

Importancia Clínica y Patogénica de Anticuerpos anti Ro y anti La en Lupus Eritematoso Sistémico

Daniel Pacheco R.

Unidad de Reumatología e Inmunología,

Depto. de Medicina, Campus Centro,

Universidad de Chile, Hospital Clínico San Borja-Arriarán

El Lupus Eritematoso Sistémico (LES) es una enfermedad multisistémica, de etiología desconocida y de patogenia autoinmune, en la que se produce una gran cantidad de autoanticuerpos que tienen importancia en el diagnóstico y juegan un importante rol patogénico. Estos autoanticuerpos tienen como blanco antígenos celulares como DNA, nucleosomas y una serie de proteínas constitutivas de los complejos de ribonucleoproteínas (RNP). Uno de estos complejos es el Ro RNP, formado por RNP y las proteínas Ro de 60 Kd (Ro60) y 52 Kd (Ro52) más La de 48 Kd (La48) (1, 2) (Figura 1).

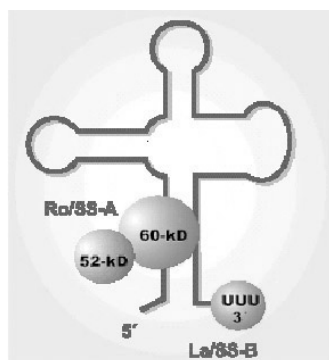


Figura 1.

Antígeno Ro

En condiciones normales, el complejo Ro RNP se encuentra en el citoplasma celular, mientras que las proteínas Ro y La libres se encuentran predominantemente en el núcleo; sin embargo, después de un estrés celular, por ejemplo, la radiación con luz ultravioleta, se han detectado Ro y La en la superficie de la célula (3-5).

La partícula Ro se ha conservado a través de la evolución entre los mamíferos, la rana, los nematodos y

algunas bacterias. En un eubacterium, la partícula Ro es parte del mecanismo por el cual se mantiene la resistencia a la radiación ultravioleta. Otros datos sugieren que Ro juega un rol metabólico de control de calidad para 5SrRNA (5S ribosome RNA), ya que participa en la degradación y eliminación de variantes de 5SrRNA alteradas.

Investigaciones recientes han mostrado que la ablación genética del gene codificador de Ro60 produce un cuadro lupus similar en ratas. Esta es la primera vez en que la eliminación de un blanco para la autoinmunidad en una enfermedad, induce la propia enfermedad, y el hallazgo apunta directamente a la relación entre LES y predisposición genética (6).

Anticuerpos anti Ro (anti Ro)

El anticuerpo anti Ro se describió por primera vez en el año 1969 en el suero de pacientes con LES. Este anticuerpo reaccionaba con antígenos de ribonucleoproteínas presentes en extractos de bazo humano y de conejo (7). Cuando extractos purificados de este anticuerpo se incubaron con células Hep-2 se observó con un patrón moteado. Casi al mismo tiempo, un anticuerpo idéntico fue descrito en el síndrome de Sjögren (SS) con el nombre de SS/A. Posteriormente se comprobó que anti Ro y anti SS/A reaccionaban con la misma proteína del RNA nuclear (8).

Actualmente se sabe que estos anticuerpos reconocen al menos dos proteínas celulares, la proteína Ro52, de 475 aminoácidos, y la Ro60, de 525 aminoácidos. El anticuerpo anti Ro52 se encuentra más frecuentemente en el SS primario, y el anti Ro60, más frecuentemente en el LES (9, 10). El anti Ro en LES y anti SSA en SS cuando reacciona con la misma partícula de 60 kD lo hace en diferentes epítopes (11).

Significado de anti Ro en LES

El anticuerpo anti Ro se encuentra en cerca de un 50% de los pacientes con LES. Está asociado con fotosensibilidad, con un eritema de la piel conocido como lupus cutáneo subagudo (LCSA), vasculitis cutánea, enfermedad pulmonar intersticial y lupus neonatal (LN) (12).

En nuestro país recientemente estudiamos un grupo de 50 pacientes con LES, según criterios de clasificación del American College of Rheumatology (ACR), que se atendían y trataban en el Policlínico de Reumatología del Hospital Clínico San Borja-Arriarán, entre los años 2001-2003 (13). A todos se les determinó presencia de anti Ro por las técnicas de ELISA y Western Blot (WB).

Por ELISA, 15 pacientes (30%) resultaron ser anti Ro positivo (anti Ro+) y 35 (70%), anti Ro negativo (anti Ro-). Todos los anti Ro+ por ELISA eran anti Ro+ por WB: 7 sólo anti Ro60, 1 sólo anti Ro y 7 tenían anticuerpos contra ambas proteínas de 60 y 52Kd. Catorce de los anti Ro+ eran además anti La+.

En este grupo no se encontraron grandes diferencias clínicas entre los pacientes con LES anti Ro+ o anti Ro-; tampoco hubo las asociaciones descritas en la literatura, salvo la presencia de mayor frecuencia de LN con bloqueo cardíaco congénito (BCC). Sin embargo, se encontraron diferencias en el tiempo de enfermedad, que fue mucho menor para los LES anti Ro+ y en la mayor presencia de úlceras mucosas (Tabla 1).

TABLA 1.
CARACTERISTICAS DEMOGRAFICAS Y CLINICAS DE 50 PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO. PARALELO SEGUN PRESENCIA DE ANTI RO.

	Todos	anti Ro-	antiRo+	p*
Número	50	35	15	-
Edad, años	39	39,7	37,4	ns
Sexo, femenino, n	48	34	14	ns
Duración LES, años	8,2	10,1	4,21	0,02
Criterios ACR	6,2	6,1	6,4	ns
Fotosensibilidad, %	90	87	93	ns
Eritema malar, %	77	74	80	ns
Úlceras mucosas, %	44	60	27	0.003
S Sjögren secundario, %	29	17	40	0.08
SLEDAI	5,8	5,7	5,83	ns
Lupus neonatal, n	2	0	2	-
Uso prednisona, mg/día	14,3	13,9	14,6	ns
Uso antimaláricos, %	72	58	86	ns
Uso inmunosupresores, n	6	4	2	ns

Relación con el LN

El LN es una enfermedad autoinmune transferida pasivamente de la madre al feto que ocurre en el 1% a 2% de los hijos de las mujeres anti Ro+ y anti La+. Esas mujeres habitualmente tienen el diagnóstico de LES o SS, pero en algunos casos pueden ser anti Ro+ y/o anti La+ en ausencia de cualquier enfermedad autoinmune. La frecuencia del LN aumenta en los embarazos posteriores a un primer caso de LN. Las manifestaciones clínicas incluyen eritema en la piel del recién nacido y

diversos grados de bloqueo cardíaco que puede presentarse en el período perinatal o más tarde en la infancia. Se pueden también presentar alteraciones hepatobiliares y hematológicas. Aunque no hay absoluta claridad en el mecanismo de daño, hay una relación evidente entre LN y pasaje transplacentario de anti Ro y anti La maternos (14-16).

El antígeno Ro se expresa en el corazón fetal en alrededor de las 16 y 18 semanas de gestación y el BCC aparece entre las 18 a 24 semanas. Los anticuerpos pueden

inducir una agresión autoinmune que altera el normal desarrollo de las fibras de conducción e inhiben la activación de los canales de calcio que son cruciales en la conducción del impulso en el nódulo aurículo-ventricular. El anticuerpo de mayor importancia en el LN es el anti Ro52. Se ha demostrado, en madres anti Ro+, que existe una mayor prevalencia y altos títulos de anti Ro52 en las que tienen hijos con BCC que las que no tienen niños con esa complicación. La concentración de anti Ro 52 también es mayor en los propios niños con BCC. Los anticuerpos en estos casos tienen como blanco un sector específico de la partícula Ro52 ubicado entre los aminoácidos 200-239 denominada partícula p200 (17).

Nuestro grupo de pacientes estudiados contaba con 48 mujeres que habían tenido 100 embarazos, 22 en las pacientes anti Ro+ y 78 en las anti Ro-. En las anti Ro+ hubo dos niños que presentaron LN con bloqueo aurículo-ventricular completo, es decir, un 9% de los embarazos, lo que es una proporción mucho mayor que la publicada en la literatura internacional, pero que podría deberse a concentración de casos más que a una mayor frecuencia real. Los dos casos fueron pesquisados durante el embarazo, ambas madres tenían anti Ro52 y además eran anti La+. No hubo casos de BCC en los hijos de madres anti Ro- (13).

Significado de anti Ro en LES AAN negativo

Se han descrito con cierta frecuencia casos de LES con AAN negativo. Actualmente se sabe que esto se debe a la utilización de sustratos de tejido no humano, como riñón de rata, para buscar AAN con la técnica de inmunofluorescencia indirecta (IFI) Cuando se utilizan sustratos a base de células humanas (HEP-2) disminuye considerablemente el número de LES con AAN negativo. En caso de persistir la negatividad, en la gran mayoría de los casos se pueden encontrar anticuerpos anti Ro con la técnica de ELISA (18).

Anticuerpos anti La/SSB

Aproximadamente el 50% de los sueros de pacientes con LES que contienen anti Ro también contienen anticuerpos anti La, que es un antígeno muy relacionado al RNP. Igualmente, muchos sueros de pacientes con SS que tienen actividad anti SSA tienen también reacción anti SSB. El anti La del LES es idéntico al anti SSB del SS y reacciona con una proteína de 48 kD que se encuentra en un complejo con la partícula Ro.

El anticuerpo anti La se encuentra prácticamente siempre en conjunto con anti Ro en pacientes con LES o SS, y es extremadamente difícil encontrarlo en su ausencia. El anti La también se ha asociado a fotosensibilidad y lupus neonatal (19).

Significado de anti Ro y anti La en SS

Los anticuerpos anti Ro y anti La se encuentran en aproximadamente el 75% de pacientes con SS primario, y en altos títulos está asociado con una mayor incidencia de compromiso extraglandular, especialmente púrpura, vasculitis y un síndrome desmielinizante parecido a la esclerosis múltiple (20). Al contrario, anti Ro/SSA está presente sólo en el 10% - 15% de SS secundario a Artritis Reumatoidea (AR).

Rol de la radiación ultravioleta, anti Ro, anti La y LES

Desde hace mucho tiempo se conoce la relación entre radiación ultravioleta (UV), fotosensibilidad y manifestaciones cutáneas con la presencia de anticuerpos anti Ro y anti La en el LES (21, 22). Sin embargo, la razón por la que se desarrollan esos autoanticuerpos sólo en algunos pacientes con LES es poco clara. Se ha demostrado que hay una gran variación en la expresión de los antígenos Ro y La en los queratinocitos de los pacientes con LES. Más aún, se ha demostrado que ambos antígenos se relocalizan y se expresan en la superficie del queratinocito después de ser irradiados con luz UV A y B *in vitro*. Se sugiere que los autoanticuerpos anti Ro y La pueden formarse después de la relocalización de esos autoantígenos nucleares que normalmente están fuera del alcance del sistema inmune. Hay indicios de que el mismo mecanismo puede funcionar *in vivo* con la exposición a la luz solar. Al respecto, hay un estudio en pacientes con LES con y sin fotosensibilidad que encontró que la expresión de antígenos Ro52, Ro60 y La48 en biopsias de piel era 4-10 veces mayor en los pacientes con fotosensibilidad que en los que no la tenían y que esto se correlacionaba con los títulos de anticuerpos anti Ro y anti La (23, 24). Un mecanismo que explicaría la producción de esos autoanticuerpos en el LES está relacionado a células en apoptosis, que constituirían una importante fuente de autoantígenos. Fragmentos de nuevos autoantígenos generados en células apoptóticas por acción de la luz UVB podrían iniciar y conducir la respuesta autoinmune en esta enfermedad (25, 26).

La luz del sol es la fuente natural más importante de luz UV. En condiciones normales, la radiación UV solar (RUVS) varía durante el año; a nivel de Santiago presenta niveles máximos en enero y mínimos en junio (Dirección de Meteorología de Chile). Considerando que se sabe poco respecto a las consecuencias de la RUVS *in vivo* sobre los pacientes con LES, decidimos estudiar los efectos de la variación estacional de la RUVS sobre la presencia y título de los anticuerpos anti Ro circulantes en pacientes con LES. Los pacientes incluidos en el estudio no tenían otra enfermedad intercurrente y presentaban función renal normal. El estudio se realizó en

15 pacientes con LES anti Ro+ a quienes se midieron por ELISA los títulos de anti Ro en junio 2002, enero 2003 y junio 2003. Se encontró que los niveles de anti Ro variaban con los cambios estacionales de la RUVS, dado que se hallaron títulos significativamente más altos en enero que en junio. En este estudio no se encontraron cambios clínicos significativos, dado que las manifestaciones como la fotosensibilidad, presencia de eritema o la actividad de la enfermedad medida por SLEDAI-2k no se modificaron sustancialmente (27).

Comentario final

El LES es una enfermedad con una gran variedad de manifestaciones clínicas y de laboratorio, las que siempre debemos tener en cuenta para su manejo. Una de estas manifestaciones es la presencia de autoanticuerpos que tienen importancia diagnóstica y que también pueden jugar algún rol patogénico.

En el caso del anti Ro, es muy interesante la relación con el espectro genético de la enfermedad, dado que debemos preguntarnos qué relación existe entre el Lupus símil de las ratas genéticamente incapaces de producir Ro, con el LES de los pacientes anti Ro+; pero también hay un interés respecto a la relación del LES con el ambiente, ya que los estudios existentes muestran una asociación entre la radiación ultravioleta *in vitro* e *in vivo* con la presencia de anti Ro en el suero de pacientes con LES.

Por ahora, parece claro que la presencia de anti Ro debe estudiarse siempre en estos pacientes, especialmente si existe la intención de buscar un embarazo.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Mohan C, Adamns S, Stanik V, Datta SK. Nucleosome: a major immunogen for pathogenic autoantibody-inducing T cells of lupus. *J Exp Med* 1993; 177:1367-81.
2. Lu L, Kaliyaperumal A, Boumpas DT, Datta SK. Major peptide autoepitopes for nucleosome-specific T cells of human lupus. *J Clin Invest* 1999; 104:345-55.
3. Furukawa F, Kashihara-Sawami M, Lyons MB, Norris DA. Binding of antibodies to extractable nuclear antigens SS-A/Ro and SS-B/La is induced on the surface of human keratinocytes by ultraviolet light (UVL): implications for the pathogenesis of photosensitive cutaneous lupus. *J Invest Dermatol* 1990; 94:77-85.
4. Golan TD, Elkon KB, Gharavi A, Krueger JG. Enhanced membrane binding of autoantibodies to cultured human keratinocytes of systemic erythematosus patients after ultraviolet B/ ultraviolet A irradiation. *J Clin Invest* 1992; 90:1067-76.
5. Jones SK. Ultraviolet radiation (UVR) induced cell-surface Ro/SS-A antigen expression by human keratinocytes in vitro: A possible mechanism for the UVR induction of cutaneous lupus. *Br J Dermatol* 1992; 126:546-53.
6. Scofield RH. Genetic knock out of 60 kD Ro (or SSA), a common lupus autoantigen, induces lupus. *TRENDS in Immunology* 2004; 25: 1-3.
7. Clark G, Richlin M, Tomeri T. Characterization of a soluble cytoplasmic

antigen reactive with sera from patients with systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 1969; 102:107.

8. Alspaugh M y Maddison P. Resolution of the identity of certain antigen-antibody systems in systemic lupus erythematosus and Sjögren`s syndrome: An interlaboratory collaboration. *Arthritis Rheum* 1979; 22:796.
9. St Clair EW, Burch J, Saitta M. Specificity of autoantibodies for recombinant 60 kD and 52 kD Ro autoantigens. *Arthritis Rheum* 1994; 37:1373.
10. Sanchez-Guerrero J, Lew RA, Fossel AH, Schur PH. Utility of anti RNP, anti Ro/SSA, anti La/SSB (extractable nuclear antigens) detected by enzyme-linked immunosorbent assay for the diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1996; 39:1055.
11. Barakat S, Meyer G, Torterotot F et al. IgG antibodies from patients with primary Sjögren`s syndrome and systemic lupus erythematosus recognize different epitopes in 60 kD A/Ro protein. *Clin Exp Immunol* 1992; 89:38-41.
12. Maddeson P, Mogavero H, Provost TT et al. The clinical significance of autoantibodies to a soluble cytoplasmatic antigen in systemic lupus erythematosus and other connective tissue diseases. *J Rheumatol* 1979; 6:189-94.
13. Pacheco D, Marinovic MA, Alvarez ME, Ballesteros F, Fuentealba C. Anti-cuerpos anti Ro/SSA y anti La/SSB en Lupus Eritematoso Sistémico. Manifestaciones Clínicas. Efectos en embarazo y neonato. *Revista Chilena de Reumatología* 2002; 18(3):150.
14. Lockshin M, Bonfa E, Elkon K, Druzen M. Neonatal lupus risk to newborns of mothers with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1988; 31:697-701.
15. Buyon J, Ben-Chetri E, Karp S et al. Acquired congenital heart block. Pattern of maternal antibody response to biochemically defined antigens of the SS/ARo-SSB/La system in neonatal lupus. *J Clin Invest* 1989; 84:627-31.
16. García S, Nascimento J, Bonfa E et al. Cellular mechanism of the conduction abnormalities induced by serum from anti Ro/SSA positive patients in rabbit heart. *Clin Invest* 1994; 93:718-22.
17. Salomonsson S, Dörner T, Theander E, Bremme K, Larsson P, Wahren-Herlenius MA. Serologic marker for fetal risk of congenital hearth block. *Arthritis Rheum* 2002; 46:1233-41.
18. Scofield R, Farris A, Horsalf A, Harley J. Fine specificity of autoimmune response to the Ro/SSA and La/SSB ribonucleoproteins. *Arthritis Rheum* 1999; 42:199-203.
19. Wenzel J, Gerdson R, Uerlich M, Bauer R, Bieber T, Boehm I. Antibodies targeting extractable nuclear antigens: historical development and current knowledge. *Br J Dermatology* 2001; 145:859-67.
20. Hanley J, Alexander E, Bias W et al. Anti Ro/SSA and anti La/SSB in patients with Sjögren`s syndrome. *Arthritis Rheum* 1986; 29:196.
21. Mond C, Peterson M, Rothfield N. Correlation of anti Ro antibody with photosensitivity rash in systemic lupus erythematosus patients. *Arthritis Rheum* 1989; 32:202-4.
22. Lopez-Longo F, Monteagudo I, Gonzalez C, Grau R, Carreño L. Systemic lupus erythematosus: clinical expression and anti Ro/SSA a response in patients with and without lesions of subacute cutaneous lupus erythematosus. *Lupus* 1997; 6:32-9.
23. Ionnides D, Golden B, Buyon J, Bystryj J. Expression of SSA/Ro and SSB/La antigens in skin biopsy specimens of patients with photosensitive forms of lupus erythematosus. *Arch Dermatol* 2000; 136:340-6.
24. Sontheimer R. Photoimmunology of lupus erythematosus and dermatomyositis: a speculative review. *Photochem Photobiol* 1996; 63:583-94.
25. Casciola-Rosen A. Ultraviolet light induced keratinocyte apoptosis: a potential mechanism for the induction of skin lesions and autoantibody production in LE. *Lupus* 1997; 6:175-80.
26. Wang B, Dong X, Yuan Z, Zuo Y, Wang J. SS/ARo antigen expressed on membrane of UVB-induced apoptotic keratinocytes is pathogenic but not detectable in supernatant of cell culture. *Chin Med J* 1999; 112:512-5.
27. Pacheco D, Marinovic MA, Alvarez ME, Urbina AM, Ballesteros F, Fuentealba C, Vizcarra G. Effect of natural ultraviolet radiation on anti Ro/SSA antibodies titer in systemic lupus erythematosus. *Clinical correlation. Arthritis Rheum* 2003; 48:(Supplem).