hepatic failure, renal failure or any other clinical signs of ESL.

A correlation was found between the levels of anti-P antibodies as determined by ELISA and anti-histone, ANA and AMA antibodies.

Conclusions: The prevalence of anti-P antibodies was high among our ESL patients (48%). Their presence was not significantly associated with any clinical sign; however, an association was found with other lab markers related to the presence of active disease.

KEY WORDS: Anti-P. ESL.

Almeida D, Antolín J, Amérigo MJ, Cantabrana A, Rocés A, Hayeck M. Anticuerpos anti-ribosomales como marcadores de actividad en el LES. An Med Interna (Madrid) 2002; 19: 73-75.

INTRODUCCIÓN

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune que se caracteriza por la producción de anticuerpos frente a una gran variedad de autoantígenos, presentes en el núcleo y en el citoplasma de las células.

Los autoanticuerpos citoplasmáticos más importantes en el LES son los anti ribosomales (anti-P). En 1985, dos grupos de investigadores, trabajando independientemente, identificaron el antígeno como un epítipo común presente en la región carboxiterminal de las fosfoproteínas P0 (38 kd), P1 (19 kd) y P2 (17 kd), localizadas en la subunidad mayor (60S) de los ribosomas (1,2).

La prevalencia de los anti-P en el LES varía con los diferentes grupos étnicos desde el 6% en búlgaros hasta el 36% en pacientes chinos (3). Es de destacar que llegan a estar presentes hasta en el 76% de los niños con lupus (4).

También la prevalencia depende de la técnica utilizada para su detección siendo el ELISA y el RIA, utilizando proteínas P purificadas o péptidos sintéticos, las técnicas cuantitativas más sensibles, específicas y de fácil realización. En cambio con inmunofluorescencia indirecta (IFI) es menor la proporción de sueros anti-P que producen tinción citoplasmática (5).

Los anti-P son muy específicos del LES, no se detectan en individuos sanos ni en otras enfermedades reumáticas y pue-

Trabajo aceptado: 6 de noviembre de 2001

Correspondencia: José Antolín. Servicio de Medicina Interna. Complejo Hospitalario Ntra. Sra. de la Candelaria. Carretera del Rosario s/n, 38010 Santa Cruz de Tenerife. Telf: 922 60 22 40. Fax: 922 60 00 02. e-mail: jantolin@hcan.rcanaria.es

den ser los únicos presentes (6). Su presencia ha sido relacionada con la aparición de manifestaciones psiquiátricas. Así, en un estudio retrospectivo realizado en 1987 se encontró una fuerte asociación entre los anti-P y la psicosis en el LES (7). Posteriores estudios han apoyado esta asociación (8,9), aunque otros no la han detectado (10-12). También se les ha relacionado con depresión (11).

Más recientemente se ha encontrado asociación entre anti-P y hepatitis (13-15) así como con nefropatía (14, 16).

La prevalencia de anti-P es mayor en los pacientes con LES con enfermedad activa que en aquellos en los cuales la enfermedad permanece inactiva (11, 16).

Los objetivos del presente trabajo son: a) determinar la prevalencia de anticuerpos *anti-ribosomales P* en pacientes con LES en nuestro medio; b) averiguar si existen asociaciones entre manifestaciones clínicas en el LES y estos autoanticuerpos; c) analizar si existe correlación entre la presencia de anti-P en pacientes con LES y otros parámetros de laboratorio determinados habitualmente, y d) valorar la utilidad de introducir, como determinación habitual los anticuerpos anti-P.

MATERIAL Y MÉTODOS

Muestras. Se incluyeron en el estudio 60 pacientes diagnosticados de LES según los criterios de la ARA(17). Eran 3 varones y 57 mujeres y el rango de edad de 12 a 77 años con una media de 37,9 años. El grupo control estaba formado por 61 individuos sanos donantes de sangre.

Determinación de anticuerpos anti-ribosomales mediante ELISA. Se utilizaron microplacas preparadas ImmuLISA (IMMCO Diagnostics). Los pocillos de las placas estaban recubiertos con proteínas P ribosomales purificadas. Los calibradores, controles y sueros de los pacientes se incubaron permitiendo que los anticuerpos específicos presentes se unieran al antígeno P ribosomal. Se lavaron las placas para eliminar las proteínas no unidas al antígeno. Se añadió inmunoglobulina de cabra anti-IgG humana marcada con fosfatasa alcalina. Se eliminó el exceso de inmunoglobulina conjugada mediante lavado. Se dispuso el sustrato enzimático (pNPP) y se observó la presencia de anticuerpos por el cambio de color producido. Se paró la reacción y se leyó la absorbancia en un espectrofotómetro a 405 nm. Los resultados se expresaron en unidades enzimáticas por mililitro (UE/ml). Se consideró resultado positivo a partir de 20 UE/ml (media más 3DS de 61 individuos del grupo control).

Determinación de anticuerpos anti-P, antinucleares (ANA) y antimitocondriales (AMA) por IFI. Se utilizó el procedimiento habitual para determinar ANAs usando como sustrato células HEp-2 (INOVA Diagnostics, Inc.).

Determinación de anticuerpos anti-histonas. Se realizó mediante ELISA utilizando placas preparadas QUANTA Lite (INOVA Diagnostics, Inc.), las cuales estaban recubiertas de histonas purificadas. Las muestras y controles se incubaron para que los anticuerpos se unieran al antígeno, se lavaron, se volvieron a incubar con inmunoglobulina de cabra anti IgG humana conjugada con HRP (peroxidasa de rábano), se lavaron de nuevo, se añadió el cromógeno TMB, se paró la reacción con una solución de ácido sulfúrico y se leyó la absorbancia a 450 nm. Se consideraron positivas las muestras cuya absorbancia era mayor que la media más 3DS de una población sana de donantes de sangre.

Velocidad de sedimentación globular (VSG). Se realizó mediante el método de Westergren.

Análisis estadístico. Mediante el programa RSIGMA BABEL utilizando los test de Chi-cuadrado, Fisher y t de Student.

RESULTADOS

De los 60 pacientes con LES, 29 (48%) tenían anticuerpos anti-P mediante ELISA, mientras que por IFI (usando células HEp-2 como sustrato) se detectó fluorescencia citoplasmática de tipo ribosomal sólo en 5 (8%) pacientes (Tabla I). Todos los enfermos positivos por IFI fueron positivos por ELISA sin embargo no existió relación entre la intensidad de la fluorescencia y las UE/ml (Tabla II).

TABLA I

RELACIÓN DE ANTICUERPOS ANTI-P MEDIANTE ELISA E IFI

	ELISA positivo	ELISA negativo
IFI positivo	5	0
IFI negativo	24	31

TABLA II

RELACIÓN ENTRE LA INTENSIDAD DE LA FLUORESCENCIA Y EL TÍTULO POR ELISA

	ELISA (UE/ml)	IFI (Ribosomal)
1	109	Débil
2	>174	Fuerte
3	20	Fuerte
4	38	Fuerte
5	23	Fuerte

No se observó asociación entre la presencia de anticuerpos anti-P y psicosis, depresión, afectación hepática, afectación renal o cualquier otra manifestación clínica del LES.

Se encontró correlación entre los niveles de anticuerpos anti-P determinados por ELISA y la VSG ($r=-0,45$; $p<0,05$) así como con los anticuerpos anti-histonas ($r=0,41$; $p<0,05$). También existió correlación entre anti-P y ANA ($r=0,26$; $p<0,05$) y con AMA ($r=0,96$; $p<0,05$).

DISCUSIÓN

Es de destacar la alta prevalencia de anticuerpos anti-P detectada. Las poblaciones publicadas con mayor porcentaje de positivos son infantiles (4). Este porcentaje alto de anti-P no podría ser debido a la juventud de los pacientes, ya que sólo 8 (13%) eran menores de 20 años. En cambio, podría ser atribuido a la frecuencia aumentada en nuestra población de un determinado alelo MHC que desconocemos (los enfermos no han sido tipados).

Se detectó correlación con los anticuerpos anti-histonas y éstos se asocian, en nuestra serie y en otras ya publicadas a la

actividad de la enfermedad (18). En cambio encontramos correlación negativa con la VSG que, aunque es un parámetro de "dudosa" utilidad en el lupus, se suele asociar a actividad de la enfermedad.

Chindalore y cols. han encontrado una fuerte asociación entre anti-P y anti-dsDNA (16). Los "típicos" marcadores de actividad del lupus son los anticuerpos anti-dsDNA y la actividad del complemento total (CH50 ó CH100). Sería interesante que los anticuerpos anti-P, con gran especificidad para la enfermedad, pudieran aportar información en torno a las exacerbaciones y remisiones como lo hacen los parámetros citados.

En cuanto a las técnicas utilizadas, hay que destacar que por IFI, usando como sustrato células HEp-2, sólo se detectó el 17% de las muestras que habían sido positivas por ELISA, mientras que todos los pacientes positivos por IFI lo fueron por ELISA. Esto coincide con publicaciones previas (5).

Sería aconsejable, dada la especificidad, informar siempre

que estén presentes los anticuerpos anti-P al realizar los ANA ya que no supone incremento del gasto y pueden ser de ayuda. No obstante, sería conveniente la introducción de la técnica de ELISA ya que tiene las ventajas de la cuantificación y de la mayor sensibilidad.

CONCLUSIONES

La prevalencia de los anticuerpos anti-P en nuestros enfermos de LES es elevada (48%). Su presencia no se asoció significativamente con ninguna manifestación clínica, pero sí con otros marcadores de laboratorio (anti-histonas) que a su vez se consideran relacionados con la presencia de enfermedad activa. Sería interesante estudiar la posibilidad de la utilización de los anti-P como marcadores de exacerbaciones y remisiones en el LES, reemplazando el uso de parámetros poco específicos como la VSG.

Bibliografía

1. Elkon KB, Parnassa AP, Foster CL: Lupus autoantibodies target ribosomal P proteins. *J Exp Med* 1985; 162: 459-471.
2. Francoeur AM, Peebles CL, Heckman KJ, Lee JC, Tan EM: Identification of ribosomal protein autoantigens. *J Immunol* 1985; 135: 2378-2384.
3. Arnett FC, Reveille JD, Moutsopoulos HM, Georgescu L, Elkon KB: Ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 1833-1839.
4. Reichlin M, Taylor-Albert E, Martin A: Antibodies to ribosomal "P" in pediatric systemic lupus erythematosus (abstract). *Arthritis Rheum* 1995; 38 Suppl 9: S308.
5. Bonfa E, Gaburo Junior N, Tavares AV, Cossermelli W: Comparison of five methods for the detection of antiribosomal P protein antibody. *Braz J Med Biol Res* 1994; 27: 637-643.
6. Bonfa E, Elkon KB: Clinical and serological associations of the antiribosomal P protein antibody. *Arthritis Rheum* 1986; 29: 981-985.
7. Bonfa E, Golombek SJ, Kaufman LD, Skelly S, Weissbach H, Brot N, Elkon KB: Association between lupus psychosis and anti-ribosomal P protein antibodies. *N Engl J Med* 1987; 317: 265-271.
8. Schneebaum AB, Singleton JD, Sterling GW, Blodgett JK, Allen LG, Cheronis JC, Kotzin BL: Association of psychiatric manifestations with antibodies to ribosomal P proteins in systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1991; 90: 54-62.
9. Nojima Y, Minota S, Yamada A, Takaku F, Aotsuka S, Yokohari R: Correlation of antibodies to ribosomal P protein with psychosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 1992; 51: 1053-1055.
10. Van Dam A, Nossent H, De Jong J, Meilof J, Ter Borg EJ, Swaak T, Smeenk R: Diagnostic value of antibodies against ribosomal phosphoproteins: a cross sectional and longitudinal study. *J Rheumatol* 1991; 18: 1026-1034.
11. Sato T, Uchiumi T, Ozawa T, Kikuchi M, Nakano M, Kominami R, Arakawa M: Autoantibodies against ribosomal proteins found with high frequency in patients with systemic lupus erythematosus with active disease. *J Rheumatol* 1994; 18: 1681-1684.
12. Teh LS, Bedwell AE, Isenberg DA, Gordon C, Emery P, Charles PJ, Harper M, Amos N, Williams BD: Antibodies to protein P in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 1992; 51: 489-494.
13. Koren E, Schnitz W, Reichlin M: Concomitant development of chronic active hepatitis and antibodies to ribosomal P proteins in a patient with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1993; 36: 1325-1328.
14. Hulsey M, Goldstein R, Scully L, Surbeck W, Reichlin M: Antiribosomal P antibodies in systemic lupus erythematosus: a case control study correlating hepatic and renal disease. *Clin Immunol Immunopathol* 1995; 74: 252-256.
15. Arnett FC, Reichlin MD: Lupus hepatitis: an under-recognized disease feature associated with autoantibodies to ribosomal P. *Am J Med* 1995; 99: 465-472.
16. Chindalore V, Neas B, Reichlin M: The association between anti-ribosomal P antibodies and active nephritis in systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol Immunopathol* 1998; 87: 292-296.
17. Tan EM, Cohem AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, Schaller JG, Talal N, Winchester RJ: The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1271-1277.
18. Gompert NR, Isenberg DA, Turner BM: Correlation between clinical features of systemic lupus erythematosus and levels of antihistone antibodies of the IgG, IgA, and IgM isotypes. *Ann Rheum Dis* 1990; 49 (7): 524-527.