

Autoanticuerpos como biomarcadores de actividad de la enfermedad del lupus eritematoso sistémico

Autoantibodies as biomarkers of disease activity in systemic lupus erythematosus

Dra. Elena Kokuina

Hospital Clínicoquirúrgico "Hermanos Ameijeiras." La Habana, Cuba.

RESUMEN

Hay una necesidad urgente de biomarcadores que permitan identificar y predecir las fases de actividad del lupus eritematoso sistémico (LES) para optimizar el manejo clínico de los pacientes. De la centena de autoanticuerpos presentes en los pacientes con LES muy pocos son candidatos para biomarcadores de actividad clínica de la enfermedad y ninguno se ha establecido como criterio independiente para la toma de decisiones clínicas. Identificar las recaídas del LES es más arte que ciencia. Recientemente se ha señalado que la correlación positiva entre los niveles de autoanticuerpos y la actividad del LES puede estar subvertida por la presencia de autoanticuerpos protectores que se oponen al daño hístico que producen los autoanticuerpos patogénicos. Los anticuerpos anti-nucleosoma, anti-DNA de doble cadena y anti-C1q están asociados a la actividad de la enfermedad evaluada por varios sistemas de puntuación internacionales como el SLEDAI, ECLAM y BILAG, mayormente en estudios transversales. Estos biomarcadores resultan prometedores para el seguimiento clínico de pacientes con LES, pero aún necesitan la validación de estudios controlados multicéntricos de gran escala. Se hizo esta revisión para resumir los retos del descubrimiento y validación de los autoanticuerpos biomarcadores de actividad del LES en el marco de la complejidad funcional de los autoanticuerpos.

Palabras clave: biomarcador, autoanticuerpo, actividad de la enfermedad del lupus eritematoso sistémico, anti-nucleosoma, anti-DNA.

ABSTRACT

There is an urgent need for biomarkers to identify and predict activity phases of systemic lupus erythematosus (SLE) to optimize the patients clinical management. Out of hundreds of autoantibodies present in SLE patients, very few are candidates for biomarkers of clinical disease activity and none has been established as an independent criterion for clinical decision making. Identifying relapse of SLE is more art than science. It has recently been suggested that the positive correlation between autoantibody levels and SLE activity may be subverted by the presence of protective autoantibodies opposed to tissue damage produced by pathogenic autoantibodies. The anti-nucleosome, anti-dsDNA and anti-C1q antibodies are associated with disease activity assessed by several international rating systems such as the SLEDAI, BILAG ECLAM and, partly in cross-sectional studies. These biomarkers are promising for clinical monitoring of SLE patients, but they still need the validation of multi-scale controlled studies. This review was to summarize the challenges of discovery and validation of biomarkers of autoantibodies in SLE activity within the functional complexity of the autoantibodies.

Key words: biomarker, autoantibody, disease activity in systemic lupus erythematosus, anti-nucleosome antibodies, anti-DNA.

INTRODUCCIÓN

El lupus eritematoso sistémico (LES) es la enfermedad autoinmune de mayor heterogeneidad tanto por sus manifestaciones clínicas como inmunológicas. La evolución del LES es impredecible, tiene períodos de exacerbación o actividad que alternan con períodos de remisión o relativa inactividad. La actividad de la enfermedad ocasiona daño irreversible de los órganos en el tiempo y es un factor fundamental que incide en la mortalidad por LES.¹

Entre los múltiples aspectos que centran el interés de la investigación médica sobre el LES, el diagnóstico precoz y la predicción de las fases de actividad son los más relevantes para lograr optimizar la atención clínica de los pacientes mediante el control médico y el ajuste oportuno del tratamiento inmunosupresor. La actividad de esta enfermedad se expresa de forma diversa, puede limitarse a una fatiga o llegar hasta una vasculitis grave que pone en peligro la vida del paciente. Una medición exacta de la actividad de la enfermedad es esencial para una decisión terapéutica más adecuada. La evolución del LES puede complicarse por el daño crónico y las comorbilidades, como las infecciones, las cuales son difíciles de distinguir de la actividad del lupus por la similitud de las manifestaciones. La evaluación de la actividad de la enfermedad de modo confiable, podrá ser útil tanto para estimar el estatus de la enfermedad, como también para facilitar el diagnóstico diferencial.²

En la actualidad se dispone de varios sistemas de puntuación para evaluar la actividad de la enfermedad, como el Índice de Actividad de la Enfermedad del LES (SLEDAI), Medida de Actividad del Lupus Sistémico (SLAM), Medida de Actividad del Lupus del Consenso Europeo (ECLAM), Índice del Grupo de Evaluación del Lupus de las Islas Británicas (BILAG),³ y el creado más recientemente, Índice de Respuesta

del LES.⁴ Estas herramientas de evaluación están compuestas por un amplio espectro de características de la enfermedad con predominio de aspectos objetivos sobre los subjetivos. Aunque el mérito de estos instrumentos en estandarizar la medición de la actividad del LES es bien reconocido, algunos no son suficientemente adecuados para evaluar la eficacia terapéutica en los ensayos clínicos y otros son de limitada aplicación en la práctica clínica porque dependen del nivel de entrenamiento para interpretar la información y completar los datos, además de consumir tiempo.⁵

SEGUIMIENTO INMUNOLÓGICO DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

El seguimiento inmunoalógico depende de la identificación de biomarcadores que reflejen fielmente las alteraciones patológicas y clínicas del LES⁶ y permitan no solo medir el grado de actividad de la enfermedad, sino predecir las recaídas clínicas. Un biomarcador es la medición de un evento genético, biológico, bioquímico, molecular o imagenológico cuyas alteraciones se correlacionan con la patogénesis de la enfermedad y puede ser evaluable en los laboratorios. Una determinación de laboratorio debe cumplir con varios criterios para que pueda ser considerada como un biobiomarcador confiable:

1. Ser relevante biológica y patológicamente.
2. Ser simple para permitir su aplicación en la práctica rutinaria.
3. Reflejar de forma exacta y sensible los cambios en la actividad de la enfermedad.⁶

La promesa de los autoanticuerpos como biomarcadores de actividad del LES se basa en que la producción de autoanticuerpos es la característica inmunoalógica más sobresaliente de esta enfermedad; en su papel patogénico y en que algunos de ellos varían sus niveles en el tiempo de evolución de la enfermedad, son fluctuantes.

Se han emprendido numerosos estudios en aras de identificar las asociaciones de las distintas especificidades de autoanticuerpos con la actividad y la gravedad de la enfermedad, sin embargo, el biomarcador ideal para su seguimiento aún no ha sido definido. Se espera que de los esfuerzos conjuntos de inmunólogos y reumatólogos emerjan biomarcadores sensibles y confiables que reflejen la actividad del LES y puedan beneficiar a poblaciones de pacientes.

AUTOANTICUERPOS EN EL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

La diversidad inmunoalógica del LES se expresa en la presencia de más de 100 autoanticuerpos distintos en los pacientes.⁷ Sin duda, el papel protagónico en la "superproducción" de autoanticuerpos en el LES le corresponde a los anticuerpos antinucleares (ANA). Los ANA forman una familia diversa de autoanticuerpos que reconocen antígenos intracelulares, tanto nucleares como citoplasmáticos. Los ANA están dirigidos a la cromatina y sus componentes individuales como el ácido desoxirribonucléico de doble cadena (ADNdc) y de simple cadena (ADNsc) y las histonas, así como a algunas ribonucleoproteínas que tienen la propiedad de ser extraíbles en soluciones salinas (ENA). Los anti-ENA comprenden las especificidades anti-Sm, -RNP, -SSA/Ro, y -SSB/La. Los ANA no son exclusivos del LES, pues se

presentan en otras enfermedades reumáticas donde constituyen también biomarcadores serológicos de gran valor para el diagnóstico y pronóstico. Por su relación con el LES y otras enfermedades autoinmunes reumáticas, los ANA han sido objetos de intensas investigaciones. De hecho, probablemente existe más información sobre las propiedades y generación de los ANA que sobre cualquier otro grupo de anticuerpos, tanto normales, como anormales en toda la medicina.

Los ANA se encuentran en la gran mayoría de los pacientes con LES, aunque su prevalencia puede oscilar en consideración del método y del origen étnico de la población de 67-94 %.⁸ Aunque los ANA son un criterio esencial del diagnóstico del LES, no permiten evaluar la actividad de la enfermedad y, por tanto, una vez que el resultado de los ANA sea positivo, no existe necesidad de determinarlos en forma seriada.⁹

Aunque identificamos el LES con la presencia de ANA, muchas otras especificidades de autoanticuerpos son producidas por las células B en esta enfermedad, como los anticuerpos anti-fosfolípidos, anti-hematíes, anti-linfocitos, anti-tiroideos, anti-hemocianina, anti-proteínas del complemento y otros. Las evidencias actuales señalan que la producción de las especificidades no nucleares de autoanticuerpos puede significar la progresión de la enfermedad en la etapa preclínica.¹⁰

AUTOANTICUERPOS PATOGÉNICOS

A diferencia de otras enfermedades reumáticas en las que el papel de los ANA es aún desconocido, el LES constituye un ejemplo en el cual ha quedado demostrado el papel de estos autoanticuerpos en la patogenia de la enfermedad. Los estudios del LES en seres humanos y del lupus en modelos experimentales de ratones, realizados en la década anterior, han permitido distinguir con mayor nitidez los mecanismos de producción de lesión inducidos por los autoanticuerpos.

Los mecanismos de lesión mediados por los autoanticuerpos en el LES se pueden resumir en el daño hístico mediado por inmunocomplejos, la unión a la superficie celular y citotoxicidad, la penetración al interior de células vivas y la reactividad cruzada con moléculas extracelulares.¹¹

Mecanismos patogénicos de los autoanticuerpos en el LES

1. Formación de inmunocomplejos *in situ* y circulantes con depósito en órganos diana, activación de complemento e inflamación.

- Anticuerpos anti-ADNdc.
- Anticuerpos anti-nucleosoma.

2. Unión a la superficie celular seguida por citolisis o citotoxicidad.

- Anticuerpos anti-Ro y anti-La.
- Anticuerpos anti-ribosomal P.
- Anticuerpos anti-linfocitos.
- Anticuerpos anti-eritrocitos.
- Anticuerpos anti-fosfolípidos.

3. Penetración en células vivas con inducción de la disfunción celular y apoptosis.

- Anticuerpos anti-ADNdc.
- Anticuerpos anti-U1RNP.

4. Reactividad cruzada con moléculas extracelulares.

- Anticuerpos anti-nucleosoma.
- Anticuerpos anti-ADNdc (ADN de doble cadena).
- Anticuerpos anti-fosfolípidos.

Las evidencias del papel patogénico de los autoanticuerpos han sido fundamentales para considerar a los ANA y algunas de sus especificidades como los anticuerpos anti-ADNdc y anti-Sm (Sm: nombre propio de ribonucleoproteína) como criterios de clasificación del LES.^{12,13} Estos 2 anticuerpos, biomarcadores inmunológicos de gran valor diagnóstico en el LES difieren en su especificidad y expresión. Los anticuerpos anti-ADNdc están dirigidos frente a determinantes del ácido nucléico, mientras que los anticuerpos anti-Sm están dirigidos frente a proteínas de los complejos proteína-ácido ribonucléico (ARN), llamados ribonucleoproteínas nucleares pequeñas (snRNPs). Los anticuerpos anti-ADNdc tienen la particularidad de que su expresión es variable en el tiempo y la fluctuación de sus niveles con frecuencia se correlaciona con la actividad de la nefritis lúpica. Sin embargo, los niveles de los anticuerpos anti-Sm son predominantemente estáticos en el curso de la enfermedad, apenas varían, incluso con los tratamientos citotóxicos, que causan un poderoso impacto sobre las poblaciones de células B.¹⁴ La expresión persistente de los anticuerpos anti-Sm en el tiempo, es una de las razones que se opone a su asociación con síntomas clínicos, los cuales aparecen y desaparecen durante la progresión de la enfermedad.

La expresión de los anticuerpos en el tiempo pudiera atribuirse a las células B que los producen, de modo que los anticuerpos de expresión persistente como los anti-Sm y otros que están dirigidos frente ribonucleoproteínas nucleares, como los anti-RNP, anti-Ro y anti-La (Ro, La: nombres propios de ribonucleoproteínas) probablemente sean producidos por células plasmáticas de larga vida; mientras que los anti-ADNdc que varían notablemente sus niveles en el mismo paciente hasta llegar a desaparecer con el tratamiento inmunsupresor, pudieran generarse repetitivamente *de novo* incentivados por la actividad de la enfermedad o ser producidos por células B de memoria. Se desconocen aún los fundamentos de la expresión diferenciada de los anticuerpos antinucleares, pero de ésta derivan importantes implicaciones para la utilización de algunas de las especificidades antinucleares como biomarcadores en la evaluación de la actividad de la enfermedad y de la respuesta a las terapias novedosas para el LES.

A pesar de que los anticuerpos anti-ADNdc son vistos como una población discreta de anticuerpos, forman parte de un grupo más amplio de autoanticuerpos que se unen a los nucleosomas, que son las unidades básicas de la cromatina. Este grupo de anticuerpos incluye los anticuerpos anti-ADNdc, anti-ADNsc, anti-histonas y anti-complejos ADN-histonas. Con frecuencia estos anticuerpos muestran una expresión concomitante en un patrón conocido como de ligamiento (del inglés: *linkage*). Probablemente este patrón refleja el papel de los nucleosomas como antígeno impulsor de la respuesta antinuclear en el LES, donde el ADN y las histonas representan antígenos de una estructura mayor.¹⁵ Como estos anticuerpos exhiben

patrones de expresión similares, es difícil apreciar la contribución patogénica de una sub-población particular. Por tanto, la variación de los niveles de los anticuerpos anti-ADNdc con la actividad de la enfermedad no implica necesariamente que sean los anti-ADNdc los únicos involucrados. Esta asociación igualmente podría apuntar hacia otros miembros de la familia como anticuerpos patogénicos.

Otro de los anticuerpos considerados patogénicos en el LES es el anti-C1q, que reacciona con los epítopos situados en la región similar al colágeno de la molécula de C1q del sistema de complemento. Se ha encontrado una asociación fuerte entre los anticuerpos anti-C1q y la nefritis lúpica y, en particular, con la nefritis activa, la cual se caracteriza por niveles elevados de anti-C1q.¹⁶ Un estudio longitudinal demostró que el incremento en las concentraciones séricas de los anticuerpos anti-C1q predijo las recaídas renales con una sensibilidad y especificidad satisfactorias.¹⁷ El efecto nefritogénico de los anticuerpos anti-C1q puede deberse a la contribución en la formación de inmunocomplejos circulantes que se depositan en el riñón o a la contribución en la formación local de los inmunocomplejos sobre la membrana basal glomerular. Al interferir con la activación del sistema de complemento por la vía clásica, los anticuerpos anti-C1q impiden la solubilización de los inmunocomplejos, lo que promueve aún más su depósito en el riñón. Los anticuerpos anti-C1q son considerados actualmente como un biomarcador no invasivo de utilidad para el seguimiento de la enfermedad renal y predicción de las recaídas.¹⁸

AUTOANTICUERPOS PROTECTORES

Hace medio siglo atrás se emprendió una ardua labor investigativa para demostrar el papel patogénico de los autoanticuerpos en el LES. Aunque la lista de los anticuerpos patogénicos sigue creciendo y existen firmes evidencias de que los autoanticuerpos producen lesiones hísticas en el LES, la noción de que todos los autoanticuerpos son patogénicos está lejos de consolidarse. En los últimos años se han proporcionado evidencias que indican el papel protector de algunos autoanticuerpos, tanto en el inicio como en la progresión de la enfermedad. El concepto de los autoanticuerpos protectores en el LES está sustentado por una parte por la existencia de "autoanticuerpos naturales" los cuales son polirreactivos, de isotipo IgM, de baja afinidad y reconocen tanto los antígenos propios como los no propios. Algunos de estos autoanticuerpos naturales pueden bloquear la enfermedad autoinmune al enmascarar los autoantígenos y evitar que las células autorreactivas se unan a sus estructuras blanco.¹⁹ Ejemplos de anticuerpos protectores podrían ser los anticuerpos anti-RNP y el factor reumatoide, los cuales protegen contra la enfermedad renal del LES.²⁰ Se ha señalado que una especificidad de anticuerpos antinucleares, anti-HMGB1 (*high mobility group box 1*), dirigida a una proteína nuclear no-histona, que es común en pacientes con enfermedades reumáticas, puede atenuar la enfermedad al inhibir el potencial inflamatorio de la molécula HMGB1.²¹ También la administración de anticuerpos monoclonales anti-histona H3 resultó protectora en la lesión hepática inducida por fármacos en modelos animales.²² Otra clase de autoanticuerpos son los anticuerpos catalíticos o abzimas.²³ La actividad de los anticuerpos catalíticos se localiza primariamente en el dominio variable del anticuerpo y pudiera corresponder a la diversidad innata de los repertorios de inmunoglobulinas. Las abzimas se han descrito en el LES y otras enfermedades autoinmunes donde moléculas blanco definidas, como la cromatina, se someten a hidrólisis. Estos estudios sugieren que la autoinmunidad puede ser atenuada por los anticuerpos protectores, y que la eliminación o la interferencia con las respuestas de células B mediante anticuerpos monoclonales terapéuticos como el anti-CD20, pudiera no ser la estrategia

terapéutica óptima.²⁴ Un enfoque terapéutico más razonable podría estar dirigido a incrementar selectivamente la expresión de los anticuerpos protectores en lugar de agotarlos.

Existen, además, autoanticuerpos en el LES que no pueden clasificarse como patogénicos ni como protectores, por lo tanto se consideran neutros o indiferentes. Esta categoría de anticuerpos se produce en las infecciones frente a determinados microorganismos, cuando estos no participan en la eliminación del agente agresor. Estos anticuerpos aparentemente "carentes de utilidad" están siendo relegados a la categoría de "anticuerpos trastos" (*junk*), noción reminiscente del ADN "trasto" referente a la proporción del genoma humano que resulta un ADN carente de función. Sin embargo, el dogma del ADN presumiblemente no funcional o neutro se está revisando a la luz de las evidencias de su participación en la regulación de la expresión de genes y patogénesis de enfermedades.²⁵

La heterogeneidad funcional de los autoanticuerpos y, en particular, de los anticuerpos antinucleares pudiera explicar las discrepancias entre los resultados de los estudios serológicos y el estado clínico, en referencia a que los pacientes positivos de anticuerpos, pero clínicamente silentes, pudieran presentar anticuerpos protectores que impidieran el desarrollo de determinadas manifestaciones clínicas. La identificación de autoanticuerpos protectores pudiera conllevar el diseño de nuevas generaciones de ensayos, si las propiedades protectoras fueran dependientes de características inmunoquímicas de los anticuerpos como la avidez, isotipo o especificidad. Por ejemplo, pudiera ser de utilidad determinar un espectro más amplio de anticuerpos antinucleares, si se confirma que algunas de sus especificidades como los anti-HMGB1, cumplen un papel protector en las respuestas autoinmunes.²⁶

La separación de los autoanticuerpos en patogénicos y protectores puede resultar relativa e incompleta si no se tienen en cuenta todos los factores involucrados en una respuesta de anticuerpos, principalmente los que dependen del organismo respondedor y del estímulo desencadenante de la respuesta. Otra pista para entender las funciones de los autoanticuerpos en el LES puede provenir del análisis de los autoanticuerpos que unen y activan los componentes del complemento, como el C1q y otras proteínas como las integrinas.²⁷ Estos análisis podrían definir la ubicación exacta de los autoanticuerpos patogénicos y protectores en la compleja red de interacciones entre la respuesta inmune innata y la adaptativa. Sin duda, en un futuro cercano, se esclarecerá la importancia de todas las respuestas de anticuerpos en el complejo mosaico autoinmune del LES.

ANTICUERPOS ANTI-ADN DE DOBLE CADENA

Los anticuerpos anti- ADN de doble cadena (anti-ADNdc) se han ganado un "lugar de honor" en las determinaciones de autoanticuerpos por sus 50 años de "servicio" al diagnóstico y atención clínica del LES. Es la determinación de anticuerpos que más se ha utilizado para el seguimiento clínico por su reconocida asociación con la actividad de la enfermedad, lo que le valió integrar los índices de la actividad de la enfermedad como el SLEDAI y el ECLAM. La sensibilidad sub-óptima de los anticuerpos anti-ADNdc está compensada por la elevada especificidad que alcanza el 95 %. Los anti-DNAdc aparecen en etapas tempranas del LES, incluso pueden anteceder el inicio clínico.²⁸

Los anticuerpos anti-ADNdc integran el espectro normal de anticuerpos naturales del individuo sano, en el cual son de isotipo IgM y de reacción muy débil con los autoantígenos. En el paciente con LES estos anticuerpos naturales cambian el

isotipo IgM por el IgG, lo que incrementa su potencial patogénico. Mutaciones somáticas en los genes de inmunoglobulinas también pueden inducir la producción de anticuerpos anti-ADNdc de isotipo IgG de alta afinidad.²⁹ Los anticuerpos anti-ADNdc de isotipo IgG (anti-ADNdc IgG) poseen la propiedad de activar el sistema de complemento. Los anticuerpos anti-ADNdc IgG constituyen el subconjunto de anticuerpos anti-ADNdc al que se le atribuyen cualidades patogénicas y en la lesión renal de esta enfermedad.

Métodos de detección

El valor clínico de los anticuerpos anti-ADNdc depende del método utilizado para su detección y cuantificación. Los autoanticuerpos suelen ser de naturaleza policlonal - de isotipos, afinidad y avidez mixtos- y con frecuencia reconocen múltiples moléculas blanco. Cada método detecta propiedades particulares y distintas de los autoanticuerpos cuyo valor clínico y patogénico es comprendido solo parcialmente. Las determinaciones de los autoanticuerpos en el LES son un ejemplo perfecto de este dilema. La prevalencia de los autoanticuerpos varía ampliamente en los estudios transversales, lo que se debe en parte al empleo de diferentes métodos de detección. El método de elección para determinar los anticuerpos anti-ADNdc aún no está definido. Los métodos más utilizados son el ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima (ELISA), la inmunofluorescencia con la *Crithidia luciliae* (IFI-CL) y el radioinmunoanálisis (RIA) (cuadro).

Cuadro. Valor clínico de los métodos para la detección de los anticuerpos anti-DNA de doble cadena (dc) en el lupus eritematoso sistémico

| Método | Especificidad diagnóstica | Valor clínico | Uso en el seguimiento de la actividad |
|------------|---|-----------------------------------|---------------------------------------|
| RIA | Alta, pero con falsos positivos | Útil para diagnóstico y monitoreo | Útil en un subconjunto de pacientes |
| IFI-CL | Alta, pero con falsos positivos | Útil para diagnóstico | Poco útil por semicuantitativa |
| ELISA | Variable, alta para la IgG específica, falsos positivos | Útil para diagnóstico y monitoreo | Útil para la IgG específica |
| Immunoblot | Moderada | Útil para diagnóstico | No útil |

RIA: radioinmunoanálisis. IFI-CL: inmunofluorescencia indirecta con *Crithidia luciliae*. ELISA: ensayo inmunoabsorbente ligado a enzima.

Todos los métodos requieren de rigurosa validación para determinar en qué medida cumplen con la función de detectar los autoanticuerpos. En la práctica es muy poco probable contar con un método cuya sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y valor predictivo negativo sean de valores máximos. Además, los métodos deberían informar sobre la actividad de la enfermedad, las afectaciones orgánicas, ser predictivos de recaídas y, por tanto, de la necesidad de reajuste del tratamiento. Ningún método cumple con todas estas tareas en la actualidad porque el incremento de la especificidad generalmente conduce a decremento de la sensibilidad y algunas de las manifestaciones clínicas del LES no son mediadas por los autoanticuerpos. Los métodos más específicos deben ser utilizados para el diagnóstico, mientras los más sensibles son los recomendados para el monitoreo o seguimiento clínico.³⁰

Los métodos de detección de los anticuerpos anti-ADNdc se enfrentan con múltiples obstáculos aplicables a la detección de otros autoanticuerpos:

1. *Diferencias en el sustrato:* se utilizan varias fuentes de sustrato de ADN, de mamíferos y no mamíferos, cuando cada una de estas puede detectar un subconjunto diferente de anticuerpos.
2. *El isotipo de anticuerpo detectado:* los métodos detectan diferentes isotipos de autoanticuerpos (IgG, IgA, IgM, o combinaciones de estos). Todos los isotipos son detectados en el RIA, IFI-CL y ELISA con el uso de antisueros poliespecíficos. El resultado de un método con antisuero poliespecífico puede tener un valor clínico diferente al del método que utiliza antisuero específico de anti-IgG. Los anticuerpos anti-ADNdc IgM no son específicos del LES.³¹
3. *La afinidad del anticuerpo:* los anticuerpos anti-ADNdc de afinidad alta pueden ser más relevantes para la patogenia del LES, en especial para la nefritis. Anticuerpos de baja afinidad no son detectados por el RIA, pero sí por el ELISA.³²
4. *Características específicas del método:* a cada método se le conocen causas de falsa positividad. Por ejemplo, la contaminación con la proteína C reactiva (PCR) o el ADNsc en el RIA; los complejos IgG-lipoproteína en la IFI-CL; anticuerpos a los ligadores en el ELISA. La contaminación con el ADNsc da lugar a la sobreestimación de los títulos de anti-ADNdc, porque ellos se unen regularmente al ADNsc, pero los anticuerpos anti-ADNsc no son específicos del LES.³³ La contaminación reduce la especificidad y, por tanto, la utilidad diagnóstica del método.
5. *Problemas relacionados con la estandarización y calibración:* un método necesita precisión y exactitud para garantizar un monitoreo adecuado y permitir comparaciones entre laboratorios. Para mejorar la estandarización entre métodos se dispone de preparaciones de referencia internacionales para los anticuerpos anti-ADNdc.³¹ Todos los laboratorios deben participar en programas del control de calidad externo y mantener vigentes las normas del control de calidad interno.

Relación con la actividad de la enfermedad

Las determinaciones de autoanticuerpos no han podido conquistar la independencia de los criterios clínicos para detectar la actividad del LES. Aún reina el concepto de que las pruebas de laboratorio no son más eficaces que el examen clínico para evaluar la actividad o las recaídas del LES. No obstante, numerosos estudios han atestiguado el paralelismo de los anticuerpos anti-ADNdc con la actividad global del LES y la nefritis lúpica.³³⁻³⁶ El problema radica en que la asociación de los anti-ADNdc con la actividad de la enfermedad no se cumple para todos los pacientes con LES, hay algunos con niveles altos de anti-ADNdc de forma permanente, pero sin evidencia clínica de actividad; así como pacientes con actividad clínica persistente con niveles normales de anticuerpos anti-ADNdc.³⁷ El consenso actual es que los anticuerpos anti-ADNdc confirman la actividad del LES, pero la predicción de las recaídas es un tema controvertido, con resultados a favor^{38,39} y en contra, del papel predictivo de los anti-ADNdc.^{9,40} El ascenso de los niveles de los anticuerpos anti-ADNdc por sí solo, no siempre justifica la instauración del tratamiento profiláctico, pero amerita estrechar el seguimiento clínico por una probable recaída.⁴¹

A diferencia de los anticuerpos anti-ADNdc del isotipo IgM, los isotipos IgG e IgA son específicos del LES activo, aunque los anti-ADNdc IgG son los de mayor valor clínico y representan los anticuerpos de referencia tanto para el diagnóstico como para el seguimiento.⁹ Los anticuerpos anti-ADNdc IgG de gran avidez representan

un factor de riesgo para un LES de mayor actividad clínica.³⁹ Los anticuerpos anti-ADNdc IgA se presentan tanto en el LES activo como en la glomerulonefritis lúpica, pero su utilidad no supera la de los anti-ADNdc IgG.⁴²

Similar a los anticuerpos anti-ADNdc, los anti-ADNsc también son biomarcadores sensibles de actividad del LES, pero adolecen históricamente de escasa especificidad, lo que merma el valor clínico de estos anticuerpos a favor de los anti-ADNdc.³³

Papel patogénico en la nefritis lúpica

Poco tiempo después del descubrimiento de los anticuerpos anti-ADNdc, se demostró su asociación con la nefritis lúpica. Este hallazgo estuvo basado en 3 hechos: 1. el ADN se unía al colágeno glomerular;⁴³ 2. los anticuerpos nefritogénicos eran específicos de ADN⁴⁴ y 3. los anticuerpos anti-ADNdc se podían obtener de riñones con nefritis lúpica.⁴⁵ Cómo los anticuerpos anti-ADNdc se depositan en el riñón y desencadenan los mecanismos patogénicos de la nefritis sigue siendo una incógnita.

La nefritis lúpica es una manifestación grave del LES que puede afectar hasta el 70 % de los pacientes. Las lesiones mediadas por autoanticuerpos pueden afectar los glomérulos, los vasos y el compartimento túbulo-intersticial del riñón. La nefritis lúpica evoluciona con un patrón de recaídas y remisiones y se manifiesta por la proteinuria, el sedimento urinario alterado y la disfunción renal progresiva. La prevalencia de los anticuerpos anti-ADNdc en pacientes con nefritis lúpica oscila entre 70 % y 96 %.^{36,38} Las características inmunológicas de los anticuerpos nefritogénicos son el isotipo IgG, la capacidad de activar el complemento, la avidez, la carga y la secuencia de aminoácidos en las regiones determinantes de complementariedad.²⁶

Propiedades nefritogénicas de los anticuerpos

- Isotipo.
- Especificidad.
- Carga.
- Avidez.
- Fijación del complemento.
- Unión al glomérulo.
- Inducción de la enfermedad en modelos de transferencia en ratón.

El comienzo de la nefritis lúpica está marcado por el depósito de los anticuerpos anti-ADNdc en el parénquima renal. Se han propuesto 3 mecanismos que explican el desarrollo de la nefritis lúpica que incluyen: 1. depósito de inmunocomplejos ADN/anti-ADNdc preformados circulantes en el riñón, 2. unión de los anticuerpos a los antígenos depositados en el riñón -este concepto corresponde a la teoría del "antígeno sembrado" y 3. unión directa a los antígenos de reactividad cruzada presentes en la superficie de las células renales residentes o en su microambiente extracelular.

1. *Depósito de inmunocomplejos ADN/anti-DNAdc preformados circulantes en el riñón.* Se ha planteado que la lesión renal del LES se debe a la retención pasiva de los inmunocomplejos ADN/anti-ADNdc, preformados circulantes en el glomérulo. Esta teoría ha sido refutada por las dificultades para detectar los inmunocomplejos preformados en la sangre y se demostró, además, que los inmunocomplejos se localizan solo transitoriamente en el glomérulo antes de ser eliminados por el hígado.⁴⁶
2. *La teoría del "antígeno sembrado".* Según esta, la cromatina liberada de las células apoptóticas o necróticas es atrapada en la membrana basal glomerular donde funciona como "antígeno sembrado" para mediar la unión de los anticuerpos anti-ADNdc. "El antígeno sembrado" en la membrana basal glomerular pudiera ser el nucleosoma.⁴⁷ Estudios ultraestructurales han demostrado que los anticuerpos anti-ADNdc se localizan conjuntamente con la cromatina en forma de depósitos densos en el riñón afectado.¹⁶ Anticuerpos anti-nucleosoma (Nc) también se presentan en pacientes con LES, en especial con nefritis lúpica. Según esta teoría, en los pacientes con LES la deficiencia en la eliminación de los deshechos celulares favorece la exposición de los fragmentos de cromatina, lo que resulta esencial para la producción de los anticuerpos anti-Nc y anti-ADNdc e inicio de la inflamación renal.⁴⁸ Los anticuerpos de mayor potencial nefritogénico son los anti-ADNdc de isotipo IgG, aunque el isotipo IgA también se asocia a la nefritis lúpica activa.⁴² Los anti ADNdc IgA no activan el complemento por la vía clásica y el mecanismo de su participación en la lesión renal es aún elusivo, aunque pudieran participar en otras vías de activación del complemento como la alterna y la de las lectinas.⁴⁹ Los anticuerpos anti-ADNdc y los anti-Nc no son los únicos involucrados en la nefritis lúpica y la generación de otras especificidades de autoanticuerpos como los anti-C1q, anti-PCR, y anti-proteína del amiloide sérico (SAP) podría incrementar la inflamación y contribuir a la progresión del daño renal.⁵⁰ Así como la presencia de anticuerpos protectores podría explicar la ausencia del daño renal en pacientes con LES con niveles elevados de anticuerpos nefritogénicos. Se disponen evidencias clínicas de que los anticuerpos anti-ADNdc del isotipo IgM, así como los anticuerpos anti-pentraxina 3 (PTX3) pudieran ser compensatorios de los anticuerpos nefritogénicos por su efecto de protección renal.⁵¹ Los anticuerpos anti-ADNdc IgM pudieran contrarrestar la lesión hística al impedir la unión de los anticuerpos IgG nocivos con el antígeno por el secuestro de este y también al regular negativamente las células B autorreactivas lo que mitiga la producción de anticuerpos anti-ADNdc IgG patogénicos.⁴² Se ha señalado, además, que los complejos ADNdc-anti-ADNdc IgM son eliminados más eficazmente por los fagocitos, lo que minimiza sus depósitos en la membrana basal glomerular.⁵²
3. *Reactividad cruzada con antígenos que no son ADN.* La autorreactividad con el ADN nativo *per se* no parece ser la propiedad de los anticuerpos anti-ADNdc responsables de inducir el daño renal. Recientemente han emergido evidencias de que la reactividad múltiple o polirreactividad de los anticuerpos anti-ADNdc, independiente de la cromatina como puente de unión, es lo que les confiere el potencial patogénico. La polirreactividad de los anticuerpos anti-ADNdc puede estar relacionada con la similitud molecular, estructural o de conformación. Es posible entonces que la reactividad de los anticuerpos con el ADN o la cromatina *per se* no sea la determinante para el desarrollo de la nefritis lúpica, sino más bien la capacidad de los anticuerpos de unir antígenos intrínsecos del parénquima renal. Las moléculas de alfa-actina, los grupos heparan sulfato de los proteoglicanos, la laminina, la fibronectina y el colágeno han sido señalados como antígenos candidatos que son reconocidos por los anticuerpos anti-

ADNdc.⁵³ Últimamente se ha demostrado que los anticuerpos anti-ADNdc humanos se unen a las moléculas de annexina II presentes sobre la superficie de las células mesangiales humanas e inducen alteraciones en la función celular. La unión de los anticuerpos anti-ADNdc a las proteínas de superficie de las células renales residentes puede desencadenar la cascada de activación de las vías de señales que permiten la liberación de los mediadores de inflamación y fibrosis.⁵⁴

ANTICUERPOS ANTI-NUCLEOSOMA

Por mucho tiempo había predominado el concepto de que el autoantígeno principal en el LES era el ADNdc en su forma pura. Sin embargo, el ADNdc no abunda como tal *in vivo* y además ha mostrado ser un inmunógeno muy pobre en los modelos de animales. El ADN fuera de la célula se presenta generalmente unido a histonas en forma de complejos llamados nucleosomas generados durante la apoptosis, los cuales son los inmunógenos primarios del LES porque son los que inducen las respuestas de anticuerpos anti-nucleosoma (Nc) y anti-ADNdc.⁵⁵ El nucleosoma es la unidad o bloque estructural básico de la cromatina presente en el núcleo de los eucariotas; es un complejo macromolecular con un peso molecular de 250 kD compuesto aproximadamente por 40 % de ADN, 40 % de histonas y 20 % de proteínas no histonas, ARN y otras moléculas. El nucleosoma está formado por 200 pares de bases de ADN de doble cadena que envuelven con 2 lazos un núcleo de proteínas consistente de un octámero de histonas (H2A-H2B-H3-H4)₂, con la histona H1 en los puntos de entrada y salida del ADN del nucleosoma.⁵⁶ En la hebra de cromatina los nucleosomas están conectados por secuencias de 15-18 pares de bases de ADN, a las cuales está ligada la histona H1. El ordenamiento periódico de las histonas a lo largo del ADN le confiere a la cromatina la apariencia de "cuentas o perlas en un hilo" en las micrografías electrónicas. Las "perlas" pueden separarse por digestión del ADN que las une con la nucleasa micrococcica y se obtienen los nucleosomas. Los anticuerpos que reaccionan con las estructuras presentes en los complejos ADN-histonas naturales se denominan anticuerpos anti-Nc o anti-cromatina. Debido a que los nucleosomas comparten epitopos en común con el ADNdc y las histonas, los anticuerpos anti-ADNdc, anti-Nc y anti-histonas pertenecen a la misma familia de autoanticuerpos. Los anticuerpos anti-Nc no reaccionan con los componentes individuales del nucleosoma, que son el ADN y las histonas, sino reconocen epitopos conformatacionales que resultan de las interacciones entre el ADN y las histonas.⁵⁷

Métodos de detección

La prueba de las células LE fue la primera evidencia de la presencia de los anticuerpos anti-Nu, un poco después se añadió la aglutinación de látex y, más recientemente, se han desarrollado la inmunoprecipitación, *immunoblot*, reconstitución de reacciones hísticas y ELISA, este último es el más popular en los laboratorios clínicos.⁵⁶ Las opciones antigenicas más útiles para el ELISA son la cromatina despojada de la histona H1 y las partículas de nucleosoma. En ambos casos, la cromatina natural se solubiliza por digestión con la nucleasa micrococcica y la histona H1 y otras proteínas se remueven mediante tratamiento con cloruro de sodio 0.5 M a pH neutro. Se obtienen así las partículas de nucleosomas compuestas por el ADN que envuelve un octámero de histonas (H2A, H2B, H3, H4)₂. Cuando el ADN ligador no es cortado por la nucleasa se obtienen los polinucleosomas, fragmentos de cromatina despojada de H1. Para el método de ELISA, el valor de corte entre los resultados positivos y negativos debe determinarse por un método

estadístico no paramétrico porque la distribución de los individuos normales y los pacientes no semeja la curva de campana estándar.⁵⁸

Relación con la actividad de la enfermedad

Las 2 observaciones más relevantes respecto a la utilidad clínica de los anticuerpos anti-Nu es que son sensibles y específicos del LES y que su presencia se correlaciona con la glomerulonefritis en los pacientes con LES. Estudios clínicos realizados en Europa, EE. UU., Asia, América Latina y África han evaluado la presencia de los anticuerpos anti-Nu en pacientes con LES y otras enfermedades autoinmunes.⁵⁸⁻⁶⁹ Según estos resultados, el rango de sensibilidad de los anticuerpos anti-Nu se encuentra entre 45 % y 100 % y la especificidad, entre 90% y 99 % (tabla). La asociación clínica más frecuente fue la afectación renal^{59,60,62,63,65} y, en menor proporción, la hematológica,^{62,64,69} la articular, la cutánea y la pleural.⁶⁵ Los niveles de los anticuerpos anti-Nu se correlacionaron positivamente con los niveles de los anticuerpos anti-ADNdc.^{58,60,62-64} Un resultado notable fue la presencia de los anticuerpos anti-Nu en pacientes negativos de anticuerpos anti-ADNdc, los cuales alcanzaron proporciones de 23 %;⁶⁶ 35 %⁵⁷ y 51 %.⁶⁸ Estos datos permiten concluir que la reactividad anti-Nu representa un biomarcador diagnóstico útil en pacientes con LES negativos de anticuerpos anti-ADNdc. Estos estudios han consolidado la utilidad de los anticuerpos anti-Nu como un biomarcador sensible y específico para diagnosticar el LES, pero el valor de los anticuerpos anti-Nu en el seguimiento o monitoreo del LES está aún por definirse.

Los resultados de la correlación de los anticuerpos anti-Nu con la actividad de la enfermedad han sido contradictorios en los diversos trabajos publicados en la literatura. La correlación de anti-Nu y actividad del LES ha sido analizada mayormente en estudios transversales, en los cuales predominó la asociación de los anticuerpos anti-Nu con la actividad de la enfermedad evaluada por SLEDAI y los niveles elevados de los anticuerpos anti-Nu fueron característicos de la enfermedad activa;^{59,63,65-68,70} aunque también se han comunicado resultados que niegan la asociación de los anti-Nu con la actividad del LES.⁷¹ Los resultados de los estudios transversales muestran además que los anticuerpos anti-Nu se correlacionan con mayor fuerza con la actividad de la enfermedad que los anticuerpos anti-ADNdc, especialmente en pacientes negativos de anti-ADNdc.^{70,72,73}

Los estudios longitudinales sobre la utilidad clínica de los anticuerpos anti-Nu son escasos. Sus resultados, al igual que los de estudios transversales, son divergentes; mientras que algunos autores no encontraron correlación,^{64,74} otros han comunicado una correlación positiva de los anticuerpos anti-Nu con la actividad del LES.⁷⁵⁻⁷⁷ La superioridad de los anticuerpos anti-Nu en comparación con los anticuerpos anti-ADNdc para el seguimiento de la actividad del LES también ha sido evidente en algunos estudios longitudinales;^{75,77} mientras que otros le dan ventaja a los anticuerpos anti-ADNdc.³⁹

Factores como las características poblacionales y los métodos utilizados pueden influir en los resultados de los diferentes estudios sobre el valor clínico de los autoanticuerpos para el seguimiento del LES. La falta de uniformidad en los estudios realizados es una de las razones de que las conclusiones sobre el uso de los autoanticuerpos y su relación con la actividad del LES, de forma individual o combinada, debe ser investigado a fondo, mediante el diseño de estudios prospectivos, longitudinales y de gran escala.

Relación con la actividad renal

El control oportuno de la enfermedad renal es esencial para impedir la pérdida de la función renal y asegurar el pronóstico favorable de los pacientes con LES. El seguimiento estrecho de la actividad de la nefropatía lúpica es de carácter obligatorio y está dirigido a evaluar tanto la función renal, el análisis de orina, la microscopia urinaria y la proteinuria, como la serología autoinmune, referida tradicionalmente a los niveles de anticuerpos anti-ADNdc, y de las proteínas C3 y C4 del complemento; y, con menos frecuencia, la repetición de la biopsia renal.⁷⁸ La biopsia renal es el estándar de oro para evaluar el grado de actividad y cronicidad, pero es invasiva y su realización seriada es muy poco práctica para el seguimiento.

Los autoanticuerpos desempeñan un papel principal en la inducción de la inflamación glomerular, en especial los anti-ADNdc, que han sido incorporados en los sistemas de puntuación internacionales de la actividad renal del LES. Sin embargo, la sensibilidad y especificidad de los anticuerpos anti-ADNdc no son lo suficientemente altas para garantizar el seguimiento de la actividad renal, ni diferenciar entre actividad y daño renal en la nefritis lúpica, lo que ha conducido a la búsqueda de biomarcadores noveles, más específicos y predictivos de la actividad renal. Una de esas promesas son los anticuerpos anti-Nu, por su papel protagónico en la patogénesis de la nefritis lúpica, establecido recientemente.⁴⁷ Se ha demostrado una relación causal entre los anticuerpos anti-Nu y el desarrollo de la nefritis lúpica. La lesión glomerular comienza con la unión de los nucleosomas a las células endoteliales glomerulares, lo cual es seguido por la atracción de los anticuerpos anti-Nu, reacción que da lugar a los procesos inflamatorios en el glomérulo.⁷⁹

El papel patogénico de los anticuerpos anti-Nu en la nefritis lúpica ha sido demostrado en la clínica por su asociación con la lesión renal en pacientes con LES en varios estudios transversales,^{39,60,65,72,80} y longitudinales,^{73,81} pero su candidatura como biomarcador ideal de la nefritis lúpica aún no está segura por la fuerte oposición de los anticuerpos anti-ADNdc, los cuales se han desempeñado mejor al respecto en algunos estudios.^{76,81,82}

Recientemente han surgido evidencias acerca de la correlación positiva de los niveles de los anticuerpos anti-Nu con el índice de actividad histológica de la nefritis lúpica, pero no con el índice de cronicidad.⁸³ A pesar de la gran promesa que pueden ser los anticuerpos anti-Nu, se impone la cautela por la consideración de otros resultados que advierten su limitado valor en distinguir los pacientes con nefritis lúpica y sin ella, por su presentación indiscriminada en ambos grupos de pacientes.⁸⁴ El número aún reducido de estudios y la heterogeneidad de los resultados requiere que la relación entre los anticuerpos a-Nc y la actividad renal sea evaluada adicionalmente en estudios prospectivos multicéntricos.

ANTICUERPOS ANTI-ANTÍGENOS NUCLEARES EXTRAÍBLES (ENA)

Otros autoanticuerpos que abundan en los pacientes con LES son los que están dirigidos frente a las ribonucleoproteínas Ro/SSA, La/SSB, Sm y RNP, las cuales tienen la propiedad de ser extraíbles o solubles en soluciones salinas y se denominan *extractable nuclear antigens* (ENA). El antígeno Ro existe en 2 formas antigenicas de distinto peso molecular: la proteína de 52 kD (Ro52) y la de 60 kD (Ro60). La función celular de las proteínas Ro aún está en investigación; los datos obtenidos sostienen que el Ro52 es una ligasa E3, proteína inducible por el interferón (IFN) que funciona como un regulador negativo de la producción de

citocinas proinflamatorias.⁸⁵ La molécula Ro60 participa en la degradación del ARN defectuoso y a partir de estudios en modelos de animales se ha concluido que pudiera desempeñar un papel protector contra las respuestas autoinmunes.⁸⁶ El autoantígeno La es una fosfoproteína de 47 kD, la cual es un factor de terminación de la transcripción de la ARN polimerasa III. El nombre completo del antígeno RNP es el de U1 snRNP y es un complejo de ARN-proteínas que comprende 8 subunidades (U1-70kd, A, B'/B, C, D, E, F y G). Las proteínas B'/B, D, E, F, y G están reunidas en una partícula que es reactiva con el antisuero anti-Sm. El antisuero anti-RNP reconoce la partícula de U1-70kD, la U1-A y la U1-C.⁸⁷

No todos los pacientes con LES poseen niveles detectables de anticuerpos de especificidades anti-ENA y cuando se presentan pueden hacerlo de forma aislada o en combinación. Su presencia ayuda a establecer el diagnóstico, pero apenas se disponen evidencias a favor de que la especificidad o los niveles de los anticuerpos anti-ENA puedan reflejar la actividad del LES. Aunque el anti-Ro está asociado a diversas manifestaciones clínicas como trastornos cutáneos, hematológicos, neumonía intersticial y nefritis y el anti-La con enfermedad renal reducida,⁸⁵ los títulos de anti-Ro y anti-La aumentan más lentamente que los de los anticuerpos anti-ADNdc durante las recaídas y su cuantificación seriada para monitorear la evolución del LES es de escasa utilidad.⁸⁸ A diferencia del LES, se ha señalado que en el síndrome de Sjögren los títulos de los anticuerpos anti-La aumentan en las exacerbaciones clínicas.⁸⁹ Recientemente se ha comunicado que los pacientes con LES poseen una sub-especificidad de anticuerpos anti-Ro52 dirigida frente a un dominio funcional activo de la proteína Ro52 denominado RING, los cuales inhiben la capacidad funcional de la ligasa E3. La inhibición de la función de la ligasa E3 del Ro52 por los anticuerpos puede promover teóricamente la producción de citocinas pro-inflamatorias, incluyendo los interferones tipo 1 y conducir al incremento en la actividad de la enfermedad. Un grupo de investigación ha demostrado que la presencia de la sub-especificidad de anticuerpos anti-Ro52-RING estuvo asociada a una actividad mayor de la enfermedad en pacientes con LES, a diferencia del total de los anticuerpos anti-Ro52, pues contienen otras sub-especificidades no bloqueadoras de la actividad funcional de la molécula Ro52.⁹⁰

La presencia de los anticuerpos anti-Sm es uno de los criterios diagnósticos del LES^{12,13} por ser altamente específicos de esta enfermedad. Los anticuerpos anti-Sm pueden acompañarse de los anti-RNP porque ambas proteínas se asocian con RNA comunes en el espliceosoma. Los anticuerpos anti-Sm y los anti-RNP parecen ejercer efectos opuestos sobre la afección renal en el LES; mientras que los anti-Sm se asocian a la presencia de nefritis, los anti-RNP están asociados con una menor probabilidad de desarrollar nefritis.⁸⁷ Los títulos de los anticuerpos anti-Sm y anti-RNP pueden fluctuar en el curso del LES, pero carecen de valor predictivo de las recaídas.⁴¹ No obstante, existen comunicaciones acerca de la relación de los anticuerpos anti-Sm con las exacerbaciones neurológicas y con la actividad de la enfermedad del LES.⁹¹ Estudios posteriores, sin embargo, no han podido confirmar el papel de los anticuerpos anti-Sm como biomarcadores de la actividad del LES.⁸⁸

Una especificidad de autoanticuerpos, la anti-Scl-70, considerada exclusiva de la esclerosis sistémica, se ha encontrado en pacientes con LES en porcentajes considerables (25 %). Además, los niveles de los anticuerpos anti-Scl-70 se han correlacionado con la actividad de la enfermedad, la presencia de hipertensión pulmonar y nefritis.⁹² Estos resultados requieren confirmación adicional mediante estudios en otras cohortes de pacientes.

CONSIDERACIONES FINALES

Es sin duda un enorme reto identificar los biomarcadores de actividad de una enfermedad tan compleja clínicamente como el LES. En la práctica clínica de hoy los resultados de las determinaciones de los autoanticuerpos considerados como biomarcadores de actividad del LES deben ser interpretados de forma "personalizada" en cada paciente, en el contexto de su evolución y manifestaciones clínicas. Aunque los anticuerpos anti-nucleosoma y anti-C1q introducidos en la última década en los laboratorios clínicos reúnen cualidades para candidatos de marcadores de actividad, aún no han mostrado el valor diagnóstico y predictivo óptimos y no han podido desplazar los tradicionales anticuerpos anti-ADNdc. Por la naturaleza multifactorial del LES, la definición de un biomarcador único podría ser una ilusión. Se debe considerar al respecto que las poblaciones de autoanticuerpos son heterogéneas respecto a su función y se han obtenido evidencias de la presencia de autoanticuerpos protectores de la lesión autoinmune. Los avances en la tecnología genómica y proteómica obtenidos en los últimos años han abierto vías para descubrir una nueva generación de biomarcadores basada en enfoques más integrales y productivos que incluyen el análisis de genes, perfiles de transcripción, perfiles de autoanticuerpos, análisis de las vías de señales y expresión de citocinas y quimiocinas.⁹³ El concepto de biomarcador se pluralizará a panel de marcadores de actividad del LES, del cual se espera una gran utilidad no solo para los médicos clínicos, sino también para la investigación e industria farmacéutica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lopez R, Davidson JE, Beeby MD, Egger PJ, Isenberg DA. Lupus disease activity and the risk of subsequent organ damage and mortality in a large lupus cohort. *Rheumatology*. 2012;51:491-8.
2. Jung JY, Bae CB, Suh CH. Promising biomarkers for systemic lupus erythematosus. *Expert Opin Med Diagn*. 2013;7:601-13.
3. Romero-Diaz J, Isenberg D, Ramsey-Goldman R. Measures of adult systemic lupus erythematosus: updated version of British Isles Lupus Assessment Group (BILAG 2004), European Consensus Lupus Activity Measurements (ECLAM), Systemic Lupus ActivityMeasure, Revised (SLAM-R), Systemic Lupus Activity Questionnaire for Population Studies (SLAQ), Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000 (SLEDAI-2K), and Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index (SDI). *Arthritis Care Res*. 2011;63(Suppl 11):S37-46.
4. Furie RA, Petri MA, Wallace DJ, Ginzler EM, Merrill JT, Stohl W, et al. Novel evidence-based systemic lupus erythematosus responder index. *Arthritis Rheum*. 2009;61:1143-51.
5. Illei GG, Tackey E, Lapteva L, Lipsky PE. Biomarkers in systemic lupus erythematosus. II. Markers of disease activity. *Arthritis Rheum*. 2004;50:2048-65.
6. Liang MH, Simard JF, Costenbader K, Dore BT, Ward M, Fortin PR, et al. Methodologic issues in the validation of putative biomarkers and surrogate endpoints in treatment evaluation for systemic lupus erythematosus. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2009;9:108-12.

7. 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;34:501-37.
 8. Bruner BF, Guthridge JM, Lu R, Vidal G, Kelly JA, Robertson JM, et al. Comparison of autoantibody specificities between traditional and bead-based assays in a large, diverse collection of patients with systemic lupus erythematosus and family members. *Arthritis Rheum.* 2012;64:3677-86.
 9. Kavanaugh AF, Tomar R, Reveille J, Solomon DH, Homburger HA. Guidelines for clinical use of the antinuclear antibody test and tests for specific autoantibodies to nuclear antigens. American College of Pathologists. *Arch Pathol Lab Med.* 2000;124:71-81.
 10. Olsen NJ, Li Q-Z, Quan J, Wang L, Mutwally A, Karp DR. Autoantibody profiling to follow evolution of lupus syndromes. *Arthritis Res Ther.* 2012;14:R174.
 11. Rekvig OP, Puterman C, Casu C, Gao HX, Ghirardello A, Mortensen ES, et al. Autoantibodies in lupus: Culprits or passive bystanders? *Autoimmun Rev.* 2012;11:596-603.
 12. 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.
 13. Petri M, Orbai AM, Alarcon GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012;64:2677-86.
 14. McCarty GA, Rice JR, Bembe ML, Pisetsky DS. Independent expression of autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 1982;9:691-5.
 15. Mortensen ES, Rekvig OP. Nephritogenic potential of anti-ADN antibodies against necrotic nucleosomes. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20:696-704.
 16. Akhter E, Burlingame R, Seaman A, Magder L, Petri M. Anti-C1q antibodies have higher correlation with flares of lupus nephritis than other serum markers. *Lupus.* 2011;20:1267-74.
 17. Moroni G, Radice A, Giammarresi G, Quaglini S, Gallelli B, Leoni A, et al. Are laboratory tests useful for monitoring the activity of lupus nephritis? A 6-year prospective study in a cohort of 228 patients with lupus nephritis. *Ann Rheum Dis.* 2009;68:234-7.
 18. Yin Y, Wu X, Shan G, Zhang X. Diagnostic value of serum anti-C1q antibodies in patients with lupus nephritis: a meta-analysis. *Lupus.* 2012;21:1088-97.
 19. Buneva VN, Krasnorutskii MA, Nevinsky GA. Natural antibodies to nucleic acids. *Biochemistry (Mosc.).* 2013;78:127-43.
 20. Shoenfeld Y, Toubi E. Protective autoantibodies: Role in homeostasis, clinical importance, and therapeutic potential. *Arthritis Rheum.* 2005;52:2599-606.
-

21. Abdulahad DA, Westra J, Blizet J, Limburg PC, Kallenberg CG, Bijl M. High mobility group box 1 (HMGB1) and anti-HMGB1antibodies and their relation to disease characteristics in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther.* 2011;13:R71.
 22. Xu J, Zhang X, Monestier M, Esmon NL, Esmon CT. Extracellular histones are mediators of death through TLR2 and TLR4 in mouse fatal liver injury. *J Immunol.* 2011;187:2626-31.
 23. Mahendra A, Sharma M, Rao DN, Peyron I, Planchais C, Dimitrov JD, et al. Antibody-mediated catalysis: induction and therapeutic relevance. *Autoimmun Rev.* 2013;12:648-52.
 24. Furtado J, Isenberg DA. B cell elimination in systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol.* 2013;146:90-103.
 25. Doolittle WF. Is junk DNA bunk? A critique of ENCODE. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2013;110:5294-300.
 26. Pisetsky DS. Antinuclear antibodies in rheumatic disease: a proposal for a function-based classification. *Scand J Immunol.* 2012;76:223-8.
 27. Dragon-Durey MA, Blanc C, Marianozzi MC, van Schaarenburg RA, Trouw LA. Autoantibodies against complement components and functional consequences. *Mol Immunol.* 2013;56:213-21.
 28. Arbuckle MR, McClain MT, Rubertone MV, Scofield RH, Dennis GJ, James JA, et al. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 2003;349:1526-33.
 29. Dorner T, Heimbacher C, Farner NL, Lipsky PE. Enhanced mutational activity of V κ gene rearrangements in systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol.* 1999;92:188-96.
 30. Emlen W, O'Neill L. Clinical significance of antinuclear antibodies: comparison of detection with immunofluorescence and enzyme-linked immunosorbent assays. *Arthritis Rheum.* 1997;40:1612-8.
 31. Aviña-Zubieta JA, Galindo-Rodríguez G, Kwan-Yeung L, Davis P, Russell AS. Clinical evaluation of various selected ELISA kits for the detection of anti-DNA antibodies. *Lupus.* 1995;4:370-4.
 32. Sabbaga J, Pankewycz OG, Lufft V, Schwartz RS, Madaio MP. Cross-reactivity distinguishes serum and nephritogenic anti-DNA antibodies in human lupus from their natural counterparts in normal serum. *J Autoimmun.* 1990;3:215-35.
 33. Reveille JD. Predictive value of autoantibodies for activity of systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2004;13:290-7.
 34. Smeenk R, Brinkman K, van den Brink H, Swaak T. Antibodies to DNA in patients with systemic lupus erythematosus. Their role in the diagnosis, the follow-up and the pathogenesis of the disease. *Clin Rheumatol.* 1990;9(Suppl 1):100-10.
 35. Ter Borg EJ, Horst G, Hummel EJ, Limburg PC, Kallenberg CGM. Measurement of increases in anti-double-strandedDNA antibody levels as a predictor of disease
-

- exacerbation in systemic lupus erythematosus: a long-term, prospective study. *Arthritis Rheum.* 1990; 33:634-43.
36. Ravirajan CT, Rowse L, MacGowan JR, 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 [Oxford].* 2001; 40:1405-12.
37. Gladman DD, Hirani N, Ibanez D, Urowitz MB. Clinically active serologically quiescent systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2003; 30:1960-2.
38. Matrat A, Veysseire-Balter C, Trolliet P, Villar E, Dijoud F, J Bienvenu J, et al. Simultaneous detection of anti-C1q and anti-double stranded DNA autoantibodies in lupus nephritis: predictive value for renal flares. *Lupus.* 2011; 20:28-34.
39. Andrejevic S, Jeremic I, Sefik-Bukilica M, Nikolic M, Stojimirovic B, Bonaci-Nikolic B. Immunoserological parameters in SLE: high-avidity anti-dsDNA detected by ELISA are the most closely associated with the disease activity *Clin Rheumatol.* 2013; 32:1619-26.
40. van den Berg L, Nossent H, Rekvig O. Prior anti-dsDNA antibody status does not predict later disease manifestations in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol.* 2006; 25:347-52.
41. Egner W. The use of laboratory tests in the diagnosis of SLE. *J Clin Pathol.* 2000; 53: 424-32.
42. Villalta D, Bizzaro N, Bassi N, Zen M, Gatto M, Ghirardello A, et al. Anti-dsDNA antibody isotypes in systemic lupus erythematosus: IgA in addition to IgG antidsDNA help to identify glomerulonephritis and active disease. *PLoS ONE.* 2013;8(8):e71458. doi: 10.1371/journal.pone.0071458.
43. Izui S, Lambert PH, Miescher PA. In vitro demonstration of a particular affinity of glomerular basement membrane and collagen for DNA: a possible basis for a local formation of DNA-anti-DNA complexes in systemic lupus erythematosus. *J Exp Med.* 1976; 144:428-43.
44. D'Andrea DM, Coupaye Gerard B, Kleyman TR, Foster MH, Madaio MP. Lupus autoantibodies interact directly with distinct glomerular and vascular cell surface antigens. *Kidney Int.* 1996; 49:1214-21.
45. Winfield JB, Faiferman I, Koffler D. Avidity of anti-DNA antibodies in serum and IgG glomerular eluates from patients with systemic lupus erythematosus: association of high avidity antinative DNA antibody with glomerulonephritis. *J Clin Invest.* 1977; 59: 90-6.
46. Izui S, Lambert PH, Miescher PA. Failure to detect circulating DNA-anti-DNA complexes by four radioimmunological methods in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol.* 1977; 30:384-92.
47. van der Vlag J, Berden JH. Lupus nephritis: role of antinucleosome autoantibodies. *Semin Nephrol.* 2011; 31:376-89.

48. Muñoz LE, Lauber K, Schiller M, Manfredi AA, Herrmann M. The role of defective clearance of apoptotic cells in systemic autoimmunity. *Nat Rev Rheumatol*. 2010;6:280-9.
49. Sato N, Ohsawa I, Nagamachi S, Ishii M, Kusaba G, Inoshita H, et al. Significance of glomerular activation of the alternative pathway and lectin pathway in lupus nephritis. *Lupus*. 2011;20:1378-86.
50. Doria A, Gatto M. Nephritogenic-antinephritogenic antibody network in lupus glomerulonephritis. *Lupus*. 2012;21:1492-6.
51. Bassi N, Ghirardello A, Blank M, Zampieri S, Sarzi-Puttini P, Mantovani A, et al. IgG anti-pentraxin 3 antibodies in systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2010;69:1704-10.
52. Witte T. IgM antibodies against dsDNA in SLE. *Clin Rev Allerg Immunol*. 2008;34:345-7.
53. Yung S, Chan TM. Autoantibodies and Resident Renal Cells in the Pathogenesis of Lupus Nephritis: Getting to Know the Unknown. *Clin Dev Immunol*. 2012;2012:139365. doi:10.1155/2012/139365
54. Yung S, Cheung KF, Zhang Q, Chan TM. Anti-dsDNA antibodies bind to mesangial annexin II in lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21:1912-27.
55. Nezlin R, Alarcon-Segovia D, Shoenfeld Y. Immunochemical determination in immune complexes present in the circulation of patients with systemic lupus erythematosus. *J Autoimmun*. 1998;11:489-93.
56. Gómez-Puerta JA, Burlingame RW, Cervera R. Antichromatin (anti-nucleosome) antibodies: diagnostic and clinical value. *Autoimmun Rev*. 2008;7:606-11.
57. Burlingame RW. The clinical utility of antihistone antibodies. Autoantibodies reactive with chromatin in systemic lupus erythematosus and drug induced lupus. *Clin Lab Med*. 1997;17:367-76.
58. Gómez-Puerta JA, Molina JF, Anaya JM, Molina J. Clinical significance of anti-chromatin antibodies in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2001;10(Suppl 1):S73.
59. Amoura Z, Koutouzov S, Chabre H, Cacoub P, Amoura I, Musset L, et al. Presence of antinucleosome autoantibodies in a restricted set of connective tissue diseases. Antinucleosome antibodies of the IgG3 subclass are markers of renal pathogenicity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2000;43:76-84.
60. Cervera R, Viñas O, Ramos-Casals M, Font J, Garcia-Carrasco M, Siso A, et al. Antichromatin antibodies in systemic lupus erythematosus: a useful marker for lupus nephropathy. *Ann Rheum Dis*. 2003;62:431-4.
61. Schett G, Smolen J, Zimmermann C, Hiesberger H, Hoefler E, Fournel S, et al. The autoimmune response to chromatin antigens in systemic lupus erythematosus: autoantibodies against histone H1 are highly specific markers for SLE associated with increased disease activity. *Lupus*. 2002;11:704-15.

62. Cairns PA, McMillan SA, Crockard AD, Meenagh GK, Duffy EM, Armstrong DJ, et al. Antinucleosome antibodies in the diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2003;62:272-3.
63. Min DJ, Kim SJ, Park SH, 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;20:13-8.
64. Ghirardello A, Doria A, Zampieri S, Tarricone E, Tozzoli R, Villalta D, et al. Antinucleosome antibodies in SLE: a two-year follow-up study of 101 patients. *J Autoimmun.* 2004;22:235-40.
65. Simon JA, Cabiedes J, Ortiz E, Alcocer-Varela J, Sanchez-Guerrero J. Antinucleosome antibodies in patients with systemic lupus erythematosus of recent onset. Potential utility as a diagnostic tool and disease activity marker. *Rheumatology.* 2004;43:220-4.
66. Braun A, Sis J, Max R, Mueller K, Fiehn C, Zeier M, et al. Anti-chromatin and anti-C1q antibodies in systemic lupus erythematosus compared to other systemic autoimmune diseases. *Scand J Rheumatol.* 2007;36:291-8.
67. Tikly M, Gould T, Wadee AA, van der Westhuizen E, Mokgethwa BB. Clinical and serological correlates of antinucleosome antibodies in South Africans with systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol.* 2007;26:2121-5.
68. Su Y, Jia RL, Han L, Li ZG. Role of anti-nucleosome antibody in the diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol.* 2007;122:115-20.
69. Campos LMA, Kiss MHB, Scheinberg MA, Mangueira CLP, Silva CA. Antinucleosome antibodies in patients with juvenile systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2006;15:496-500.
70. Suleiman S, Kamaliah D, Nadeem A, Naing NN, Che Maraina CH. Anti-nucleosome antibodies as a disease activity marker in patients with systemic lupus erythematosus. *Intern J Rheum Dis.* 2009;12:100-6.
71. Quattrocchi P, Barrile A, Bonanno D, Giannetto L, Patafi M, Tigano V, et al. The role of anti-nucleosome antibodies in systemic lupus erythematosus. Results of a study of patients with systemic lupus erythematosus and other connective tissue diseases. *Reumatismo.* 2005;57:109-13.
72. Souza A, da Silva LM, Oliveira FR, Roselino AMF, Louzada-Junior P. Anti-nucleosome and anti-chromatin antibodies are present in active systemic lupus erythematosus but not in the cutaneous form of the disease. *Lupus.* 2009;18:223-9.
73. Gutiérrez-Adrianzén OA, Koutouzov S, Mota RM, das Chagas Medeiros MM, Bach JF, de Holanda Campos H. Diagnostic value of anti-nucleosome antibodies in the assessment of disease activity of systemic lupus erythematosus: a prospective study comparing anti-nucleosome with anti-dsDNA antibodies. *J Rheumatol.* 2006;33:1538-44.
74. Grootscholten C, Dieker JW, McGrath FD, Roos A, Derkzen RH, van der Vlag J, et al. A prospective study of anti-chromatin and anti-C1q autoantibodies in patients

- with proliferative lupus nephritis treated with cyclophosphamide pulses or azathioprine/methylprednisolone. *Ann Rheum Dis.* 2007;66:693-6.
75. Ng KP, Masson JJ, Rahman A, Isenberg DA. Association of antinucleosome antibodies with disease flare in serologically active clinically quiescent patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2006;55:900-4.
76. Kim HA, Jeon JY, Choi GS, Sung JM, Kim MJ, Yun JM, et al. The antichromatin antibodies can be useful as a diagnostic tool and disease activity marker of systemic lupus erythematosus in Koreans. *Clin Immunol.* 2008;128:277-83.
77. Biesen R, Dähnrich C, Rosemann A, Barkhudarova F, Rose T, Jakob O, et al. Anti-dsDNA-NcX ELISA: dsDNA-loaded nucleosomes improve diagnosis and monitoring of disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthr Res Ther.* 2011;13: R26.
78. Masood S, Jayne D, Karim Y. Beyond immunosuppression - challenges in the clinical management of lupus nephritis. *Lupus.* 2009;18:106-15.
79. O'Flynn J, Flierman R, van der Pol P, Rops A, Satchell SC, Mathieson PW, et al. Nucleosomes and C1q bound to glomerular endothelial cells serve as targets for autoantibodies and determine complement activation. *Mol Immunol.* 2011;49:75-83.
80. Kiss E, Lakos G, Szegedi G, Poor G, Szodoray P. Anti-nucleosome antibody, a reliable indicator for lupus nephritis. *Autoimmunity.* 2009;42:393-8.
81. Manson JJ, Ma A, Rogers P, Mason LJ, Berden JH, van der Vlag, Jet al. Relationship between anti-dsDNA, anti-nucleosome and anti-alpha-actinin antibodies and markers of renal disease in patients with lupus nephritis: a prospective longitudinal study. *Arthritis Res Ther.* 2009;11:R154.
82. Mok CC, Ho LY, LeungHW, Wong LG. Performance of anti-C1q, antinucleosome and anti-dsDNA antibodies for detecting concurrent disease activity of systemic lupus erythematosus. *Trans Res.* 2010;156: 320-5.
83. Hung WT, Chen YM, Lan JL, Chen HH, Chen YH, Chen DY, et al. Antinucleosome antibodies as a potential biomarker for the evaluation of renal pathological activity in patients with proliferative lupus nephritis. *Lupus.* 2011;20:1404-10.
84. Bigler C, Lopez-Trascasa M, Potlukova E, Moll S, Danner D, Schaller M, et al. Antinucleosome antibodies as a marker of active proliferative lupus nephritis. *Am J Kidney Dis.* 2008;51:624-9.
85. Yoshimi R, Ueda A, Ozato K, Ishigatsubo Y. Clinical and pathological roles of Ro/SSA autoantibody system. *Clin Dev Immunol.* 2012;2012:606195. doi:10.1155/2012/606195
86. Xue D, Shi H, Smith JD, Chen X, Noe DA, Cedervall T, et al. A lupus-like syndrome develops in mice lacking the Ro 60-kDa protein, a major lupus autoantigen. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2003;100:7503-8.
87. Migliorini P, Baldini C, Rocchi V, Bombardieri S. Anti-Sm and anti-RNP antibodies. *Autoimmunity.* 2005;38:47-54.

88. Agarwal S, Harper J, Kiely PDW. Concentration of antibodies to extractable nuclear antigens and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2009;18:407-12.
89. Kurien BT, Scofield RH. Autoantibody Determination in the Diagnosis of Systemic Lupus Erythematosus. *Scand J Immunol*. 2006;64:227-35.
90. Kvarnstrom M, Dzikaite-Ottosson V, Ottosson L, Gustafsson JT, Gunnarsson I, Svenungsson E et al. Autoantibodies to the functionally active RING-domain of Ro52/SSA are associated with disease activity in patients with lupus. *Lupus*. 2013;22:477-85.
91. Martinez-Cordero E, Martinez-Miranda E, Negrete-Garcia MC, Padilla A, Aguilar Leon DE. Anti-dsDNA and Sm autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol*. 1992;11:341-5.
92. Gussin HA, Ignat GP, Varga J, Teodorescu M. Anti-topoisomerase I (anti-Scl-70) antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2001;44:376-83.
93. Liu CC, Kao AH, Manzi S, Ahearn JM. Biomarkers in systemic lupus erythematosus: challenges and prospects for the future. *Ther Adv Musculoskel Dis*. 2013;5:210-33.

Recibido: 18 de febrero de 2014.

Aceptado: 9 de abril de 2014

Dra. *Elena Kokuina*. Hospital Clínicoquirúrgico "Hermanos Ameijeiras". San Lázaro No. 701 entre Belascoaín y Marqués González, Centro Habana, La Habana, Cuba. CP 10300. inmunologia@hha.sld.cu