



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

---

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES  
" I Z T A C A L A "

EVALUACION DE LA ORNITINA SERICA  
EN PACIENTES CON LUPUS  
ERITEMATOSO SISTEMICO

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

**B I O L O G O**

P R E S E N T A :

JOSE FRANCISCO BRAVO MORENO





Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Esta tesis fue realizada en el Departamento de Bioquímica -  
Aplicada de la Escuela Superior de Medicina del Instituto -  
Politécnico Nacional, bajo la dirección del profesor e in-  
vestigador del Departamento, Biólogo Eliseo Ruiz Bedolla.

Profesor Agustín Vargas

De antemano agradezco la atención  
que usted se sirva prestarme  
para la revisión de esta tesis

ATE

José Francisco Pardo Moreno

## I N D I C E

	Página
Introducción .....	1
Generalidades sobre el lupus eritematoso sistémico ....	13
Hipótesis y objetivos .....	22
Material y método .....	23
Resultados .....	27
Discusión .....	36
Conclusiones .....	46
Apéndice.....	47
Bibliografía .....	51

## I N T R O D U C C I O N

Los cambios de concentración de los aminoácidos en el suero, pueden explicar la severidad de varias enfermedades o traumas, si bien, su interpretación debe ser tomada con precaución ; se hace alusión, en ocasiones, al hecho de que pueda existir un trastorno en el metabolismo (1). Entre los aminoácidos que han sido relacionados con distintas anomalías en el organismo humano o en mamíferos, podemos citar a la arginina, que es el principal precursor de la ornitina (2,3). Por lo tanto, el evaluar ciertos aminoácidos específicos y relacionarlos con ciertos padecimientos, puede ser de gran utilidad en el apoyo diagnóstico (1,3).

La ornitina, es un aminoácido no proteico el cual, es considerado sustrato y producto de las reacciones del ciclo de la urea. El metabolismo de la ornitina puede ser considerado en cinco secciones : 1) las reacciones del ciclo de la urea ; - 2) la biosíntesis de poliaminas ; 3) la síntesis de creatina ; 4) las reacciones de la enzima ornitina aminotransferasa y 5) la síntesis de prolina (4,5).

El ciclo de la urea (figura 1).

Después de la ingesta del alimento, las proteínas son hidrolizadas a péptidos y aminoácidos en el canal alimenticio ; - cerca del 90 % de estas son absorbidas en el intestino delgado y transportadas al hígado como aminoácidos por la vena porta (4).

Estos aminoácidos que llegan al hígado, son transaminados y luego, el exceso de nitrógeno en forma de amonio entra al --

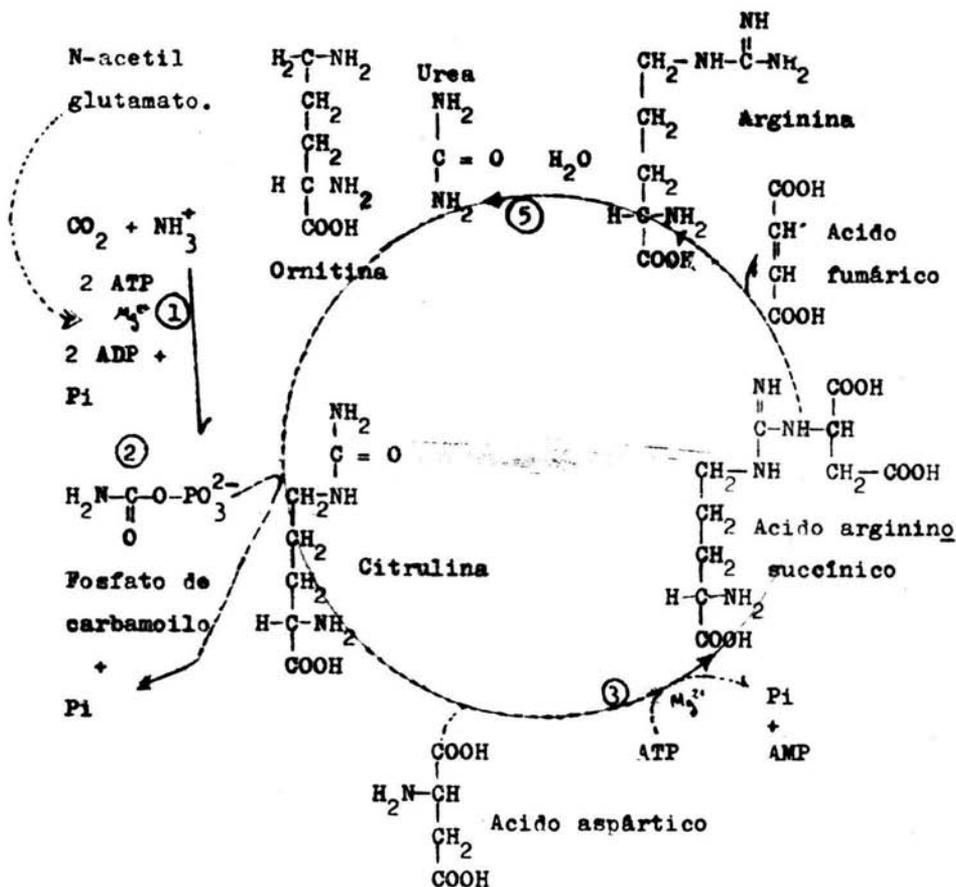


Figura 1.- Reacciones e intermediarios del ciclo de la urea. (Tomado de Murray, 4).

Clave de los números de las enzimas que participan en el ciclo de la urea.

- 1.- Carbamoil fosfato sintetasa.
- 2.- Ornitin carbamoil transferasa.
- 3.- Argininosuccinato sintetasa.
- 4.- Argininosuccinato liasa
- 5.- Arginasa

ciclo de la urea ; el remanente queda en el plasma y dentro de las células para la síntesis de proteínas (4).

Las reacciones de transaminación, son parte de la degradación de casi todos los aminoácidos, en las cuales, el grupo alfa amino se transfiere a un compuesto llamado alfa cetoglutarato con producción del derivado alfa ceto del aminoácido. En el proceso, el alfa cetoglutarato se convierte a glutamato, éste a su vez, es desaminado oxidativamente en la reacción de la glutamina deshidrogenasa para producir amonio libre y regenerar el alfa cetoglutarato (fig. 2) (4).

El amonio libre pasa a formar parte de las reacciones del ciclo de la urea (4,6).

La biosíntesis de la urea es un proceso que ocurre casi exclusivamente en el hígado, pero no se pueden excluir de importancia otros sitios extrahepáticos donde se llevan a cabo reacciones parciales de este mismo, como son : los riñones, los eritrocitos, el intestino y el corazón. Las primeras tres reacciones ocurren en la mitocondria y son : 1.- la síntesis de N-acetilglutamato a partir de acetil coenzima A y glutamato ; 2.- la síntesis de carbamoil fosfato a partir de bióxido de carbono y de iones amonio, esta reacción requiere la presencia de N-acetilglutamato ; 3.- la condensación de carbamoil fosfato con ornitina para producir citrulina. las siguientes tres reacciones continúan en el citosol y son : 1.- la condensación de citrulina con aspartato para producir argininosuccinato ; 2.- hidrólisis de argininosuccinato a arginina y fumarato ; e hidrólisis de arginina a ornitina y urea (fig. 1) (4,7,8).

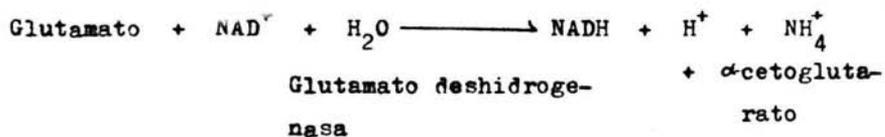
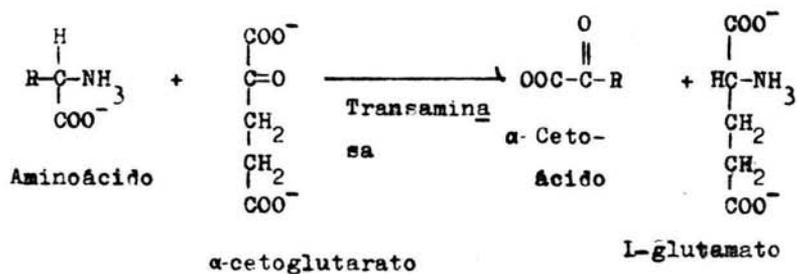


Figura 2.- Reacciones de transaminación y desaminación oxidativa. (Tomado de Lehninger, 8)

### Regulación del ciclo de la urea.

La actividad del ciclo de la urea, puede variar dependiendo de la concentración de amonio y de los aminoácidos llevados hacia el hígado a través de la arteria renal y la vena porta (4,7,8).

La cantidad de N-acetilglutamato es importante para regular la urogenesis, pues se sabe, que cuando el N-acetilglutamato está ausente ; se inactiva totalmente la carbamoil fosfato sintetasa (4,7,8).

Tambien se ha podido observar, que existen cambios en la actividad de las enzimas del ciclo de la urea en respuesta a alteraciones en la cantidad de proteínas en el alimento o -- por un daño tisular (1,4,9).

Varias hormonas incluyendo a los corticosteroides, glucagón, hormona del crecimiento y hormona tiroidea ; afectan los niveles de actividad de las enzimas del ciclo de la urea (4,9).

### Síntesis de putrescina (figura 3).

En otra parte de las reacciones del metabolismo de la ornitina, la putrescina es formada desde ornitina en una reacción irreversible catalizada por la enzima ornitina descarboxilasa ; luego, ocurre la condensación de la putrescina con porciones de propilaminas provistas por el compuesto S-adenosil metionina descarboxilada para formar la poliaminas espermidina y espermina (4,5,6).

La ornitina descarboxilasa es una enzima que depende para su actividad, de fosfato de piridoxal. Se encuentra en niveles bajos en estado fisiológico de latencia. Su actividad puede

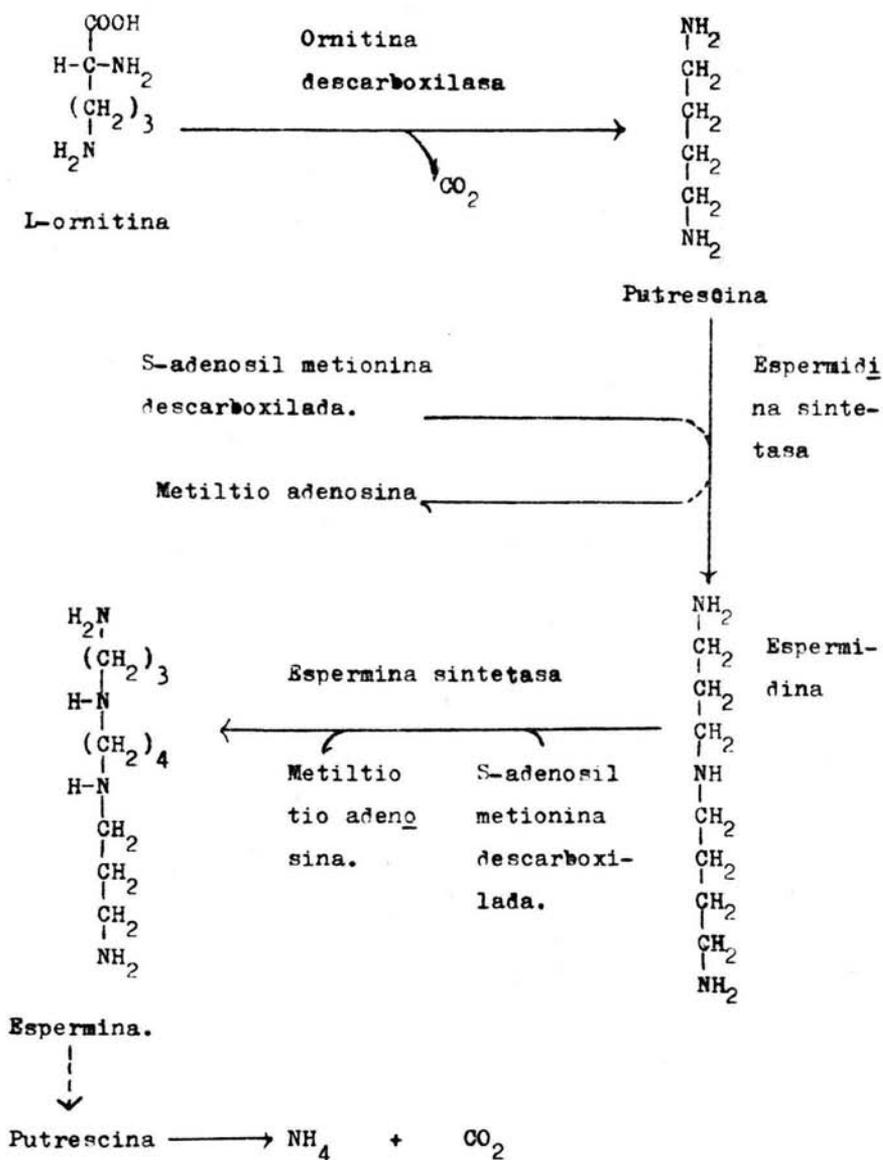


Figura 3.- Síntesis de poliaminas. (Tomado de Murray, 4).

elevarse como respuesta a varios estímulos tróficos tales como : hormonas, drogas y regeneración de tejidos (5,6).

Síntesis de la creatina (figura 4).

En la primera reacción de la síntesis de creatina, se transfiere el grupo amidino de la arginina a la glicina para formar guanidinoacetato y ornitina ; esta reacción es catalizada por la glicil transamidinasa. Posteriormente, el guanidinoacetato es N-metilado por la S-adenosilmetionina : guanidinoacetato N-metiltransferasa para formar la creatina. En humanos, la glicina transamidinasa y la metiltransferasa están presentes en alta actividad en el hígado y páncreas. La información disponible, sugiere que la creatina es sintetizada en estos órganos y transportada a el músculo, donde es fosforilada para formar la fosfocreatina, que es un fosfógeno de alta energía (figuras 4 y 5) (4,5).

Reacciones de la ornitina aminotransferasa (figura 6).

La ornitina aminotransferasa (o transaminasa) cataliza la -- formación de glutamato semialdehído y glutamato a partir de ornitina y alfa cetoglutarato. También, por medio de esta -- reacción pero en sentido inverso, se sintetiza ornitina y alfa cetoglutarato a partir de glutamato semialdehído y glutamato ; de hecho, se cree que es la única vía para producir ornitina de "novo" en mamíferos, esta síntesis de "novo" provee un mecanismo para reaprovisionar al ciclo de la urea de intermediarios, juzgando así un importante papel en la regulación de la urogénesis ; su actividad parece depender (además

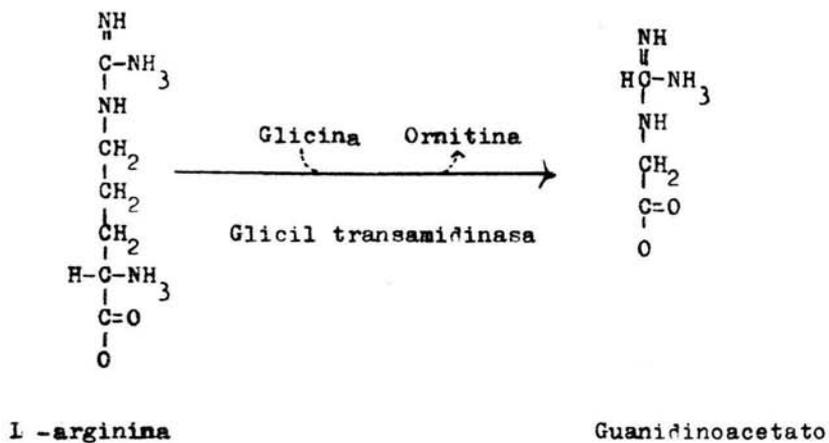


Figura 4.- Primera reacción de la síntesis de creatina.  
(Tomado de Murray, 4).

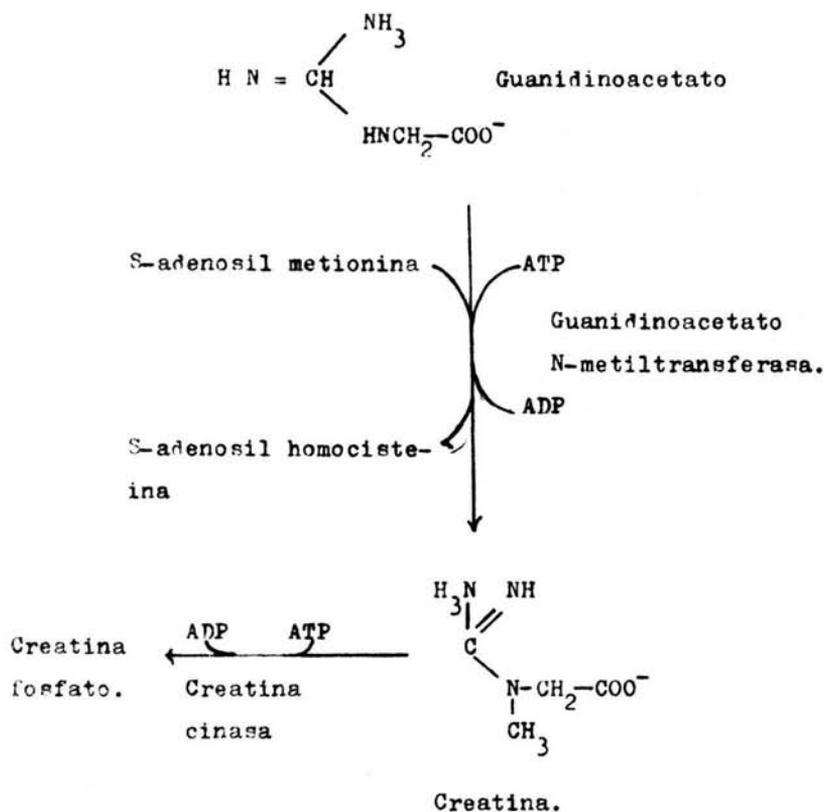


Figura 5.- Segunda de las reacciones de la síntesis de creatina. (Tomado de Murray, 4).



del fosfato de piridoxal), de la ingesta de las proteínas y de factores hormonales, se distribuye en el riñón, hígado e intestino delgado (figura 6) (4,5).

Síntesis de prolina (figura 7).

En esta reacción, el glutamato semialdehído se cicliza espontáneamente a delta pirrolin-5-carboxilato y éste a su vez forma la prolina en una reacción catalizada por la delta pirrolin-5-carboxilato reductasa. También, el delta pirrolin-5-carboxilato puede provenir a partir de glutamato en una reacción catalizada por la delta pirrolin-5-carboxilato sintetasa.

Altas concentraciones de ornitina favorecen la reacción de la ornitina a prolina, mientras que en el caso de la delta pirrolin-5-carboxilato sintetasa, parece ser inhibida aún a concentraciones fisiológicas de ornitina (figura 7) (4,5).



## Generalidades sobre el lupus eritematoso sistémico.

Hay un grupo de enfermedades conocidas como enfermedades reumáticas, que comprenden aquellas causas de dolor o rigidez del sistema muscular esquelético. Dentro de los padecimientos reumáticos, se incluyen los padecimientos de la colágena ; en los cuales, se incluye el lupus eritematoso sistémico. Las enfermedades reumáticas siempre han constituido un problema debido a que se desconoce su origen y por las dificultades que implica su tratamiento (10).

El lupus eritematoso sistémico, se define como una enfermedad general, no infecciosa, no cancerosa y autoperpetuante. Es un desorden inflamatorio multisistémico en el cual, surgen anticuerpos capaces de reaccionar contra una gran diversidad de antígenos de las propias células del organismo (por lo que son llamados autoanticuerpos) (11,12).

En el lupus eritematoso sistémico, los mayores complejos sintomáticos se deben a un mecanismo inmunológico en el que se observa la presencia de anticuerpos contra distintos componentes nucleares libres de células dañadas, observándose posteriormente, que se fijan a esta combinación una serie de -- proteínas del plasma llamadas sistema del complemento ; así, estos complejos de anticuerpo, antígeno y complemento se depositan en el endotelio de pequeños vasos sanguíneos, lo que provoca ruptura o inflamación de estos, pudiendo comprometer así a cualquier órgano, pues conforme avanza esta enfermedad es posible descubrir necrosis en varios tejidos, así como -- cuerpos de material nuclear alterado (13,14).

Igualmente, en esta enfermedad, ha sido posible obtener un -

alto porcentaje de enfermos que presentan complejos de antígeno, anticuerpo y complemento en las membranas basales de los riñones, lo que llega a ocasionar necrosis focales y nefritis lúpica ; también se han encontrado autoanticuerpos que se depositan en las membranas de los eritrocitos, causando de esta manera la lisis de la célula, y al extenderse el proceso llega a ocasionar anemia hemolítica (10,11,12).

Dentro de las manifestaciones multisistémicas que causa, a nivel clínico se le asocia con : artritis, anemia hemolítica, disminución del número de linfocitos, fallas renales, de sordenes psíquicos y enfermedades gastrointestinales (10,11,12,13).

Para evaluar y diagnosticar la enfermedad de lupus eritematoso sistémico, se sugiere que se identifiquen por lo menos cuatro de los siguientes síntomas (entre otros) : 1) eritema facial (es una mancha característica del rostro) ; 2) fotosensibilidad ; 3) úlceras bucales y nasofaríngeas ; 4) disminución del número de linfocitos y eritrocitos ; 5) artritis ; 6) psicosis, convulsiones o ambas (13,14).

Los signos iniciales pueden ser epilepsia y psicosis, los cambios histológicos sugieren fuertemente el diagnóstico. A estas manifestaciones, se completa el diagnóstico con la medición de los anticuerpos antinucleares o el análisis del complemento hemolítico al 50 %, que de acuerdo con la bibliografía consultada puede explicar el 90 % de la actividad de la enfermedad (es decir, la remisión o la fase crítica de la enfermedad), pero no puede predecirla (13,14).

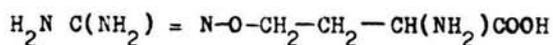
Así, nuevos hallazgos sugieren características que pueden ser patognómicas (exclusivas de la enfermedad), y que quizá se puedan relacionar con la actividad del mal o por otro la

do, se tengan que determinar nuevas demandas terapéuticas para normalizar al enfermo (12).

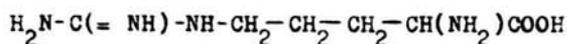
Por otra parte, como se ha mencionado ya, aún se desconoce la etiología de la enfermedad, de ahí que se ha visto con especial interés modelos en los cuales pueden observarse síndromes semejantes a la enfermedad de lupus eritematoso sistémico. La inducción de una enfermedad muy parecida al lupus eritematoso sistémico, ha sido lograda por medio de drogas (12).

Cierto interés ha causado, el hecho de que un aminoácido análogo a la arginina (ver figura 8), llamado canavanina y que se encuentra normalmente en las raíces y tallos de varias leguminosas (principalmente alfalfa), causa un síndrome semejante a la enfermedad de lupus eritematoso sistémico. Esto fue primeramente estudiado en ratas y chimpances, observándose que presentaban en el suero : anticuerpos contra DNA, disminución del número de linfocitos y eritrocitos, además de tener padecimientos renales (15). Similares hallazgos clínicos han sido detectados en humanos al administrarseles canavanina, pudiendo -inclusive- exacerbar el mal (16,17). Las causas de estos eventos no han sido bien entendidos aún, pero los relacionan con anomalías del sistema inmune (es decir, aquellos eventos donde intervienen los linfocitos T y B) (17).

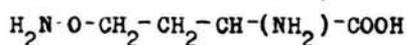
A nivel farmacológico, Thomas y colaboradores (2) encontraron que, administrando canavanina en ratas, ésta debe en parte sus efectos tóxicos a causa de que la canavanina es hidrolizada por la enzima arginasa, de canavanina a canalina y --urea. Luego, este compuesto resultado de la hidrólisis de la canavanina - que es el análogo estructural de la ornitina -



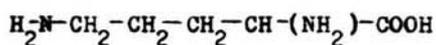
L-canavanina



L-arginina



L-canalina



L-ornitina

Figura 8.- La L-canavanina y la L-canalina son los análogos estructurales de la arginina y de la ornitina respectivamente. (Tomado de Thomas, et all., 2).

forma un complejo con una sustancia derivada de la vitamina B<sub>6</sub> llamada fosfato de piridoxal (ver figura 9). Este complejo llamado base de Schiff (18), provoca que las enzimas que utilizan al fosfato de piridoxal como cofactor, no interactuen normalmente con este mismo, lo que causa una disminución en su actividad (la actividad de una enzima se refiere a la cantidad de sustrato que pueda catalizar esta misma en un tiempo dado) y en especial, según se sabe, afecta a las enzimas del metabolismo de la ornitina (19), al no permitir que tengan una actividad catalítica normal. Así, por un lado la ornitina descarboxilasa no puede catalizar la conversión de ornitina a putrescina y por el lado de la ornitina aminotransferasa, ésta no puede catalizar la conversión de ornitina y alfa cetoglutarato a delta pirrolin-5-carboxilato y glutamato; esto causa en las ratas que se les administró canavanina, un aumento de la concentración de ornitina en el suero en gran proporción en comparación con otros aminoácidos (2). También se observa, que con altas dosis de canavanina, se altera la excreción de amonio, debido a que sus derivados metabólicos como el ácido L-canavinosuccínico y la misma canavanina, son inhibidores competitivos de los correspondientes metabolitos del ciclo de la urea; lo que causa, la acumulación de amonio en el suero (2). Este autor y los anteriores que hicieron trabajos sobre la canavanina, coinciden en señalar que es necesario estudiar con más cuidado aquellos aminoácidos que se toman en la dieta y que pueden tener efectos múltiples en el metabolismo y el sistema inmune (2,15,--17).

A este respecto, Barbul y colaboradores (3), encontraron que

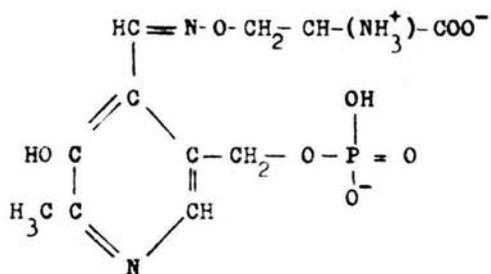


Figura 9.- Posible estructura teórica del complejo de fosfato de piridoxal con canalina.  
 (Tomado de Rosenthal,18).

la administración de arginina en humanos puede tener efectos benéficos sobre el sistema inmune. Estos investigadores, administraron arginina en individuos sanos observando una mayor proliferación de linfocitos T y B in vitro en respuesta a sustancias que promueven la mitosis (mitógenos), en comparación con individuos que no ingirieron arginina.

Se sabe también, que el cambio de la concentración de aminoácidos en el suero y de la actividad de las enzimas del ciclo de la urea que se encuentran en el hígado, puede obedecer a la toma de aminoácidos de las proteínas de los tejidos por este mismo ciclo, cuando se presenta un daño tisular (9). Los primeros experimentos que señalaron el cambio de actividad del ciclo de la urea por proteínas que provenían de los tejidos, fueron hechos con ratas a las cuales se les administraba una dieta pobre en proteínas, observándose, posteriormente, que la fuente de nitrógeno que tomaban era de las proteínas de los tejidos haciendo esto, no solo aumentar la actividad del ciclo de la urea, sino los niveles de arginasa hepática (9). También se ha visto que con altas dosis de corticosteroides se dañan tejidos extrahepáticos ; provocando este último fenómeno, un aumento en la excreción de urea (9). Luego, habría que tomar en cuenta que en la enfermedad de lupus eritematoso sistémico hay un gran daño tisular (10,12,13,14). Los daños a los tejidos extensos como los que se dan en esta enfermedad pueden causar - como en otras enfermedades - donde hay múltiples traumas (1) - un cambio en la concentración normal del patrón de aminoácidos en el plasma, entre los que se han reportado por daños a los tejidos están : la fenilalanina, la glutamina y la arginina que es el princi --

pal precursor de la ornitina (1) ; además de que en la enfermedad de lupus eritematoso sistémico se dañan tejidos extra-hepáticos en donde se sabe, puede llevarse a cabo parte de las reacciones del ciclo de la urea (estos son el riñón y -- los eritrocitos) (5).

En el riñón, por ejemplo, se sabe que se encuentran enzimas que pueden hacer variar la concentración de aminoácidos en el plasma como así serían : la glicina transaminasa, la ornitina descarboxilasa y la arginasa renal (5).

Dentro de estos aspectos, alguna relación de relativa importancia se ha estudiado entre el riñón y el hígado, puesto -- que se ha observado que, posiblemente, el riñón sintetiza arginina principalmente para que sea utilizada en la síntesis de proteínas por otros tejidos mientras que en el hígado, se sintetiza arginina principalmente para que sea hidrolizada -- en el ciclo de la urea por medio de la arginasa a ornitina y urea (20). Así, podría pensarse que el ciclo de la urea que se lleva a cabo en el hígado y las reacciones parciales del mismo que se llevan a cabo en otros tejidos, se podrían ver afectadas en algunos casos extremos de enfermos con lupus -- eritematoso sistémico, pues en estos se pueden ver dañados -- el riñón, el hígado y los eritrocitos (10,12,13).

Por otra parte, dentro de los reportes de aminoácidos en relación al lupus eritematoso sistémico, Bagirova y colaboradores (21), han encontrado en ciertos pacientes con enfermedades reumáticas, que las concentraciones de algunos aminoácidos que provenían de la hidrólisis ácida de las globulinas y la albúmina del suero, presentaban una correlación con la actividad de cada una de las enfermedades para las que probaron

dicho estudio ; encontrando específicamente para enfermos de lupus eritematoso sistémico, que la actividad alta de la enfermedad, se correlaciona con niveles bajos del aminoácido - valina en relación a individuos sanos. Finalmente, sugieren que es necesario que se estudien otros casos de pacientes - con enfermedades reumáticas para observar si también existen cambios parecidos (21).

De acuerdo a lo anteriormente escrito, y dados los múltiples daños multisistémicos que causa la enfermedad y tomando en - especial consideración causas (aún desconocidas) del papel - de los aminoácidos en el metabolismo (1,2,3,10,12) ; en el - presente trabajo se sugiere que alguna etapa del metabolismo de la ornitina puede estar afectada, tratándose de advertir un cambio de la concentración de este aminoácido en el suero. El método aquí empleado para la cuantificación de la ornitina sérica, tiene la ventaja de que sus reactivos son fáciles de conseguir, y no requiere de instrumentación ni metodología complicada, como en el caso de la detección de lupus eritematoso sistémico en base de los anticuerpos antinucleares y de la fijación del complemento hemolítico al 50 %, en donde se necesitan reunir varias muestras debido al alto costo de los reactivos, además de que con estos métodos se diagnostica la enfermedad en etapas avanzadas.

En la bibliografía consultada, se observó que no se ha evaluado la ornitina en relación al lupus eritematoso sistémico siendo esta la primera ocasión que se efectuará

La hipótesis que se plantea para este trabajo es la siguiente :

"Es posible la existencia de varias anomalías del metabolismo en individuos con lupus eritematoso sistémico, por lo tanto, la concentración de la ornitina en el suero de pacientes con este síndrome puede estar modificada respecto a sus valores normales".

Para poder demostrar esta hipótesis se plantearon los siguientes objetivos :

- 1.- Determinar la concentración de ornitina sérica en individuos sanos.
- 2.- Determinar la concentración de ornitina sérica en pacientes con lupus eritematoso sistémico.
- 3.- Establecer si existe una relación entre la concentración de ornitina sérica y la enfermedad de lupus eritematoso sistémico.

## MATERIAL Y METODO

### Material.

Tubos de ensaye de 13 X 100 mm. y 20 X 180 mm.

Pipetas serológicas de 10, 5, 2, y 1 ml.

Micropipeta de 50 microlitros.

Espectrofotómetro Coleman Junior II.

Balanza analítica.

Mezclador vortex.

Parrilla eléctrica.

Vasos de precipitado de 100 ml.

### Reactivos.

Ninhidrina (Sigma).

Ornitina (Merck).

Acido acético glacial (Merck).

Acido fosfórico (J.T. Baker).

Azida de sodio (J.T. Baker).

Agua destilada.

## Material biológico.

Para realizar la determinación de los valores de ornitina sérica se utilizaron sueros de personas que acudieron a la consulta externa del Centro Médico La Raza del I.M.S.S. en los cuales se descartó el diagnóstico de lupus eritematoso sistémico.

Las muestras se congelaron inmediatamente después de separado el suero, y se conservaron así hasta su procesamiento. Se analizaron un total de 100 sueros.

Los sueros patológicos fueron proporcionados por el Hospital de Especialidades del Centro Médico La Raza del I.M.S.S. obtenidos de pacientes con lupus eritematoso sistémico los cuales fueron diagnosticados clínicamente y comprobados por el laboratorio en base a estudios como el análisis de los anticuerpos antinucleares y la fijación del complemento hemolítico al 50 %. Dichas muestras se congelaron inmediatamente después de separado el suero y así se conservaron hasta su procesamiento final.

Se utilizaron un total de 100 sueros de pacientes con esta - collagenopatía.

Todos los sueros utilizados, tanto para los valores normales como para los patológicos, fueron de personas de ambos sexos con edades que fluctúan entre 20 y 50 años.

Los valores de ornitina sérica se correlacionaron con los títulos de anticuerpos antinucleares y los del complemento hemolítico al 50 %, los cuales, son los exámenes de laboratorio para detectar la remisión o la gravedad de la enfermedad (ver apéndice)

## M E T O D O

Técnica de la ornitina.- La ornitina libre del suero se mide por la coloración roja que forma con la ninhidrina en presencia de los ácidos acético y fosfórico (22,23).

Preparación de reactivos.

Solución de ornitina estandar. Para preparar esta solución - se disuelven 16.87 mg. de ornitina y 19.50 mg de  $\text{NaN}_3$  en 100 ml. de agua destilada.

Reactivo de ninhidrina, 25 g/l. Para preparar esta solución se disuelven 2.5 g. de ninhidrina en una mezcla que contenga 40 ml. de ácido fosfórico 6 M. (20.35 ml. de  $\text{H}_3\text{PO}_4$  al 85 % - en 50 ml. de agua) y 60 ml. de ácido acético glacial. Mas -- tarde la mezcla se calienta a  $70^\circ\text{C}$  y se deja enfriar para -- luego guardarla en un frasco ambar a temperatura de  $4^\circ\text{C}$ .

Solución blanco de reactivo. Se mezclan 40 ml. de ácido fosfórico 6 M en 60 ml. de ácido acético glacial.

Determinación de ornitina (Chinard 1952, Tomaszewski 1986).

Procedimiento :

Sustancia que se agregará a cada tubo (vol. en ml.)	Muestra problema.	Muestra blanco.	Reactivo blanco.	Muestra estandar.
Suero.	0.05	0.05	-	-
Acido acético glacial.	1.5	1.5	1.5	1.5
Reactivo de ninhi- drina.	0.5	-	-	0.5
Solución blanco de reactivo.	-	0.5	0.5	-
Solución de orni- tina estandar	-	-	-	0.05
Agua	-	-	0.05	-

Se agitan bien los tubos, se tapan y luego se colocan en baño María a ebullición durante 60 minutos. Se deja enfriar y posteriormente se lee la absorbancia en el espectrofotómetro a - 515 nm.

## RESULTADOS

Se procedió a la determinación de la ornitina sérica con la técnica anteriormente descrita, la lectura del compuesto colorido se efectuó inmediatamente después de obtenido el color.

Posteriormente se obtuvo la concentración sérica de la ornitina por medio de una curva de calibración para la ornitina, en la cual se observó una relación lineal de 0 a 15 mg/dl. Para comprobar la linealidad de la curva se utilizó el método de mínimos cuadrados y el coeficiente de correlación lineal el cual dio una  $r = 0.99$ .

Los resultados obtenidos en el presente estudio de la concentración de ornitina sérica en individuos sanos fue de 0.67 a 5.554 mg/dl con una media de 2.721 mg/dl y una desviación estándar de  $\pm 1.55$ . Para el grupo patológico se obtuvo un rango de ornitina sérica de 0.920 a 11.69 mg/dl con una media de 5.35 mg/dl y una desviación estándar de  $\pm 2.284$ .

De esto último se observa que los valores de la media de la concentración de ornitina sérica en pacientes con lupus eritematoso sistémico aproximadamente es el doble de lo que se observa para el grupo control. El valor de la  $t$  de student para los valores de ornitina fue de 8.250, siendo el de la probabilidad ;  $P < 0.05$ , lo que indica, que existe una diferencia significativa.

Para comprobar que las frecuencias del grupo patológico son diferentes de las del grupo control, se realizó una prueba especial de  $\chi^2$ , siendo igualmente  $P < 0.05$  observándose por este mismo procedimiento que los valores normales pueden ser considerados entre 0.4 y 3.0 mg/dl. En el grupo patológico -

los valores pueden ser sospechosos por arriba de 3.0 mg/dl. Los valores de ornitina sérica arriba de 5.0 mg/dl darían el diagnóstico de lupus eritematoso sistémico. Cabe resaltar que 3.0 y 5.0 mg/dl corresponden aproximadamente a cada una de las medias aritméticas para ambos grupos. Al hacer la comparación de los títulos de anticuerpos antinucleares con los valores de ornitina sérica, en forma global, aunque no proporcional, se observa que la ornitina aumenta - conforme aumentan los títulos de anticuerpos antinucleares ; además, el coeficiente de correlación de rangos de Spearman dio una correlación positiva donde :  $r_g = 0.45$  y  $r_o = 0.64$ , siendo  $P < 0.05$ . En cambio, no se observó ninguna correlación entre los niveles de ornitina sérica y los valores de complemento hemolítico al 50 %.

Tabla No 1.

Concentración de ornitina sérica de individuos clinicamente sanos.

Concentración (mg/dl)	Frecuencia	Concentración (mg/dl)	Frecuencia
0.41	5	4.51	2
0.67	4	4.77	4
0.92	5	5.02	1
1.18	8	5.28	4
1.44	3	5.54	4
1.69	1	5.79	3
1.95	7		Total = 100
2.21	5		
2.46	3		
2.72	11		
2.97	10		
3.23	1		
3.49	2		
3.74	3		
4.00	9		
4.26	5		

Tabla No 2.

Concentración de ornitina sérica de personas que padecen la enfermedad de lupus eritematoso sistémico.

Concentración (mg/dl)	Frecuencia	Concentración (mg/dl)	Frecuencia
0.92	1	6.56	4
1.44	3	6.86	2
1.95	1	7.08	2
2.72	7	7.84	3
3.23	1	8.10	1
3.49	10	8.61	2
3.74	8	8.87	1
4.00	10	9.13	3
4.26	3	9.38	1
4.51	2	9.89	1
4.77	11	10.41	1
5.02	2	11.69	3
5.28	11		Total = 100
5.54	3		
5.79	1		
6.31	2		

Cuadro No 1.

Relación de los resultados obtenidos de la concentración de -  
ornitina sérica tanto de personas sanas como de pacientes que  
presentan la enfermedad de lupus eritematoso sistémico.

Grupo	Media aritmética	Desviación estandar
Sanos	2.7208 mg/dl	$\pm$ 1.5468
Enfermos	5.3460 mg/dl	$\pm$ 2.2840

Resultados estadísticos para ambos grupos.

Prueba estadística	Resultado
t de student	8.2504817
Probabilidad	(P < 0.05).

**Cuadro No 2**

**Relación de los rangos de la concentración de ornitina sérica  
tanto de individuos sanos como de pacientes con lupus eritema  
toso sistémico.**

<b>Grupo</b>	<b>Rangos.</b>		
Personas sanas	0.67	a	5.54 mg/dl
Personas con LES	0.92	a	11.69 mg/dl

Para observar si la distribución de frecuencias entre las dos poblaciones son independientes, se realizó una prueba especial de  $\chi^2$  obteniéndose lo siguiente :

$$\chi^2 = 19.09$$

$$P < 0.05$$

Lo que indica que las dos poblaciones son independientes, así mismo, se observa que las mayores diferencias están en los siguientes rangos :

#### Rangos de ornitina

(mg/dl)

0.4 - 2.40 Esta diferencia se observa debido a que aquí caen la mayoría de los datos para el grupo - control.

4.4 - 6.4 Esta diferencia, es debido a que en este rango caen con mayor frecuencia los valores pertenecientes al grupo patológico.

**Cuadro No 3.**

**Correlación de ornitina sérica con los títulos de anticuerpos antinucleares (AAN).**

No de individuos	Valores de ornitina (mg/dl)	Títulos de AAN.
4	0.9 - 1.4	64
1	1.5 - 2.0	128
7	2.1 - 2.7	128 - 512
29	3.0 - 4.0	128 - 1024
16	4.1 - 4.8	128 - 1284
16	5.0 - 5.5	64 - 128
9	5.6 - 6.8	256 - 2084
18	7.0 - 11.6	64 - 512

Total = 100

Con los datos anteriores se puede observar, que ha medida que la concentración de ornitina aumenta, aparentemente también lo hacen los títulos de anticuerpos antinucleares. Así mismo, se observa que los mayores valores de anticuerpos antinucleares se encuentran entre 3.0 y 6.0 mg/dl de ornitina.

Se observa posteriormente (en los últimos rangos del cuadro), que ha medida que disminuyen los valores de los títulos de anticuerpos antinucleares, los valores de ornitina aumentan.

Utilizando una prueba de correlación de rangos de Spearman para ver si existe asociación entre los conjuntos de los dos grupos (el de los títulos de AAN y el de la concentración de ornitina) se obtuvieron los siguientes resultados :

Valor de  $r_s = 0.4523$

Valor de  $r_o = 0.6430$

Luego,  $P < 0.05$

Estos datos indican que existe una correlación de rangos a nivel global,  $r_s$  es el valor calculado y  $r_o$  el valor crítico de tablas.

## D I S C U S I O N

No es la primera vez que se realiza una correlación de la enfermedad con algún compuesto que se encuentra en cantidades anormales en el suero o el plasma. Por ejemplo, se ha visto con la fibronectina que se encuentra en el plasma. Al respecto, Carsons y colaboradores (24) encontraron que esta sustancia se encontraba en concentraciones mas altas de lo normal en pacientes con lupus eritematoso sistémico, observando que en ciertos casos había una correlación de los niveles de fibronectina del plasma con los títulos de los anticuerpos antinucleares y si bien, no se presentó dicha correlación en todos los individuos que estudió, el autor indica que es probable que futuros estudios a largo plazo respecto a la fibronectina plasmática, comprueben que puede servir como indicador de la enfermedad.

Para el presente estudio, en nuestros resultados observamos que la concentración de ornitina en el suero de pacientes que padecen la enfermedad de lupus eritematoso sistémico, está elevada en su concentración aproximadamente el doble respecto a las personas sanas. Algunas respuestas que respaldan estos resultados, según la bibliografía citada, se dan a continuación.

Un primer punto que hay que citar, es sobre el aminoácido -- llamado canavanina y que es capaz de inducir un síndrome parecido a la enfermedad de lupus eritematoso sistémico ; este aminoácido, según reportan, se encuentra en mas de 500 leguminosas como producto de reserva (25). La canavanina, es el análogo estructural de la arginina, este análogo, como ya se

decía, es hidrolizado a canalina y urea por medio de la arginasa ; así mismo, se ha visto que la canalina puede formar un complejo con un cofactor de las transaminasas llamado fosfato de piridoxal. Este complejo, es capaz de hacer que las enzimas que dependen del cofactor, tengan una disminución en su actividad. De hecho, se piensa que la canalina reacciona covalentemente con el fosfato de piridoxal para formar una base de Schiff, lo que trae consigo, una baja en la actividad catalítica como las de las enzimas que regulan el catabolismo de la ornitina : la ornitina aminotransferasa y la ornitina descarboxilasa. Así, al disminuir la actividad normal de estas enzimas, se provoca un aumento en la concentración de la ornitina sérica (2).

Cabe añadir, que cuando ocurre un cambio en la concentración de algún aminoácido en el suero o en el plasma, los autores explican que debe haber una alteración del metabolismo al no conocerse la vía metabólica específica que esté causando la anomalía (1) ; sin embargo, se sabe para el caso de ratas -- que han ingerido canavanina, que aunque este aminoácido afecta a todas las enzimas que dependen del fosfato de piridoxal en especial parece influir en el metabolismo de la ornitina. El hecho de que se haya visto una mayor concentración de ornitina en el suero de rata respecto a los demás aminoácidos al administrarles canavanina, así parece demostrarlo (2).

Así mismo, también se ha observado en el hígado aislado de rata, que la tasa de síntesis de urea continua normal en presencia de canalina, y que además, la adición de canalina al medio, no permite que haya una toma de ornitina que se encuentra en el mismo (19).

Para el caso de la ornitina aminotransferasa, se sabe además, que la canalina unida al fosfato de piridoxal, inhibe en mayor proporción a esta misma en comparación con las distintas enzimas dependientes del fosfato de piridoxal, puesto que se une irreversiblemente a este cofactor en la holoenzima ; en todo esto, se cree, tiene que ver el hecho de que la canalina es el análogo estructural de la ornitina (19).

Después de esto, se ha deducido que la canalina no compete por el centro activo de las enzimas, sino que la inhibición proviene de la formación del complejo ya citado anteriormente (26). Un punto relevante de este aspecto y en el cual se puede hacer énfasis es el siguiente : el autor que reportó mayor concentración de ornitina respecto a otros aminoácidos en el suero de ratas al administrarles canavanina (2), señala además, que al tratar de seguir todos los metabolitos radiactivos, encuentran que no pueden localizar un 20 % del carbono radiactivo ; es decir, no se sabe que camino metabólico ha tomado, lo que si se observa es que se libera urea radiactiva lo cual indica que la canavanina es hidrolizada a canalina y urea ; sin embargo, la canalina no fue detectada en heces y orina después de la administración de la canavanina. Este problema, aún está siendo investigado y es muy importante, puesto que el metabolito de la canavanina más tóxico es la canalina y cabe hacerse la pregunta del tiempo en que puede mantenerse en el organismo. Esto también es de interés, porque queda por plantearse que cantidad de leguminosa es capaz de inducir el mal en la dieta en humanos susceptibles de contraer lupus eritematoso sistémico y además, la capacidad del humano para metabolizar la canavanina.

Sería por lo tanto interesante estudiar si es posible que el complejo de fosfato de piridoxal unido a la canalina, se encuentra en humanos ; principalmente en aquellos que padecen lupus eritematoso sistémico. Este complejo ya ha sido detectado en el homogenizado de hígado de ratas a las cuales se les administró canavanina (25).

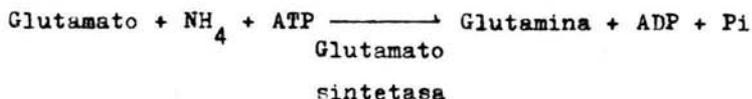
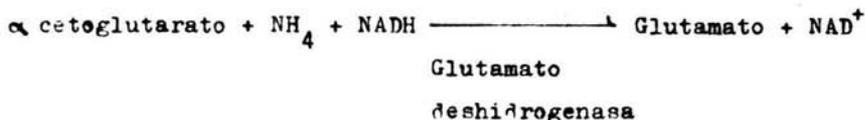
Es posible, sin embargo, que este fenómeno solo sea observado transitoriamente mientras el enfermo esté consumiendo alguna leguminosa (principalmente alfalfa), siendo de interés el que se puedan identificar aquellas partes estructurales de otras leguminosas diferentes a la alfalfa como : tallos, raíces, hojas y semillas que contengan canavanina, la cual, puede causar toxicidad en el humano. Este problema se mantiene a ser dilucidado.

Es de notar que según parece, algunos insectos tienen mecanismos muy eficaces para metabolizar la canavanina sin que les haga daño e inclusive para utilizarla como fuente de nitrógeno ; esto se ha visto en la larva de una especie de escarabajo llamado por su nombre científico Caryedes brasiliensis, el cual, consume semillas de leguminosas en exceso(27). Esto es notable, ya que en otros insectos actúa como un potente insecticida, además de que en ellos también influye en el metabolismo de la ornitina, pues, también, se ha visto -- que la concentración de ornitina en la hemolinfa de la avispa del tabaco (Manduca sexta), está elevada por haber consumido semillas que contienen canavanina (2).

Luego, para el presente trabajo, se encuentra, como ya se decía, que la concentración de la ornitina en el suero está aumentada y haciendo referencia a todo lo anteriormente escri-

to, la explicación podría residir en que es posible que algunos de estos enfermos presentan algún consumo elevado de leguminosas, principalmente de alfalfa, y que quizá en su organismo, al ser hidrolizada la canavanina a urea y canalina, - éste último compuesto esté causando la inhibición de la ornitina descarboxilasa y de la ornitina aminotransferasa ; lo que causa, como ya se ha dicho, que la ornitina en el plasma se acumule, aparte de que por otros mecanismos puede inducir o exacerbar la enfermedad de lupus eritematoso sistémico.

Se ha reportado, por otra parte, que la arginina (que es el principal precursor de la ornitina), cuando se encuentra en concentraciones anormales en el plasma ; se correlaciona con estados de psicosis y stress (3) y con anormalidades a nivel inmunológico que no guardan relación con alguna enfermedad conocida. Al respecto, cabe hacer la observación que en el lupus eritematoso sistémico, hay estados de stress y psicosis, y que estos pueden ser algunos de sus principales síntomas (10). Dentro de estos aspectos, se ha visto que en un raro desorden genético llamado hiperargininemia, se observan niveles de arginina y ornitina en el plasma muy anormales -- (por estar deficiente en su actividad la arginasa). También, por una razón no entendida aún, existe una proporción muy parecida con el plasma entre estos aminoácidos en el líquido cefalorraquídeo (28). Además, el amonio está aumentado, lo que creen que causa en estos enfermos, estados de psicosis, quizá porque no se está llevando a cabo correctamente la excreción del amonio, que según se tiene observado teóricamente, el mecanismo puede ser el siguiente :



En el cual, como se ve, es necesaria la formación de la glutamina indicándose que por esta vía, son excretados los desechos nitrogenados del cerebro (7). En relación a esto, se ha encontrado en un paciente con lupus eritematoso sistémico -- (el cual tenía síntomas de psicosis) en el líquido cefalorraquídeo, una notable disminución del glutamato, así como un elevado contenido de amonio. En este reporte, se indica la posibilidad de que se evalúe el suero para observar como se refleja la concentración de aminoácidos en estos casos (29). En ratas, por ejemplo, el exceso de canavanina puede causar una elevación de amonio en el suero, al no permitir la canavanina, que la arginina pueda convertirse a ornitina y urea, aunque esta situación pueda ser solo un caso extremo (2). El proceso por el cual la canavanina altera el sistema inmune para crear o para inducir la enfermedad de lupus eritematoso sistémico, no ha sido aclarado aún ; puesto que, en esta enfermedad, las manifestaciones son heterogeneas de un individuo a otro, por lo que los orígenes de ésta pueden ser a varios niveles (13). A este respecto, se ha encontrado que la ornitina y sus derivados toman parte en procesos de la respuesta inmune en hechos que no han logrado ser bien entendidos aún, como serían,

la proliferación de los linfocitos o de su activación, y hasta el momento esto sólo se ha visto para la arginina, la ornitina y las poliaminas y no para otros compuestos (3,30). Esto puede ser importante en el caso del lupus, puesto que en esta enfermedad se observan una serie de anomalías a nivel inmunológico (10).

Por ejemplo, se ha visto que la ornitina, la arginina y las poliaminas son capaces de tener un efecto benéfico al causar un crecimiento del timo en ratas (3) e inclusive a nivel de duplicación de los linfocitos y explican que es debido a que la arginina se metaboliza a ornitina y ésta a su vez a las poliaminas : espermina, espermidina y putrescina las cuales; son las sustancias especialmente implicadas en todos aquellos procesos de crecimiento celular ; inclusive, se piensa que tiene influencia a nivel de la hormona del crecimiento (4,6).

Desde otro punto de vista, es sabido que los daños a los tejidos pueden incrementar el patrón de la concentración de ciertos aminoácidos en el suero o el plasma. Este fenómeno, se cree, puede suceder porque el ciclo de la urea necesita metabolizar mayor cantidad de aminoácidos que provienen de los tejidos dañados, dando como resultado una mayor excreción de urea (1,4,9). Se ha visto, posteriormente, que los principales aminoácidos que pueden variar de acuerdo al patrón normal, son la glutamina y la alanina, además de la arginina. Recientes estudios, indican que variaciones de aminoácidos en el plasma como la glutamina y la alanina, producen cambios en la actividad de la ornitina descarboxilasa renal y hepática ; este efecto, parece estar implicado en la regeneración de tejidos cuando ocurre un daño a éstos (31). Así,

dentro de estos aspectos, habrá que recordar que en el lupus eritematoso sistémico hay daño hacia los tejidos provocados por los procesos inmunes (10). Un órgano que particularmente resulta dañado es el riñón, y de acuerdo a la bibliografía citada, ahí se encuentran enzimas que pueden hacer variar la concentración de ornitina en el plasma como son : la arginasa renal, la glutamina transaminadina y la ornitina descarboxilasa (5). De acuerdo a esto, y quizá con los daños debidos a los complejos inmunes hacia las células de este órgano ; éstas podrían verse afectadas, modificando así el metabolismo de la ornitina.

Aunque también se ha visto, sin embargo, que en varias enfermedades crónicas con daños hacia los tejidos, no se ha observado ningún cambio en el patrón de aminoácidos en el plasma (1) ; como así se ha visto en : fallas renales, pancreatitis aguda y en algunas cirrosis alcohólicas (1). Para el caso de el lupus eritematoso sistémico, se ha visto por otra parte, que se puede presentar en los inicios de la enfermedad, la inflamación del hígado y que esto trae consigo la elevación de varias enzimas ; aunque esto ocurre solo en un 20 % de los pacientes, además de que los síntomas desaparecen virtualmente en corto tiempo (13).

Los valores de ornitina hechos por otros métodos dan valores de 0.75 mg/dl y de 0.98 mg/dl (4,32) que, comparados con --- nuestros datos, éstos dan valores de 0.67 mg/dl a 5.55 mg/dl para la ornitina sérica, la variación se explica porque los métodos utilizados son distintos.

Dentro de las ventajas de los métodos colorimétricos en comparación de los cromatográficos se tienen los siguientes :

Los métodos colorimétricos son mas económicos ya que no requieren de aparatos caros ni sofisticados ; se utilizan aparatos existentes en cualquier laboratorio al igual que los reactivos.

El método aquí presentado es confiable por ser específico -- para la ornitina (22,23), y no requiere de mucho tiempo, --- pues abarca pocos pasos, lo que en el diagnóstico clínico es vital, pues pueden evaluarse mayor número de muestras con la mayor rapidez posible.

Los métodos cromatográficos, en cambio, tienen los siguientes inconvenientes :

Son métodos caros, porque requieren de aparatos sofisticados y de alto costo que pocos laboratorios tienen. Los reactivos también son caros y no siempre se consiguen además de que se necesita tener personal capacitado.

Su seguridad es relativa, por los muchos solventes que se -- utilizan pudiendo haber pérdida parcial o incluso total del aminoácido.

No son rápidos en su procesamiento, hay ocasiones en que para un solo paso se necesita de mucho tiempo y tiene mayor número de sucesos para su elaboración.

Por otro lado, en el presente trabajo, se correlacionaron -- los títulos de los anticuerpos antinucleares y del complemento hemolítico al 50 % (cuyos valores representan la actividad de la enfermedad ) ; con los valores de ornitina sérica observándose, que si bien, a nivel individual no hay correlación específica, a nivel de conjunto se observa un relativo aumento de la actividad de la enfermedad conforme aumenta la concentración de la ornitina para luego volver a descender ;

de hecho, se observa lo siguiente : según nuestros datos, -- los valores mayores de 3.0 mg/dl de ornitina deben ser sospechosos de presentar la enfermedad de lupus eritematoso sistémico, los valores mayores de anticuerpos antinucleares se encuentran entre 3.0 mg/dl y 6.8 mg/dl de ornitina sérica. Aparentemente se podría pensar que si la ornitina sérica está alta y los títulos se encuentran bajos, bien podría deberse, a que esos individuos se encuentran en tratamiento, y tal vez su diagnóstico requiera de otras pruebas. Cabe aclarar, que se ha detectado hasta un 10 % de personas cuyos valores de anticuerpos antinucleares son negativos. Aún no existe -- explicación válida que indique la causa de este fenómeno (33 34).

Tomando en cuenta estos datos, nos atrevemos a pensar que la determinación de ornitina sérica en pacientes con lupus eritematoso sistémico, posiblemente pueda ser de utilidad como apoyo al diagnóstico que se realiza en base a los anticuerpos antinucleares. Aunque la evaluación de la ornitina no está exenta de error, pues como puede verse en el cuadro número 3, aproximadamente un 12 % de los pacientes con lupus eritematoso sistémico presentan valores normales de ornitina ; sin embargo, esto solamente se aprecia en los pacientes que tienen títulos bajos de anticuerpos antinucleares ; por lo tanto, pensamos que si se cuantifica al mismo tiempo ornitina y anticuerpos antinucleares, se obtendrá una mejor forma de evaluar la enfermedad de lupus eritematoso sistémico.

## CONCLUSIONES

1.- Hay una diferencia significativa de la concentración de ornitina sérica en pacientes con lupus eritematoso sistémico en comparación con los individuos sanos.

2.- Al comparar los valores de complemento hemolítico al 50 % con los valores de ornitina sérica, se observó que no existe ninguna correlación; sin embargo, si hay correlación entre la ornitina sérica y los títulos de anticuerpos antinucleares. Por lo tanto, pensamos que no es de mucha utilidad la determinación del complemento hemolítico al 50 % en el suero de pacientes con lupus eritematoso sistémico al compararlo con los valores de ornitina sérica.

De acuerdo a esto, se propone la evaluación de la ornitina sérica como un refuerzo para el diagnóstico de la enfermedad. Aunque es necesario hacer estudios mas extensos para observar si los niveles de ornitina sérica se correlacionan en la mayoría de los casos con la actividad de la enfermedad y utilizarla así, como prueba de monitoreo terapeutico.

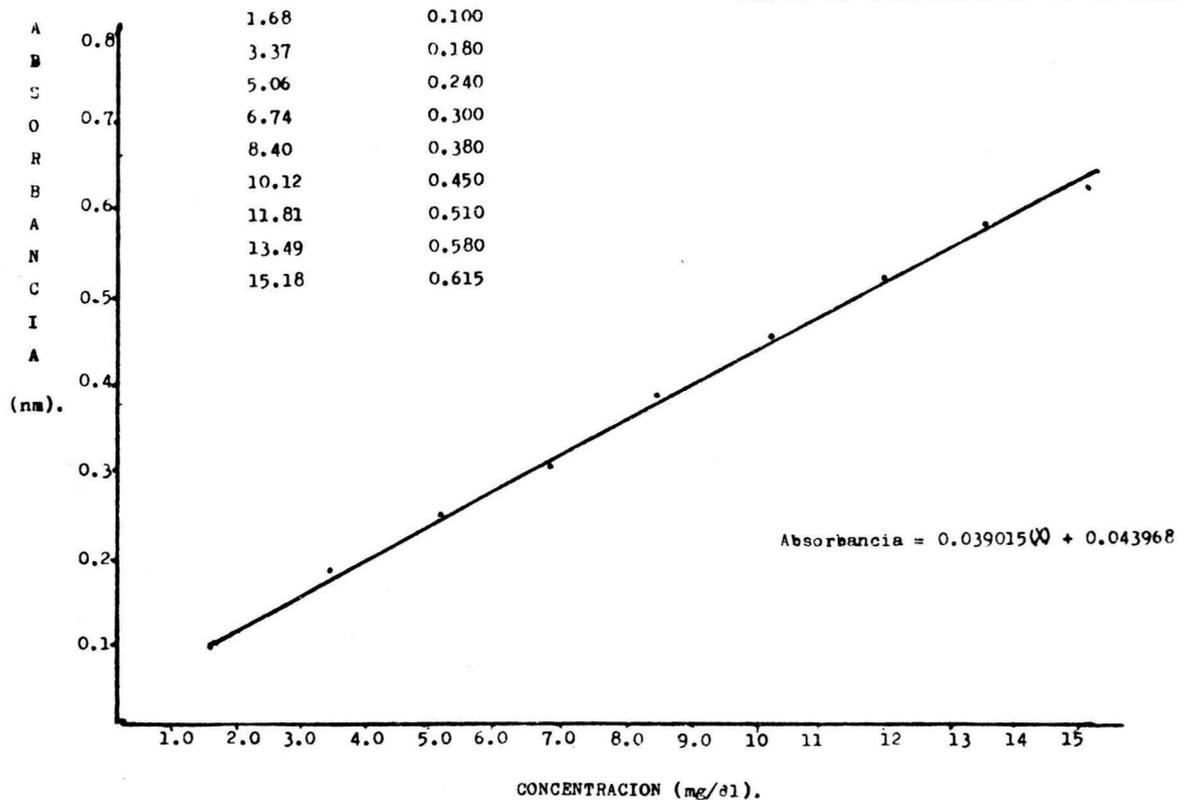
## A P E N D I C E

Curva estándar de ornitina.

De la solución que contiene 16.87 mg de ornitina en 100 ml. de agua con azida de sodio 3 mmol/L se tomaron alícuotas de 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80 y 90 microlitros y se colocaron en nueve tubos de ensaye, enseguida se les agregó 1.5 ml. de ácido acético y 50 microlitros del reactivo de ninhidrina. Se mezclan bien y se colocan en baño María hirviendo durante 60 minutos, posteriormente se enfriaron y se leyó la absorbancia a 515 nm.

Concentración Absorbancia  
(mg/dl) cin. (nm).

Curva de calibración de la ornitina



### Anticuerpos antinucleares.

Cuando los leucocitos se incuban con suero de pacientes con lupus eritematoso sistémico, un anticuerpo específico del suero reacciona con la nucleoproteína del núcleo. En presencia de complemento éste se activa y entonces los leucocitos polimorfonucleares son atraídos y fagocitados formándose una célula llamada LE. Los núcleos fagocitados proceden de células dañadas durante la manipulación ya que el factor sérico no actúa directamente sobre los leucocitos viables. Además de los anticuerpos contra desoxiribonucleoproteína, también se encuentran anticuerpos anti - DNA. El anticuerpo reacciona con DNA de varias especies.

La demostración de la presencia de anticuerpos antinucleares en el suero de pacientes con lupus eritematoso sistémico, se efectúa utilizando cortes finísimos de tejidos animales o --- bien cultivos de células que se adhieren a laminillas de vidrio. Estas se encuentran comercialmente, se cubren las laminillas con suero del paciente y se incuban. Después, se lavan las laminillas y se cubren con una solución de antiglobulina humana marcada con fluoresceína y nuevamente se incuban. Después se lavan las laminillas para eliminar el exceso de antiglobulina. Finalmente se examina la preparación en el microscopio ultravioleta en busca de fluorescencia de los núcleos. Luego, la prueba mide el número de los núcleos marcados por el anticuerpo del paciente a los cuales, se les llama títulos de anticuerpos antinucleares, por medio de esta prueba, se sabe si los niveles de anticuerpos tienden a caer durante la remisión de la enfermedad o suben durante la fase aguda de ---

ésta. La prueba del complemento hemolítico al 50 % igualmente mide la actividad de la enfermedad, existiendo en el comercio laminillas con los reactivos necesarios para realizar la prueba de forma similar a la de los anticuerpos antinucleares.

## B I B L I O G R A F I A

- 1.- Johanes P., Vente, M. D., et all. Plasma aminoacid profiles in sepsis and stress. Ann. Surg. (Jan.) 1989 ; 209 : 57 - 62
- 2.- Thomas, A. D., Rosenthal, A. G. Metabolism of L - (guanidinoxi -  $^{14}\text{C}$ ) canavanine in the rat. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1987 ; 91 : 406 - 414
- 3.- Barbul, A., Sisto, A. D., et all. Arginine stimulates Lymphocyte immune response in health human beings. Surgery, 1981 ; 90 : 244 - 251
- 4.- Murray, R., Graner, K. D. Bioquímica de Harper. Ed. El manual moderno, 21<sup>a</sup> ed. Mex., 1981 : 266 - 277, 306 - 309
- 5.- Valle, D., Samell, O. The hiperornitinemias, en : Stanbury, J. S. et all. Metabolic basis of inherited diseases, New York ; Mc Graw Hill, 5<sup>a</sup> ed. 1983 : 382 - 401
- 6.- Zagoya, D. C., Hicks, J. Bioquímica e inmunología. Ed. - UNAM, Vol. I, II. Méx., 1988 : 368 - 409, 530 - 550
- 7.- Walser, M. Urea cycle disorders and other hereditary hyperammonemic syndromes, en : Stanbury, J. S. et all. Metabolic basis of inherited diseases, New York : Mc Graw Hill, 5<sup>a</sup> ed. 1983 : 402 - 438

- 8.- Lenhinger, A. L. Principios de Bioquímica. Ed. Omega, Esp., 1988 : 530 - 559
- 9.- Knox, E. Regulation of enzymes of nitrogen metabolism - Adv. Enz. Reg. 1965 ; 3 : 279 - 297
- 10.- Alexander, J. W., Good, A. R. Inmunología clínica. Ed. Reverte, Esp., 1980 : 293 - 298
- 11.- Berkow, R. et all. El manual Merck. Ed. Nueva editorial interamericana, 7<sup>a</sup> ed., Méx., 1986 : 307 - 310, 1110 - 1113
- 12.- Pisetsky, S. D. Systemic lupus erthematosus. Adv. Rheum 1986 ; 70 : 337 - 353
- 13.- Santer, Max, et all. Immunological diseases. Little -- Brown & Company, 4<sup>a</sup> ed. Vol. 2, USA., 1988 : 1335 -1354
- 14.- Koffler, D. lupus eritematoso sistémico. En : Inmunología, temas selectos de Investigación y Ciencia. Ed. Labor, Esp., 1983 : 314 - 325
- 15.- Malinow, R. M. Systemic lupus erithematosus like syndrome in monkeys fed alfalfa sprout. Role of a non protein aminoacid. Science. 1982 ; 216 : 415 - 417
- 16.- Robert, L. J. Hayashi, A. J. Exacerbation of systemic lupus erythematosus associated with alfalfa ingestion. Eng. J. Med. 1983 ; 308 : 1361

- 17.- Prete, E. P. The mechanism of action of L-canavanine inducing autoimmune phenomena. *Arthritis Rheum.* 1985 ; -- 28 : 198 - 200
- 18.- Rosenthal, A. G. A mechanism of L-canaline toxicity. - *Eur. J. Biochem.* 1981 ; 114 : 301 - 304
- 19.- Bahiala, E. L. Kekimak, M. J. et all. Inhibition of piridoxal enzyme by L-canaline. *Biochim. Biophys. Act.* --- 1971 ; 227 : 337 - 343
- 20.- Featherston, W. R., Rogers, Q. R. Relative importance of kidney and liver in synthesis of arginine by the rat. - *Am. J. Physiol.* 1973 ; 224 : 127 - 129
- 21.- Shevel, E., Bagirova, GG. Changes in the blood protein - and aminoacid levels in rheumatic diseases ; *Ter. Arkh.* 1982 ; 54 : 87 - 89
- 22.- Chinard, F. P. Photometric estimation of proline and ornithine. *J. Biol. Chem.* 1952 ; 199 : 91 - 95
- 23.- Konarska, L., Tomaszewski, L. A. A simple quantitative - micromethod of arginase assay in blood dried on filter - paper. *Clin. Chem. Act.* 1986 ; 154 : 7 - 18
- 24.- Carsons, Steven., Lowels, B. B. Plasma fibronectin in systemic lupus erythematosus relation ship to clinical - activity, DNA binding and acute phase proteins. *J. Rheum* 1985 ; 12 : 1088 - 1092

- 25.- Balgooy, V. A. Separation of canavanine and canaline by high performance liquid chromatography. *Experientia.* -- 1987 ; 43 : 1034 - 1037
- 26.- Kito, K., Sanada, Y., Katunuma, N. Mode of inhibition of ornithine aminotransferase by L-canaline. *J. Biochem* 1978 ; 83 : 201 - 206
- 27.- Rosenthal, A. C., Janzen, H. D. Lahlman, D. L. Degradation and detoxification of canavanine by a specialized seed predator. *Science.* 1979 ; 96 : 658 - 660
- 28.- Kang, S. S., Wong, K. W. et al. Hyperargininemia ---- effect of ornithine and lysine supplementation. ---- *J. Pediatr.* 1983 ; 103 : 763 - 765
- 29.- Lam, S., Azumaya, H. High-performance liquid chromatography of aminoacids in urine and cerebrospinal fluid ---- *J. Chromatogr.* 1984 ; 302 : 21 - 29
- 30.- Brian, M. S., Chandrasekaran, J. Inhibition of cytolytic lymphocyte maturation with ornithine, arginine and putrescine. *J. Immunol.* 1987 ; 139 : 905 - 912
- 31.- Sens, A. D., Levine, H. J., Buse, G. M. Stimulation of hepatic and renal ornithine decarboxylase activity by selected aminoacids. *Metabolism.* 1983 ; 32 : 787 - 792

- 32.- Evered, D. P. The excretion of aminoacids by the human  
Biochem. 1956 ; 62 : 416 - 427
- 33.- Fessel, J. W. ANA-negative systemic lupus erythematosus  
The Am. J. Med. 1978 ; 64 : 80 - 86
- 34.- Bohan, A. Seronegative SLE. J. Rheum. Dis. 1979 ; 65 :  
143
- 35.- Mendenhall, W. Introducción a la probabilidad y estadística.  
Ed. Grupo editorial iberoamericano, Méx., 1987 :  
299 - 301, 398 - 401, 533 - 535
- 36.- Zilva, F. J. Bioquímica clínica en el diagnóstico y el-  
tratamiento. Ed. Salvat, Esp., 1971 : 33, 407 - 409