



# Nivel de estimulador de linfocitos B (BLyS/BAFF) en el suero de pacientes con lupus

Ulises Mercado,<sup>a,b</sup> Raúl Díaz-Molina<sup>b</sup>

## B lymphocyte stimulator (BLyS/BAFF) level in sera of patients with lupus

**Background:** B lymphocyte stimulator (BLyS/BAFF) is an endogenous protein that plays an important role in the differentiation and maturation of B lymphocytes. Enhanced levels of BLyS have been reported in lupus and other rheumatic diseases.

**Methods:** Serum samples from 92 lupus patients (94% females, median age 35.5 years) and 106 controls (50 healthy donors, 38 with rheumatoid arthritis, 18 with scleroderma) were analyzed for BLyS. The cutoff of BLyS  $> 1.98$  ng/ml corresponds to the 95th percentile from the healthy donors. Antibodies against native DNA and disease activity also were evaluated in lupus patients. During follow up, BLyS levels in 32 patients showed heterogeneity.

**Results:** The median level of BLyS in 92 lupus patients was 1.9 ng/mL (range 0.4-5.3), compared to 1.30, 1.35, and 1.35 ng/mL in healthy donors, rheumatoid arthritis, and scleroderma, respectively. Thirty-nine (42 %) out of 92 patients had elevated levels of BLyS (median 2.8 ng/mL). A moderate correlation between titers of anti-DNA antibody ( $r = 0.34$ ) and Mex-SLEDAI ( $r = 0.45$ ) was found. The monitoring of 32 patients showed persistently high levels, or normal or intermittent variations of BLyS.

**Conclusion:** The BLyS level is increased in some lupus patients. There was a moderate correlation with titers of anti-DNA antibody and disease activity. The monitoring of 32 patients showed heterogeneous levels of BLyS.

Key words	Palabras clave
Lupus Erythematosus	Linfocitos B
B-Lymphocytes	Lupus eritematoso sistémico

Recibido: 18/01/2015

Aceptado:

El lupus es una enfermedad autoinmune mediada por células B. El estimulador de linfocitos B (BLyS, del inglés: *B lymphocyte stimulator*, también conocido como BAFF: *B-cell activating factor*) es una proteína endógena que juega un papel importante en la sobrevida, diferenciación y maduración de linfocitos B a células plasmáticas productoras de anticuerpos. Esta proteína se expresa en monocitos/macrófagos, células dendríticas y células T activadas y se fija sobre tres receptores de células B (BAFF-R, TACI y BCMA). Otra proteína, APRIL, se fija a dos de los tres receptores: TACI y BCMA.

Estudios tempranos muestran que el BLyS guarda una relación con la enfermedad reumática autoinmune. La sobreproducción de BLyS en ratones transgénicos conduce a un aumento de la población de linfocitos B, hipergamaglobulinemia, complejos inmunes circulantes, autoanticuerpos, depósito de inmunoglobulinas en los riñones y manifestaciones clínicas semejantes a lupus y síndrome de Sjogren (SS). Modelos animales de lupus tienen concentraciones elevadas de BLyS en la sangre circulante y la administración de antagonistas de BLyS a estos ratones aminora la progresión de enfermedad y mejora la sobrevida.<sup>1-4</sup>

En lupus humano también se reportan niveles elevados de BLyS. La prevalencia varía de 21 a 80 % en diferentes estudios.<sup>5,6</sup> La correlación de niveles BLyS con títulos de anti-ADN y actividad de enfermedad es controversial. Algunos investigadores reportan una correlación entre el nivel de BLyS, el anti-ADN y la actividad de la enfermedad, mientras que otros encuentran relación con solo una de las variables.<sup>4-7</sup> Otro grupo de investigadores encontró una correlación entre actividad de enfermedad y niveles de ARN mensajero de leucocitos de sangre periférica.<sup>8</sup>

En marzo de 2011 se aprobó para el tratamiento del lupus un anticuerpo monoclonal humano específico para la proteína BLyS, el belimumab (Benlysta). Las pruebas clínicas controladas se diseñaron para analizar la eficacia a largo plazo en sujetos que también recibían tratamiento convencional, seropositivos a anticuerpos antinucleares o anti-ADN y bajo complemento, con manifestaciones clínicas mucocutáneas-articulares,

<sup>a</sup>Consulta de Reumatología, Departamento de Medicina, Hospital General Mexicali, Instituto de Servicios de Salud Pública del Estado de Baja California, Secretaría de Salud

<sup>b</sup>Facultad de Medicina, Universidad Autónoma de Baja California, Campus Mexicali

Mexicali, Baja California, México

Comunicación con: Ulises Mercado

Correo electrónico: dr\_omr\_2012@yahoo.com

**Introducción:** el estimulador de linfocitos B (BLyS/BAFF) es una proteína endógena fundamental en la diferenciación y la maduración de linfocitos B. En el lupus se han encontrado niveles altos de BLyS.

**Métodos:** se analizaron muestras séricas de 92 pacientes con lupus (94 % mujeres, con una mediana de edad de 35.5) y 106 controles (50 donadores de sangre, 38 pacientes con artritis reumatoide y 18 pacientes con esclerodermia). El punto de corte de BLyS > 1.98 ng/mL corresponde al percentil 95 de los 50 donadores de sangre. También se evaluaron anticuerpos contra ADN nativo y actividad de enfermedad. Durante el seguimiento, los niveles de BLyS en 32 pacientes mostraron heterogeneidad.

**Resultados:** la mediana de BLyS en 92 pacientes con

lupus fue de 1.9 ng/mL (rango 0.4-5.3), comparada con 1.30, 1.35, y 1.35 ng/mL en donadores de sangre, pacientes con artritis reumatoide y pacientes con esclerodermia, respectivamente. Treinta y nueve pacientes con lupus tuvieron niveles elevados de BLyS (mediana 2.8 ng/mL), comparados con el grupo control. Hubo una moderada correlación entre títulos de anti-ADN ( $r = 0.34$ ) y actividad de enfermedad (0.45). El seguimiento de 32 pacientes mostró un nivel de BLyS persistentemente elevado, normal o con variaciones intermitentes.

**Conclusión:** el nivel de BLyS resultó elevado en algunos pacientes con lupus. Hubo una moderada correlación con títulos de anti-ADN y actividad de enfermedad. El seguimiento de 32 pacientes mostró fluctuaciones en los niveles de BLyS.

## Resumen

enfermedad severa, pero sin nefropatía o manifestaciones neuropsiquiátricas. En general los pacientes tuvieron una buena respuesta: la actividad se redujo, mejoró la actividad serológica, disminuyeron las exacerbaciones y las dosis de corticosteroides.<sup>9</sup>

En este estudio se determinaron los niveles de BLyS en pacientes con lupus y se compararon con un grupo control. Se investigó la posible correlación entre BLyS, el anti-ADN y la actividad de enfermedad. En 32 pacientes con lupus se efectuaron mediciones seriadas de BLyS en un lapso de seis meses a dos años.

## Métodos

Se estudiaron 92 pacientes con lupus (94 % mujeres, edad mediana 35.5 años, rango 17-62) según los criterios del Colegio Estadounidense de Reumatología. Ciento seis sueros (50 donadores de sangre, 18 con esclerodermia o esclerosis sistémica y 38 con artritis reumatoide [AR]) sirvieron de control. Los

datos demográficos de los 92 pacientes se muestran en el cuadro I. Al momento del estudio, los pacientes recibían uno o varios fármacos que incluían corticosteroides, ciclofosfamida, azatioprina, cloroquina y antiinflamatorios no esteroideos (AINE). Después de obtener el consentimiento informado por escrito se tomaron muestras de sangre. En total se analizaron 154 muestras de sangre en un seguimiento de 6 a 24 meses. La actividad de la enfermedad se midió mediante Mex-SLEDAI<sup>10</sup> con un punto de corte  $\geq 3$  puntos. La presencia de anti-DNA nativo se analizó por inmunoanálisis enzimático ( $N = 0-3.0$  U/mL). Para el análisis de BLyS se utilizó ELISA (R&D system, Inc., Minneapolis, MN). El percentil 95 de los 50 donadores de sangre sirvió de punto de corte ( $> 1.98$  ng/mL). En 32 pacientes se tomaron  $\geq 2$  muestras de sangre (total 62) durante el seguimiento.

Para el análisis estadístico se utilizó estadística descriptiva y la prueba de  $U$  de Mann-Whitney para la diferencia entre medianas. La prueba de Spearman se usó para las correlaciones entre BLyS y anti-ADN, y BLyS y Mex-SLEDAI. Para la diferencia entre

**Cuadro I** Datos demográficos de 92 pacientes con lupus

Manifestaciones clínicas	n	%
Mucocutánea/articular	32	34
Nefropatía	22	24
Hematológico (anemia hemolítica, pancitopenia, púrpura trombocitopénica)	20	21
Serositis	7	7.6
Vasculitis	6	6.5
Afección del sistema nervioso central	3	3.2
Lupus discoide	1	1
Poliartritis	1	1
Anti-ADN	65	70

Los pacientes tenían más de dos órganos involucrados

porcentajes se utilizó la prueba de chi cuadrada. Una  $p < 0.05$  se consideró significativa.

## Resultados

El nivel sérico de BLyS en los 92 pacientes con lupus fue 1.8 ng/mL, rango 0.4-5.3. De los 92 pacientes, 53 tenían nivel bajo de BLyS; 30 de ellos resultaron positivos a anti-ADN, 26 estaban inactivos (Mex-SLEDAI < 3.0 puntos) y 23 casos cursaban con afección mucocutánea articular. Solamente 39 de 92 (42 %) resultaron con BLyS elevado (mediana 2.8 ng/mL, rango 2-5.5), comparado este con las medianas de AR (1.35 ng/mL, rango 0.65-4.0), esclerodermia (1.35 ng/mL, rango 1.2-3.6) y donadores de sangre (1.30 ng/mL, rango 0.7-2.1) (figura 1). Seis pacientes con AR, uno con esclerodermia o esclerosis sistémica y tres donadores de sangre tuvieron BLyS por encima del punto de corte. Únicamente 35 de 39 pacientes con BLyS alto mostraron anti-ADN elevado y todos con enfermedad activa (3 a 22 puntos). La mediana de Mex-SLEDAI de los 39 pacientes fue de 7 (rango 3-22). Las correlaciones entre BLyS, Mex-SLEDAI y anti-ADN fueron moderadas:  $r = 0.45$  y  $r = 0.33$ , respectivamente. El seguimiento mostró fluctuaciones en los niveles de BLyS. Siete

pacientes tuvieron niveles de BLyS persistentemente elevados, 15 resultaron persistentemente normales y 10 pacientes presentaron niveles normales y elevados. En los siete pacientes con niveles de BLyS alto, se encontró moderada correlación con anti-ADN ( $r = 0.40$ ) y correlación negativa con Mex-SLEDAI ( $r = -0.33$ ).

## Discusión

Este estudio muestra que el nivel de BLyS está elevado en el suero de algunos pacientes con lupus y es al menos más alto que en el del grupo control. Como es generalmente reportado, la mayoría de los pacientes fueron mujeres, con una edad mediana de 35.5. El 73 % de los pacientes tenían autoanticuerpos contra ADN. Las modalidades de tratamiento de nuestros pacientes durante el estudio y el seguimiento no fueron diferentes a otros estudios. La mediana de los niveles de BLyS en lupus total ( $n = 92$ ) y en 39 pacientes con BLyS alto fue significativamente diferente a la del grupo control.

La prevalencia de pacientes con lupus con BLyS elevado se encuentra en el rango de estudios previos (21-80 %). El 38 % de pacientes con BLyS elevado tuvo nefropatía, comparado con 13 % de pacientes con BLyS bajo ( $p = 0.002$ ). Las manifestaciones mucocutáneo-articulares fueron más frecuentes entre pacientes con BLyS bajo frente a pacientes con BLyS elevado (45 % frente a 17%,  $p = 0.000$ ). De manera similar a otros estudios, no se encontró una buena correlación con los títulos de anti-ADN y actividad de enfermedad. Nuestro estudio siempre utilizó inmunoanálisis enzimático para cuantificar el anti-ADN. Otros métodos para medir el anti-ADN, como *Crithidia lucillae* y ELISA, no se utilizaron. El análisis de Farr es muy específico para medir anti-ADN, pero utiliza material radioactivo. La medición de la actividad de la enfermedad fue mediante Mex-SLEDAI validado en México, el cual no incluye marcadores inmunológicos. Este índice de actividad deriva del SLEDAI o índice de actividad de enfermedad de lupus eritematoso sistémico. Por el contrario, este índice incluye niveles de anti-ADN por el método de Farr y su complemento.

El seguimiento confirma que los niveles de BLyS pueden variar.<sup>11</sup> De las 62 muestras de sangre, en siete los niveles de BLyS fueron persistentemente elevados, continuamente normales en 15 y niveles normales o elevados en 10. Pacientes con concentraciones normales de BLyS pueden requerir un nivel de umbral para respuesta de anticuerpos, incluyendo autoanticuerpos.<sup>11</sup>

Finalmente, el lupus es una enfermedad heterogénea o un síndrome multifactorial y multiétnico. Este estudio demuestra que solamente el 42 % de pacientes con lupus de una población mexicana del norte del país tiene niveles de BLyS elevados en su suero. Los niveles de BLyS varían durante el seguimiento sin una

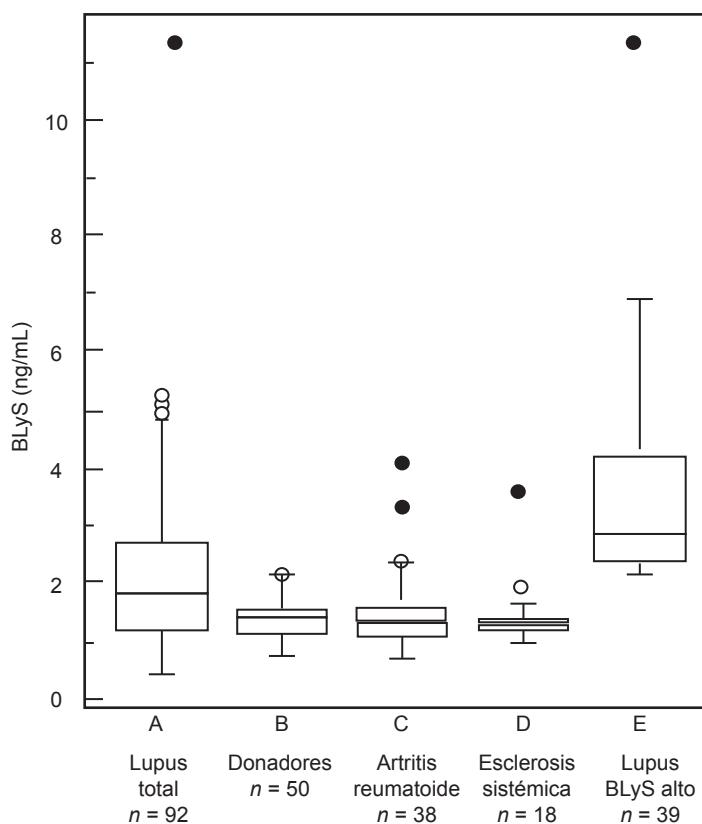


Figura 1 Medianas y rangos de niveles de BLyS

buenas correlaciones con la actividad de enfermedad. Pacientes con niveles altos de BLyS, particularmente aquellos con afección mucocutánea-articular, seropositivos a anti-ADN o AAN y activos, pueden beneficiarse con antagonistas de BLyS.

**Declaración de conflicto de interés:** los autores han completado y enviado la forma traducida al español de la declaración de conflictos potenciales de interés del Comité Internacional de Editores de Revistas Médicas, y no fue reportado alguno en relación con este artículo.

## Referencias

1. Stohl W. Systemic lupus erythematosus: a BLySful, yet BAFFling, disorder. *Arthritis Res Ther.* 2003;5:136-138.
2. Marriette X, Roux S, Zhang J, Bengoufa D, Lavie F, Zhou T, et al. The level of BLyS (BAFF) correlates with the titre of autoantibodies in human Sjogren's syndrome. *Ann Rheum Dis.* 2003;62:168-171.
3. Mercado U. El estimulador de linfocitos B en lupus eritematoso sistémico. *Rev Inst Mex Seguro Soc.* 2012;50(4):349-50.
4. Zhang J, Roschke V, Baker KP, Wang Z, Alarcon GS, Fessler BJ, et al. Cutting edge: A role for B lymphocyte Stimulator in systemic lupus erythematosus. *J Immunol.* 2001;166:6-10.
5. Cheema GS, Roschke V, Hilbert DM, Stohl W. Elevated serum B lymphocyte stimulator levels in patients with systemic immune-based rheumatic diseases. *Arthritis Rheumatol.* 2001;44:1313-9.
6. Elbirt D, Asher I, Mahlab-Guri K, Bezalel-Rosenberg S, Edelstein V, Sthoeger Z. BLyS levels in sera of patients with systemic lupus erythematosus: clinical and serological correlation. *IMAJ* 2014;16:491-6.
7. Petri M, Stohl W, Chath W, McCune WJ, Chevrier M, Ryel J, et al. Association of plasma B lymphocyte stimulator levels and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheumatol.* 2008;58:2453-9.
8. Collins CE, Gavin AL, Migone TS, Hilbert DM, Nemazee D, Stohl W. B lymphocyte stimulator (BLyS) isoforms in systemic lupus erythematosus: disease activity correlates better with blood leukocyte BLyS mRNA levels than with plasma BLyS protein levels. *Arthritis Res Ther.* 2006;8(1):R6.
9. Van Vollenhoven RF. Systemic lupus erythematosus: which drugs and when? *Int J Clin Rheumatol.* 2014;9:385-94.
10. Guzman J, Cardiel MH, Arce-Salinas A, Sánchez-Guerrero J, Alarcón-Segovia D. Measurement of disease activity in systemic lupus erythematosus. Prospective validation of 3 clinical indices. *J Rheumatol.* 1992;19:1551-8.
11. Stohl W, Metyas S, Tan SM, Cheema GS, Oamar B, XU D, et al. B lymphocyte stimulator overexpression in patients with systemic lupus erythematosus. Longitudinal observations. *Arthritis Rheumatol.* 2003; 48:3475-86.