

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MEDICO NACIONAL LA RAZA
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
DEPARTAMENTO DE REUMATOLOGIA

Título de Tesis

**Frecuencia de anticuerpos antinucleosomas en
pacientes con nefritis lúpica proliferativa activa**

No. de Registro 2007-3501-9

Tesis para obtener el título de especialista en Reumatología

Presentada por:
Dr. Alejandro Cabrera Martínez

Asesor de Tesis:
Dr. Juan Manuel Miranda Limón
Jefe del Departamento Clínico de Reumatología



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.

Dr. Juan Manuel Miranda Limón

Jefe del servicio de Reumatología

UMAE CMN la Raza

Dr. Jesús Arenas Osuna

Jefe de. la División de Educación

UMAE CMN la raza

Dr. Alejandro Cabrera Martínez

Médico residente de la especialización en reumatología.

Indice

Resumen	4
Introducción	6
Material y métodos	10
Resultados	14
Discusión	21
Conclusión	26
Referencias bibliográficas	27
Anexos	30

Resumen.

Título

Frecuencia de anticuerpos antinucleosomas en pacientes con nefritis lúpica proliferativa activa

Objetivo

Determinar la presencia de anticuerpos antinucleosoma en pacientes con nefritis lúpica proliferativa activa.

Pacientes y métodos

Se eligieron pacientes del departamento de reumatología del centro médico la raza, con diagnóstico histopatológico de nefritis lúpica proliferativa y que cumplieron con al menos 4 criterios para clasificación de lupus, conforme al colegio americano de reumatología; a todos se les realizaron anticuerpos anti-ácido desoxirribonucleico (anti-ADN), anticuerpos antinucleosoma (mediante técnica de ELISA) y se realizó correlación de los parámetros obtenidos.

Resultados

Se obtuvieron 84 muestras para su procesamiento, conforme a los criterios de remisión de nefritis lúpica propuestos por el ACR, se clasificaron como nefritis activa, remisión parcial o nefritis inactiva, se encontró anticuerpos antinucleosoma en 65%, 47% y 33% respectivamente en cada grupo, se encontró diferencia estadísticamente significativa ($p=0.012$) y se asociaron los antinucleosomas con actividad de la enfermedad, proteinuria y hipocomplementemia con mayor sensibilidad que los anticuerpos anti-ADN.

Conclusiones

Los anticuerpos antinucleosomas son marcadores útiles de actividad lúpica renal y de mayor utilidad que los anticuerpos anti-ADN.

Palabras clave:

Nefritis lúpica.	Anticuerpos antinucleosoma.	Anticuerpos anti-ADN
Actividad renal.	Lupus eritematoso sistémico	

Abstract.

Title.

Antinucleosome antibodies frequency in patients with active lupus nephritis

Objective.

To investigate the antinucleosome antibodies frequency in patients with active lupus nephritis

Methods.

Anti-nucleosome antibodies were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in the sera of outpatients with lupus nephritis of the “centro médico la raza” hospital, in Mexico City. Anti-dsDNA antibodies were measured by indirect immunofluorescence, we used the American College of Rheumatology response criteria for proliferative and membranous renal disease in systemic lupus erythematosus.

Results.

We classified the 84 sera samples obtained in 1 of three groups, active lupus nephritis, partial response or complete response. The antinucleosome antibodies there was positive in 65% in the active lupus nephritis group, 47% in the partial response group and 33% in the complete response group. We found correlation with lupus activity and antinucleosomes titres. There was statistical correlation

Conclusion

The antinucleosome antibodies was correlated with the disease activity and they are useful in the lupus activity determination.

Key words

Lupus nephritis.

Antinucleosome antibodies.

Anti-dsDNA antibodies.

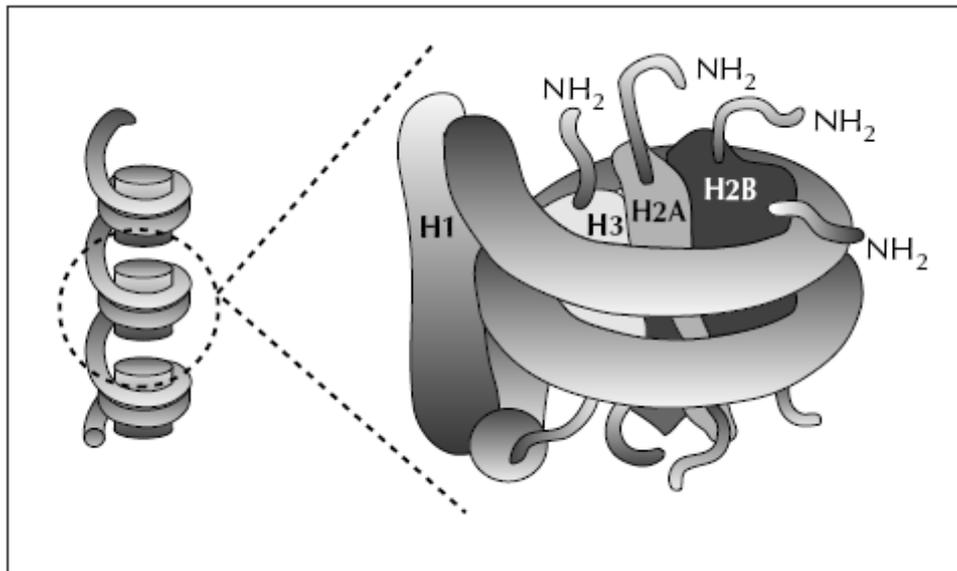
Disease activity.

Systemic lupus erythematosus

Introducción.

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune de etiología desconocida y con la principal característica de la producción de autoanticuerpos dirigidos principalmente contra antígenos derivados del núcleo celular. La nefritis lúpica (NL) es una de las afecciones que conlleva mayor morbimortalidad dentro del espectro de esta enfermedad afectando entre el 30 -70% de todos los pacientes afectados. Se ha observado que los anticuerpos dirigidos contra el ácido desoxirribonucleico de doble cadena (ADN_{dc}) son casi exclusivos de LES y se encuentran asociados a periodos de actividad de la enfermedad, principalmente en lo concerniente a nefritis, presentando títulos elevados durante enfermedad activa y disminuyen e incluso se negativizan al controlarse la enfermedad. Sin embargo, la producción de estos anticuerpos esta determinado por causas desconocidas además de ser bien sabido que el ADN no se encuentra normalmente en la circulación sanguínea, además de que este tiene escasas propiedades inmunogénicas, por lo que se postula que se encuentran otros procesos subyacentes que favorecen la producción de estos anticuerpos.

El ADN se encuentra organizado en una unidad básica llamada nucleosoma, la cual se encuentra constituida por un núcleo compuesto de un tetrámero de dos copias de histonas H2A, H2B, H3 y H4, alrededor de las cuales se encuentran enredados 146 pares de bases aproximadamente de ADN helicoidal.



Dibujo. Conformación esquemática de un nucleosoma, se observan las moléculas histonas las cuales se encuentran atrapadas en una hebra de ADN.

Se ha propuesto el nucleosoma como uno de los antígenos principales para el desarrollo de LES y más específicamente de NL. Bruns y colaboradores demostraron la presencia de anticuerpos dirigidos contra nucleosomas en 56% de 136 pacientes con lupus, con una sensibilidad de 56% y una especificidad del 97%, demostrando además que células T obtenidas de 26 pacientes con lupus, en 14 de ellos fueron reactivas cuando estuvieron en contacto nucleosomas purificados, lo que sugiere un papel patogénico en el desarrollo de la enfermedad⁽¹⁾. Por otra parte Grootsholten y colaboradores mediante anticuerpos policlonales realizaron la búsqueda de nucleosomas en la membrana basal glomerular de 30 pacientes con NL, detectándolos en 87% de los casos, sin encontrarse en el grupo control (pacientes con nefropatía diabética); interesantemente en 21% de muestras de piel tomadas a los mismos pacientes con NL se encontró igualmente nucleosomas⁽³⁾.

Los mecanismos mediante los cuales los componentes del nucleosoma quedan expuestos en el torrente sanguíneo con el consecuente desarrollo de anticuerpos son

desconocidos, sin embargo se ha postulado que puede ser debido principalmente a defectos en la apoptosis^(4, 5), ya que se ha detectado en suero de pacientes con lupus niveles anormalmente elevados de células apoptóticas mononucleares y neutrofilos, además de haberse demostrado una clara correlación entre niveles elevados de nucleosomas en el torrente y actividad de la enfermedad, aunque no se ha corroborado fehacientemente en todos los estudios realizados^(7, 8).

Además de la asociación existente entre actividad lúpica y la presencia de anticuerpos antinucleosoma, se ha determinado una alta especificidad para esta enfermedad. En un estudio realizado por Amoura y colaboradores, se hizo la determinación de anticuerpos anti-nucleosoma en distintas enfermedades reumáticas (LES, esclerodermia, enfermedad mixta del tejido conjuntivo, síndrome de Sjögren, miopatía inflamatoria, artritis reumatoide, síndrome antifosfolípido primario, granulomatosis de Wegener, arteritis de Takayasu, arteritis de células gigantes, policondritis recidivante, síndrome de Behcet y sarcoidosis), encontrándose anticuerpos antinucleosoma de clase IgG en 3 enfermedades, lupus, esclerodermia y enfermedad mixta del tejido conectivo en 71.7%, 45.9% y 45% respectivamente, pero siendo las moléculas IgG₃ las encontradas exclusivamente en lupus, asociado a actividad de la enfermedad⁽¹⁶⁾.

En México, se realizó en una cohorte de 18 pacientes con diagnóstico de síndrome antifosfolípido primario la determinación de anticuerpos antinucleosoma, los cuales fueron positivos en 9 de los pacientes, los cuales a los 9 años de determinados los anticuerpos 6 de ellos cumplieron con al menos 4 criterios del ACR para clasificación de lupus y el 67% presentó nefritis lúpica, mientras que ninguno de aquellos que tuvieron seronegatividad para el anticuerpo desarrolló manifestaciones de la enfermedad⁽¹³⁾.

No se ha realizado hasta el momento ningún estudio que intente determinar la utilidad de estos marcadores en pacientes con nefritis lúpica y su asociación con actividad de esta manifestación de la enfermedad.

Objetivo general.

Determinar la frecuencia de anticuerpos antinucleosoma en pacientes con nefritis lúpica proliferativa activa.

Material y métodos.

Se eligieron a pacientes consecutivos de la consulta externa de reumatología de la unidad médica de alto nivel del Centro Médico Nacional “la Raza” que cumplieran con al menos cuatro criterios para clasificación de LES sugeridos por el *American College of Rheumatology* (ACR)⁽²¹⁾, y que tuvieran diagnóstico histopatológico de nefritis lúpica proloferativa (focal o difusa) conforme a la clasificación de la OMS⁽⁶⁾, a quienes previo consentimiento informado se les tomó mediante venopunción una muestra sanguínea la cual fue procesada mediante centrifugación para la obtención del componente sérico el cual fue almacenado a -20°C hasta el momento de su procesamiento.

A todos los pacientes se les determinó en el mismo momento de la toma de muestra, anticuerpos anti-ADN (determinados mediante inmunofluorescencia indirecta [IFI] en *Crithidia luciliae*), anticuerpos antinucleares (AAN) los cuales se realizaron en células Hep-2 mediante IFI y se reportaron patrones de tinción así como titulaciones de los mismos, examen general de orina con investigación del sedimento, depuración de creatinina, albuminuria en orina de 24 hrs, creatinina sérica, urea, biometría hemática completa con cuenta diferencial, velocidad de sedimentación globular, se determinó los componentes 3 y 4 del complemento sérico (C₃ y C₄) mediante nefelometría.

Los anticuerpos antinucleosomas se determinaron mediante técnica de ELISA conforme al equipo comercializado por Euroimmun (alemania). Se incubaron las muestras durante 30 minutos a temperatura ambiente, se realizaron 3 ciclos de lavado con 300 µl con los reactivos suministrados por el equipo, posteriormente se agregó el reactivo , el cuál

tiene una sensibilidad de detección de al menos 1 RU/ml, sin presentar reacciones cruzadas con otros antígenos.

Para la medición de actividad de la enfermedad se utilizó la escala del *systemic lupus erythematosus disease activity index* (SLEDAI).

Se utilizaron los criterios del ACR⁽²⁰⁾ para clasificación de actividad de nefritis lúpica, conforme a lo siguiente:

Nefritis lúpica activa

Por el sedimento urinario:

- 5 o más eritrocitos por campo de alto poder
- 5 o más leucocitos por campo de alto poder
- 1 o más cilindros granulosos por campo de alto poder

Por el filtrado glomerular:

- disminución del 25% o más de la función esperada para la edad

Por la proteinuria en 24 horas:

- 1 gramo o más de albúmina por litro en 24 horas

En aquellos casos en tratamiento con ciclofosfamida como inductor de remisión para la nefritis lúpica, se compararon los datos al momento de la evaluación y se compararon con los presentados al inicio del cuadro y se usaron las siguientes definiciones:

Por el sedimento urinario

- **mejoría:** cambios en el sedimento urinario (leucoeritrocituria menor a 5 células por campo, cilindros granulosos negativos)

- **deterioro:** presencia de sedimento urinario activo en pacientes con sedimento previamente inactivo.

Por el filtrado glomerular

- **mejoría:** con incremento de al menos 25% en comparación con la basal
- **sin cambios:** valores estables
- **deterioro:** decremento superior al 25% de la depuración o evolución a insuficiencia renal crónica

Por la proteinuria:

- **mejoría:** reducción superior al 50% en la relación proteína urinaria: creatinina urinaria
- **respuesta parcial:** cumplir con la definición de mejoría y relación proteína urinaria: creatinina urinaria entre 0.2 y 2.0
- **respuesta completa:** cumplir con la definición de mejoría y con relación proteína urinaria: creatinina urinaria menor a 0.2
- **sin cambios**
- **deterioro:** incremento mayor al 100% de la relación proteína urinaria: creatinina urinaria

Análisis estadístico.

El análisis estadístico se realizó mediante estadística descriptiva, se usó la prueba de chi cuadrada y correlación de Pearson

Resultados.

Se obtuvo un total de 84 muestras las cuales estuvieron disponibles para su procesamiento, dos muestras correspondieron a un varón, la cual se le determinaron cuando se encontraba con nefritis inactiva y una posteriormente al momento en que se reactivó la enfermedad. En total fueron 13 hombres y 70 mujeres, el promedio de edad fue de 31.6 años (DE: 9.6), el promedio de diagnóstico de la enfermedad fue de 53.1 meses (DE 44.8), 20 pacientes se registraron con nefritis proliferativa focal y 63 con nefritis proliferativa difusa (tabla 1).

Hombres:mujeres	13:70
Relación hombre:mujer	1:5.3
Promedio de edad (años)	31.6 (\pm 9.6)
Tiempo de diagnóstico de la enfermedad (meses)	53.1 (\pm 44.8)
Nefritis lúpica clase III (n)	20 (24%)
Nefritis lúpica clase IV (n)	63 (76%)
Nefritis activa (n)	20 (24%)
Remisión parcial (n)	34 (40%)
Remisión completa (n)	30 (36%)

De las 84 muestras obtenidas 20 cumplieron con las características para ser clasificados como nefritis activa, las mismas que cumplieron con la definición sugerida por al ACR, con presencia de sedimento urinario activo, disminución en la depuración de creatinina (de acuerdo a lo esperado para la edad) y proteinuria, 34 se definieron con remisión parcial determinado conforme a la relación albuminuria/creatinina urinaria, pero sin manifestaciones clínicas ni de laboratorio de actividad de nefritis lúpica, y 30 se clasificaron con remisión completa conforme al sedimento urinario, filtración glomerular y la presencia de proteinuria (tabla 2).

Tabla 2. Comparación de características bioquímicas en los tres grupos de pacientes.

	Remisión completa (n: 30)	Remisión parcial (n: 34)	Nefritis activa (n: 20)
Nefritis clase III	8	7	3
Nefritis clase IV	22	27	17
Edad ^a (años)	33.3	33.2	26.5
Hemoglobina ^a (g/dl)	13.4	13	12.5
Creatinina sérica ^a (mg/dl)	0.91	1.09	0.96
Urea ^a (mg/dl)	32.5	35.9	43.6
Depuración de creatinina ^a (ml/min)	71	64	61
Albuminuria en orina de 24 hrs ^a (grs/día)	0.157	2.242	2.591
VSG ^a (mm/Hr)	23	24.9	27.4
Hematuria ^a (células por campo de alto poder)	3.2	9.4	20
Leucocituria ^a (células por campo de alto poder)	8.5	9.6	8.9

a: valor expresado en promedio

Se encontró que el promedio de SLEDAI fue de 3.1 para los casos de nefritis inactiva, 4.8 en los casos de remisión parcial y de 14.3 en aquellos con nefritis activa; los AAN fueron negativos en 2 pacientes (6%) con nefritis inactiva, en 4 casos (11%) en aquellos con remisión parcial y positivos en todos los casos en que se encontraba activa la enfermedad.

Tomando como valor de corte el sugerido por el equipo de ELISA para este reactivo (negativo < 20) Los anticuerpos antinucleosomas se encontraron en 10 pacientes (33%) del grupo con remisión completa, en 16 (47%) del grupo con remisión parcial y en 13 (65%) de aquellos con enfermedad activa (tabla 3)

Tabla 3. comparación de resultados de estudios inmunológicos en los tres grupos de pacientes

	Remisión completa (n: 30)	Remisión parcial (n: 34)	Nefritis Activa (n: 20)
SLEDAI	3.1	4.8	14.3
Anti-ADN positivo	6/30 (20%)	8/34 (23.5%)	8/20 (40%)
Antinucleosomas positivo	10/30 (33%)	16/34 (47%)	13/20 (65%)
C ₃ (mg/dl)	103 (\pm 29.19)	102(\pm 28.74)	74 (\pm 30.77)
C ₄ (mg/dl)	15.4 (\pm 9.61)	16.5(\pm 9.65)	8.8(\pm 9.12)
Anticardiolipinas tipo IgM (MPL)	5 (16.6%)	5 (14.7%)	8 (40%)
Anticardiolipinas tipo IgG (GPL)	1 (3.3%)	2 (5.8%)	5 (25%)
anticoagulante lúpico positivo	1 (3.3%)	2 (5.8%)	0

Al analizar la presencia de los anticuerpos antinucleosoma en el grupo de pacientes con nefritis activa, se encontró que de los 12 pacientes con anti-ADN negativo, en 4 de ellos estuvieron presentes los anticuerpos antinucleosomas, mientras que en 6 pacientes fueron negativos para ambos anticuerpos, lo que resulta en 30% de los casos con nefritis activa.

En la tabla 4 se observan los resultados de anticuerpos antinucleosomas y anti ADN_{dc} en los tres grupos de pacientes, pudiéndose notar que el promedio de anticuerpos antinucleosomas con valor más elevado corresponden al grupo de nefritis activa, con un total de 84 unidades, en comparación con los otros dos grupos (42.41 para el grupo con remisión parcial y 30.07 para el grupo con remisión completa), con diferencia estadísticamente significativa (p=0.012).

Tabla 4. Resultados obtenidos de anticuerpos en los 3 grupos

Pacientes con Nefritis Activa			Pacientes con Remisión Parcial			Pacientes con Remisión Completa		
	Anticuerpos anti-ADN	Anticuerpos Antinucleosomas		Anticuerpos anti-ADN	Anticuerpos Antinucleosomas		Anticuerpos anti-ADN	Anticuerpos Antinucleosomas
1	0	84	1	0	2	1	0	54
2	0	5	2	0	12	2	0	40
3	0	200	3	0	43	3	0	10
4	0	15	4	0	22	4	0	8
5	0	11	5	0	5	5	0	10
6	0	6	6	0	122	6	0	6
7	0	64	7	0	75	7	0	35
8	0	5	8	0	3	8	0	13
9	0	18	9	0	3	9	0	7
10	0	66	10	0	6	10	0	15
11	0	200	11	0	47	11	0	75
12	0	53	12	0	2	12	0	2
13	20	200	13	0	22	13	0	2
14	20	78	14	0	4	14	0	2
15	40	43	15	0	2	15	0	2
16	40	5	16	0	5	16	0	12
17	40	120	17	0	13	17	0	2
18	80	200	18	0	5	18	0	3
19	80	200	19	0	4	19	0	4
20	80	107	20	0	3	20	0	11
Total	N	20	21	0	9	21	0	5
	Std. Deviation	29.736	22	0	4	22	0	4
	Mean	20.00	23	0	87	23	0	36
			24	0	200	24	0	120
			25	0	15	25	20	32
			26	0	37	26	20	92
			27	20	42	27	20	128
			28	20	42	28	40	6
			29	20	98	29	40	104
			30	20	95	30	80	62
			31	40	24	Total	N	30
			32	40	24		Std. Deviation	17.798
			33	80	165		Mean	7.33
			34	80	200			30.07
			Total	N	34			
				Std. Deviation	21.025			
				Mean	9.41			
					56.318			
					42.41			

Los valores de ADN se expresan en titulaciones y los antinucleosomas en unidades arbitrarias.

En la tabla 5 se hace la comparación en cada uno de los grupos entre aquellos casos que tuvieron positividad exclusivamente para cada uno de los anticuerpos y se comparó con los casos exclusivos para el otro reactivo, en la cual se observa que en los tres grupos presentaron una depuración de creatinina menor los pacientes que tuvieron antinucleosomas presentes, con variación en el resto de los parámetros.

Tabla 5. Comparación de anticuerpos anti-ADN y antinucleosomas contra depuración, albuminuria y cilindruria en los tres grupos de pacientes.

Remisión completa			
	depuración	albuminuria	cilindros
ADN	80.41	0.13	0
Antinucleosomas	76.5	0.22	0
Remisión parcial			
	depuración	albuminuria	cilindros
ADN	84.5	1.03	0
Antinucleosomas	67.25	1.66	0.93
Activos			
	depuración	albuminuria	cilindros
ADN	72.77	2.6	1.62
Antinucleosomas	57.7	2.18	1.58

Los valores son expresados en promedio.

En la tabla 6 se realiza el análisis estadístico, en el cual se encuentra diferencia estadísticamente significativa en la albuminuria en orina de 24 horas, la escala de SLEDAI, y los niveles de complemento sérico C₃ y C₄, así como los anticuerpos antinucleosoma (p=0.012) más no en los anticuerpos anti-ADN.

Tabla 6. Análisis estadístico

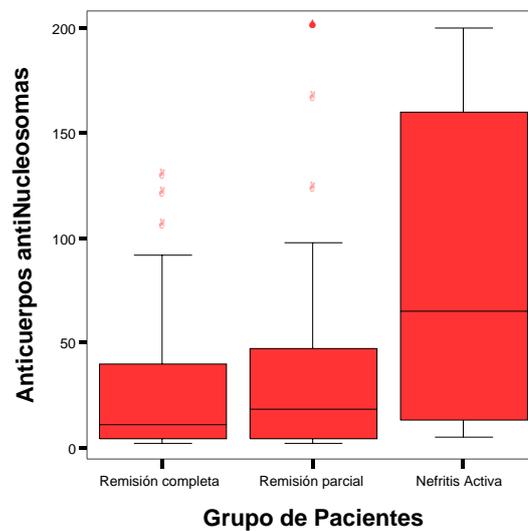
Test Statistics ^{a,b}							
	Escala de Actividad de la Enfermedad SLEDAI	Anticuerpos antiDNA	Anticuerpos antiNucleosomas	Complemento C3	Complemento C4	Albuminuria	Depuración de Creatinina en Orina de 24 horas
Chi-Square	37.877	3.310	8.858	14.834	13.781	51.729	2.119
df	2	2	2	2	2	2	2
Asymp. Sig.	.000	.191	.012	.001	.001	.000	.347

a. Kruskal Wallis Test
b. Grouping Variable: Grupo de Pacientes

En la figura 1, se grafican la distribución de anticuerpos antinucleosomas en los tres grupos de pacientes, pudiéndose observar que el grupo con nefritis activa presenta

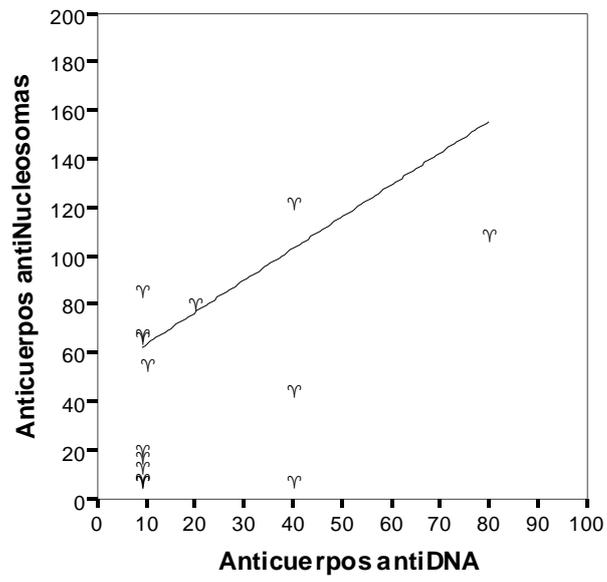
valores de anticuerpos antinucleosomas mayores en comparación con los otros dos grupos, sin embargo, existen algunos valores que se encuentran fuera de ese rango en los grupos con remisión (parcial o completa), los cuáles están representados como círculos claros.

Figura 1. Distribución de anticuerpos antinucleosomas en los 3 grupos de pacientes



En la gráfica se observa la correlación existente entre los anticuerpos anti-ADN y los anticuerpos antinucleosomas, pudiéndose ver que es necesaria la coexistencia de los anticuerpos antinucleosomas para la presencia de los anticuerpos anti-ADN.

Gráfica. Correlación entre anticuerpos anti-ADN y anticuerpos antinucleosomas.



Discusión

Encontramos anticuerpos antinucleosomas presentes en 36 de los 84 pacientes incluidos en nuestro estudio (42%), coincidente con lo reportado previamente en la literatura de anti nucleosoma en lupus, con variaciones de 31 a 100%⁽⁷⁾. Debe destacarse que se encontró una mayor incidencia de anticuerpos antinucleosomas en los casos en que presentaban nefritis activa (65%), en comparación con los otros dos grupos, lo cual tuvo diferencia estadísticamente significativa.

En la búsqueda en la literatura mundial, encontramos que Amoura y colaboradores⁽¹⁷⁾ describieron en una cohorte de pacientes con distintas enfermedades reumáticas la presencia de anticuerpos antinucleosomas exclusivamente en aquellos con lupus eritematoso sistémico, enfermedad mixta del tejido conectivo y con esclerosis sistémica; ellos encontraron positividad para estos anticuerpos en 71.7% de los pacientes con lupus, 45.9% con esclerosis sistémica y en 45% de los pacientes con enfermedad mixta del tejido conectivo, y al hacer el análisis de las subclases de inmunoglobulina G, encontraron que la clase IgG₃ fue la inmunoglobulina que presentó elevación en su concentración sérica en los periodos de actividad de la enfermedad en lupus sin estar presente en las otras enfermedades; Ellos relacionaron las concentraciones incrementadas de antinucleosomas con actividad renal de lupus (12.5% versus 7.2% de aquellos casos sin nefritis con $p=0.004$). comparado con nuestros hallazgos, nosotros encontramos una incidencia más elevada de anticuerpos antinucleosomas tanto en pacientes con actividad de la enfermedad como en el caso de aquellos con enfermedad inactiva, con una concentración más elevada de estos anticuerpos en los casos con nefritis activa, con diferencia estadísticamente significativa.

Por otra parte, Bruns y colaboradores⁽¹⁾, en una cohorte de 136 pacientes con lupus, encontraron positividad para antinucleosomas en 56% de los casos, posteriormente al comparar los pacientes con antinucleosomas positivos contra aquellos que no los presentaban, observaron correlación con actividad de la enfermedad determinada mediante la escala ECLAM ($p=0.0001$), además de que 63 de los 76 pacientes con antinucleosomas positivos presentaron actividad renal de la enfermedad, contra sólo 6 de los 60 pacientes que fueron negativos para esto, encontrando una correlación con nefritis ($p<0.002$), observando que con el tratamiento con bolos de metilprednisolona y ciclofosfamida hubo una disminución de las concentraciones de antinucleosomas hasta casi negativizarse. Estos resultados son semejantes a los encontrados en nuestro estudio, encontramos anticuerpos antinucleosomas positivos en los tres grupos estudiados, con mayor cantidad de estos anticuerpos en el grupo con nefritis activa.

En un estudio realizado por Benucci y colaboradores⁽¹⁵⁾, en su cohorte de 48 pacientes con diagnóstico de lupus eritematoso sistémico, encontraron presencia de antinucleosomas en 37.5% de sus pacientes (18/48). Al realizar la comparación de los casos con seropositividad con aquellos negativos para antinucleosomas, encontraron sedimento urinario patológico en 88.8% de los casos vs 33.3% ($p<0.001$) una concentración media de C3 menor y un promedio de ECLAM mayor en el primer grupo en los tres casos, lo cual difiere con nuestro estudio con la incidencia reportada de estos autoanticuerpos en este grupo de pacientes, pues nosotros encontramos una incidencia mayor de antinucleosomas en los pacientes con actividad renal, siendo la principal diferencia en nuestra cohorte que se incluyeron exclusivamente pacientes con nefritis lúpica, mientras este autor incluyó también a pacientes sin afección renal. No realizaron determinación cuantitativa de la proteinuria por lo que no es posible cotejar este último

aspecto, pero igualmente encontramos diferencia y correlación estadística con la evaluación de SLEDAI y los anticuerpos antinucleosomas.

En otro estudio realizado en el Reino Unido por Ravirajan y su grupo⁽²²⁾, en 33 pacientes caucásicos, de los cuales 11 tenían el diagnóstico de nefritis lúpica, encontraron antinucleosomas en 73% de los 33 pacientes, y 82% en el subgrupo con nefritis lúpica, sin diferencia estadísticamente significativa al comparar los pacientes con nefritis con aquellos que no la presentaron, pero si existió en la comparación de los casos con enfermedad activa contra aquellos que se encontraba controlada, lo cuál se similar a lo reportado previamente en la literatura médica mundial y con nuestros hallazgos, aunque la incidencia encontrada por nosotros en pacientes con actividad es menor (65%).

En 199 pacientes españoles con lupus eritematoso sistémico evaluados por Cortés Hernández y su grupo de colaboradores⁽²³⁾, encontraron una incidencia de antinucleosomas en 63 casos (32%), lo cual correspondió al 75% de pacientes con nefritis (clase II/III/IV), encontrando correlación con la presencia de actividad renal de la enfermedad, en comparación con actividad no renal o inactividad renal.

Se sugirió por Min y su grupo de estudio⁽⁷⁾ con sede en Corea que los anticuerpos antinucleosomas pueden ser marcadores útiles en aquellos casos con lupus y con anticuerpos anti-ADN negativo, al encontrar ellos antinucleosomas positivos en 98(76%) de los 129 pacientes evaluados, con una concentración media de estos marcadores mayor en aquellos casos con nefritis lúpica activa. Observaron que los anticuerpos Antinucleosomas correlacionaron positivamente con la presencia de anticuerpos anti-ADN y los periodos de enfermedad activa. Sin embargo, aún en ausencia de Ac-ADN los antinucleosomas correlacionaron con actividad de la enfermedad, sugiriendo que son un marcador incluso más sensibles que los Ac anti

ADN para detectar actividad del lupus. Otro hallazgo interesante en el estudio de Min y col fue la virtual ausencia de afección renal en los casos que resultaron negativos para ambos marcadores, En nuestro estudio existió una correlación importante en la presencia de antinucleosomas con anti-ADN similar a lo reportado previamente, y la presencia simultánea de ambos marcadores se asoció a nefritis lúpica. Vale la pena destacar que 6 pacientes del grupo de nefritis activa con anti ADN negativo tenían anti nucleosoma positivo, sugiriendo que los antinucleosoma son más sensibles para detectar actividad de la nefritis. Sin embargo, debemos destacar que 6 pacientes (30%) con nefritis activa resultaron con valores negativos para ambos marcadores, en contraste con lo reportado por Min.

Williams⁽¹³⁾ et al analizaron la correlación de antinucleosomas y proteinuria. Encontraron una correlación positiva entre estos datos, lo cual es similar a nuestros hallazgos ya que la magnitud de la proteinuria se asoció a mayor concentración de antinucleosomas.

Los resultados que obtuvimos han sido similares a lo reportado por distintos autores previamente con algunas diferencias interesantes como es la incidencia de estos marcadores en la población estudiada, primero, este es el primer estudio de nuestro conocimiento que incluye exclusivamente a pacientes con nefritis lúpica ya que los demás estudios encontrados incluyeron también a pacientes con lupus pero sin actividad renal, tal vez por eso encontramos una incidencia más elevada en nuestros pacientes al compararlos con algunos otros grupos, pero menor a algunos otros. Esta diferencia de la incidencia puede ser explicada por el método utilizado en cada uno de los grupos, los cuales son distintos, con valores de referencia por ende diferentes, además de haberse demostrado previamente que existen diferencias raciales tanto en el comportamiento de la enfermedad a través del tiempo como en algunos haplotipos razón por la cual

consideramos nuestros resultados son diferentes a algunos otros, pero muy útiles para nuestra población.

La correlación existente entre la presencia de antinucleosomas y anti-ADN reafirma la hipótesis de que ambos anticuerpos son necesarios para el desarrollo de la enfermedad^(4, 5, 8), y que la detección de los primeros puede ser necesario para el desarrollo de los segundos y el posterior desarrollo de la enfermedad.

En nuestro estudio existieron en tres casos con nefritis en remisión que presentaron concentraciones de antinucleosomas mayor a 100 unidades (con valor de referencia negativo <20) y dos de ellos con anti-ADN positivo, sin manifestaciones clínicas, y con otros marcadores como complemento y depuración de creatinina normales; probablemente pueda existir correlación con estos hallazgos y la posibilidad de recaída de la enfermedad, como ya se ha descrito antes que los cambios de enfermedad activa pueden ser inmunológicamente evidentes incluso algunos meses antes que los cambios bioquímicos y clínicos, por lo que se hará vigilancia estrecha en estos casos para detectar la posibilidad de recaída de la enfermedad.

Conclusión

Los anticuerpos antinucleosomas se encontraron con mayor frecuencia en pacientes con nefritis lúpica activa, en comparación con aquellos con nefritis inactiva y aquellos con remisión parcial (por persistencia de proteinuria), con un valor de p estadísticamente significativo ($p=0.012$).

La presencia de este anticuerpo es útil como marcador de actividad de la enfermedad al presentar concentraciones séricas de anticuerpos antinucleosomas más elevada en los periodos de nefritis activa, correlacionando además con SLEDAI, proteinuria en 24 hrs e hipocomplementemia.

Corroboramos la existencia de anti-ADN y antinucleosomas y su correlación con actividad de la enfermedad, además de que aún en los casos con anti-ADN negativos los anticuerpos antinucleosomas correlacionaron con actividad lúpica renal lo que apoya que estos marcadores pueden ser más útiles que los anticuerpos anti-ADN en la evaluación de esta enfermedad y que por tanto nos puede permitir efectuar modificaciones terapéuticas oportunas para evitar la progresión de la nefritis a formas crónicas irreversibles.

Debemos hacer notar que también se encuentran casos que resultaron negativos para ambos marcadores en presencia de nefritis activa, lo que sugiere la necesidad de ampliar el tamaño de la muestra y realizar más estudios que como el nuestro se focalicen en nefropatía lúpica.

Referencias Bibliográficas

1. Bruns A, Bläss S, Hausdorf G, Burmester GR and Hiepe F. *Nucleosomes are major T and B cell autoantigens in Systemic Lupus Erythematosus*. *Arthritis Rheum* 2000;43:2307-2315.
2. Rahman A and Hiepe F. *Anti-DNA antibodies – Overview of assays and clinical correlations*. *Lupus* 2002;11:770-773.
3. Grootsholten C, Van Bruggen MCJ, Van der Pijl JW, Jong EMGJ, Ligtenberg G, Derksen RHWM, et al. *Deposition of Nucleosomal Antigens (Histones and DNA) in the epidermal basement membrane in human lupus nephritis*. *Arthritis Rheum* 2003;48:1355-1362.
4. Amoura A, Koutouzov S and Piette JC. *The role of nucleosomes in lupus*. *Curr Opin Rheumatol* 2000;12:369-373.
5. Stollar BD and Stephenson F. *Apoptosis and Nucleosomes*. *Lupus* 2002;11:787-789.
6. Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, Seshan SV, Alpers CH, Appel GB et al. *The Classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited*. *Kidney Int* 2004;65: 521-530
7. Min DJ, Kim SJ, Park H, Seo YI, Kang HJ, Kim WU, et al. *Anti-nucleosome antibody: Significance in lupus patients lacking anti-double stranded DNA antibody*. *Clin Exp Rheumatol* 2002;20:13-18
8. Koutouzov S, Jeronimo AL, Campos H and Amoura Z. *Nucleosomes in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus*. *Rheum Dis Clin N Am* 2004;30:529-558.
9. Winkler T. *Antigenic targets – workshop report*. *Lupus* 2002;11:780-782.

10. Simón JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J and Sánchez-Guerrero J. *Anti-nucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker.* Rheumatology 2004;43:220-224.
11. Oates JC and Gilkeson GS. *Mediators of injury in lupus nephritis.* Curr Opin Rheumatol 2002;14:498-503.
12. Suenaga R and Abdou NI. *Anti-(DNA-Histone) Antibodies in active lupus nephritis.* J Rheumatol 1996;23:279-285.
13. Williams RC, Malone C, Blood B and Silvestris F. *Anti-DNA and anti-nucleosome antibody affinity – A mirror image of lupus nephritis?.* J Rheumatol 1999;26:331-346.
14. Simón JA, Serrano JR, Cabiedes, and Alcocer-Varela J. *Antinucleosome Antibodies may help predict development of Systemic Lupus Erythematosus in patients with primary antiphospholipid syndrome.* Lupus. 2004;13:177-181.
15. Benucci M, Gobbi FL, Del Rosso A, Cesaretti, Niccoli L, and Cantini F. *Disease Activity and antinucleosome antibodies in Systemic Lupus Erythematosus.* Scand J Rheumatol 2003;32: 42-45.
16. Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH. *Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The committee on prognosis studies in SLE.* Arthritis Rheum 1992;35:630-640
17. Amoura Z, Koutouzob S, Chabre H, Cacoub P, Amoura I, Musset L, et al. *Presence of antinucleosome antibodies in a restricted set of connective tissue diseases.* Arthritis Rheum 2000;43:76-84.

18. Hoffman IEA, Peene I, Meheus L, Huizinga TWJ, Cebecauer L, Isenberg D, et al. *Specific antinuclear antibodies are associated with clinical features in Systemic Lupus Erythematosus.* Ann Rheum Dis 2004;**63**:1155-1158.
19. Sherer Y, Gorstein A, Fritzler MJ, Shoenfeld Y. *Autoantibody explosion in systemic lupus erythematosus: More than 100 different antibodies found in SLE patients.* Semin Arthritis Rheum 2004;**34**:501-537.
20. Liang MH, Schur PH, Fortin P, St. Clair W, Balow JE, Costenbader K, et al. *The American College of Rheumatology Response criteria for Proliferative and Membranous Renal Disease en Systemic Lupus Erythematosus Clinical Trials.* Arthritis Rheum 2006;**54**:421-432.
21. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. *The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus.* Arthritis Rheum 1982;**25**:1271-7
22. Ravirajan CT, Rowse L, MacGowan JR and Isenberg DA. *An analysis of clinical disease activity and nephritis-associated serum autoantibody profiles in patients with systemic lupus erythematosus: a cross-sectional study.* Rheumatology 2001;**40**:1405-1412
23. Cortés-Hernández J, Ordi-Ros J, Labrador M, Buján S, Balada E, Segarra A, et al. *Antihistone and anti—double-stranded deoxyribonucleic acid antibodies are associated with renal disease in Systemic Lupus Erythematosus.* Am J Med 2004;**116**:165-173

Infección vías urinarias:

Fecha	Bacterias			leucos			Eritros			Piuria estéril	Urocul	Tx
	1+	2+	3+	0-5	6-10	>10	<5	6-10	>11			

Recaída: NO (1)

Mes de Tx	Nefrótica (2)	Nefrítica			Respuesta		
		Leve (3)	Moderada (4)	Severa (5)	Si (1)	No (2)	Parcial

Ciclofosfamida mensual:

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Bimestral

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12

Índice de actividad de la enfermedad en lupus eritematoso sistémico (SLEDAI)

Puntos	Descriptor	Definición
8	Convulsiones	De inicio reciente, excluir causas metabólicas, infecciones o asociadas a medicamentos
8	Psicosis	Alteración en la función de la vida diaria debido a alteraciones severas en la percepción de la realidad incluyendo alucinaciones, incoherencia, pensamiento ilógico, bizarro, desorganizado o comportamiento catatónico. Excluir la presencia de uremia o medicamentos ofensivos.
8	Síndrome orgánico cerebral	Función mental alterada con deterioro de la orientación o de la memoria o de otras funciones intelectuales, de rápido inicio y características fluctuantes, con al menos dos de las siguientes: alteración perceptual, lenguaje incoherente, insomnio o hipersomnía, actividad motora incrementada o reducida, excluyendo causas de otra etiología
8	Visual	Cambios retinianos por lupus: cuerpos citoides, hemorragias retinianas, exudados serosos o hemorrágicos en la coroides, neuritis óptica.
8	Nervios craneales	Neuropatía motora o sensitiva de inicio reciente de un nervio craneal
8	Cefalea lúpica	Cefalea severa y persistente, puede ser migrañosa, sin respuesta a narcóticos.
8	Evento cerebrovascular	Nuevo evento, excluyendo aterosclerosis
8	Vasculitis	Úlceras, gangrena, nódulos digitales dolorosos, infartos periungueales, hemorragias en astilla. Vasculitis confirmada por biopsia o angiografía.
4	Artritis	Más de dos articulaciones con dolor y signos de inflamación.
4	Miositis	Dolor muscular proximal o debilidad asociada con creatina fosfoquinasa/aldolasa sérica elevada, cambios electromiográficos o biopsia demostrando miositis.
4	Cilindruria	Hemáticos, granulosos o eritrocitarios
4	Hematuria	Más de 5 eritrocitos por campo de alto poder, excluyendo otras causas
4	Proteinuria	Más de 0.5 grs de proteínas en orina de 24 hrs. De reciente inicio o incremento a más de 0.5 grs en 24 hrs
4	Piuria	Más de 5 leucocitos por campo de alto poder, excluyendo infección.
2	Eritema malar reciente	De nuevo inicio o recurrencia con eritema de tipo inflamatorio
2	Alopecia	Nuevo o recurrente. Pérdida difusa de cabello
2	Membranas mucosas	Úlceras orales o nasales nuevas o recurrentes.
2	Pleuresía	Dolor pleural con frote o derrame pleural o engrosamiento pleural
2	Pericarditis	Dolor pericárdico con al menos frote o derrame, confirmado por electrocardiografía o ecocardiograma
2	Hipocomplementemia	Disminución en niveles séricos de CH50, C3 o C4
2	Anti-ADN	Más de 25% de unión mediante prueba Farr (>25% del valor de referencia del laboratorio)
2	Fiebre	Más de 38°C después de excluir infección
2	Trombocitopenia	Menos de 100,000 plaquetas
2	Leucopenia	Leucopenia menor a 3000/mm ³ (no debido a medicamentos)

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN CLINICA

Lugar y Fecha _____ México, Distrito Federal, a ____ de _____ de 2007

Por medio de la presente acepto participar en el protocolo de investigación titulado: _____ Frecuencia de anticuerpos

Anti-nucleosoma en pacientes con nefritis lúpica proliferativa activa

Registrado ante el Comité Local de Investigación o la CNIC con el número: _____

El objetivo del estudio es: Determinar si la presencia de anticuerpos antinucleosomas en suero se encuentran asociados
Con actividad lúpica renal

Se me ha explicado que mi participación consistirá en: Toma de muestra sanguínea y almacenamiento del suero

Declaro que se me ha informado ampliamente sobre los posibles riesgos, inconvenientes, molestias y beneficios derivados de mi participación en el estudio, que son los siguientes:

Formación de hematoma en el sitio de punción,

El Investigador Responsable se ha comprometido a darme información oportuna sobre cualquier procedimiento alternativo adecuado que pudiera ser ventajoso para mi tratamiento, así como a responder cualquier pregunta y aclarar cualquier duda que le plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo, los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con la investigación o con mi tratamiento.

Entiendo que conservo el derecho de retirarme del estudio en cualquier momento en que lo considere conveniente, sin que ello afecte la atención médica que recibo en el Instituto.

El Investigador Responsable me ha dado seguridades de que no se me identificará en las presentaciones o publicaciones que deriven de este estudio y de que los datos relacionados con mi privacidad serán manejados en forma confidencial. También se ha comprometido a proporcionarme la información actualizada que se obtenga durante el estudio, aunque esta pudiera cambiar de parecer respecto a mi permanencia en el mismo.

Nombre y firma del paciente

Dr. Juan Manuel Miranda Limón Matrícula: 1314769

Nombre, firma y matrícula del Investigador Responsable.

Números telefónicos a los cuales puede comunicarse en caso de emergencia, dudas o preguntas relacionadas con el estudio:

Teléfono 57245900 extensión: jefatura de reumatología

Testigos

Alejandro Cabrera Martínez

Gabriela Guillen Gallardo

Clave: 2810 – 009 – 013