

IMPORTANCIA DEL ANTICUERPO ANTI RIBOSOMAL P EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

Miranda, Nadia Soledad¹

Rama, María Elena²

Pereyra, Beatriz María Inés³

Cassinerio, Adriana Isabel⁴

1Laboratorio de Inmunología – Hospital de Niños de la Santísima Trinidad – Córdoba –
Argentina

2Servicio de Reumatología – Hospital de Niños de la Santísima Trinidad – Córdoba – Argentina

3Laboratorio de Inmunología – Hospital de Niños de la Santísima Trinidad – Córdoba –
Argentina

4Laboratorio de Inmunología – Hospital de Niños de la Santísima Trinidad – Córdoba –
Argentina

Correspondencia: Nadia Soledad Miranda. Laboratorio de Inmunología, Hospital de Niños de la Santísima Trinidad, Bajada Pucará y Av. Ferroviarios, Córdoba (CP 5000), Argentina. Tel: 0351-4586475 – nadmir@hotmail.com

RESUMEN

Introducción. Las enfermedades autoinmunes se caracterizan por la producción de anticuerpos (Acs) contra antígenos propios. El lupus eritematoso sistémico (LES) es una patología rara en los niños, sin embargo entre un 15-17% de los casos se manifiestan en la infancia. Dentro de los auto Acs característicos, como Acs anti núcleo citoplasmáticos (*ANA*, por sus siglas en inglés), Acs anti ácido desoxirribonucleico (*DNA*, por sus siglas en inglés) y Acs anti *Smith* (Sm), se menciona con gran importancia al anticuerpo (Ac) anti Ribosomal P (Rib-P), incluso asociándolo a diversas manifestaciones clínicas de la enfermedad. **Objetivos.** Evaluar la frecuencia de seropositividad de Acs anti Rib-P en pacientes pediátricos, establecer valores de sensibilidad y especificidad de Acs anti Rib-P en pacientes pediátricos con LES e investigar la posible relación entre determinadas características clínicas de LES y la presencia de Acs anti Rib-P. **Pacientes:** Se recolectaron datos de historias clínicas de 28 pacientes con Diagnóstico (Dx) de LES y de 15 pacientes con Dx de otras patologías autoinmunes (OPA). **Resultados:** se observó una frecuencia del 53,6 % de Ac anti Rib-P en pacientes pediátricos con Dx de LES. La presencia del Ac anti Rib-P no estaría asociada con las características clínicas y parámetros de laboratorio analizados, tales como presencia de anemia, disminución del recuento plaquetario, funcionalidad renal y hepática, eritrosedimentación, disminución de las fracciones C3 y C4 del complemento y presencia de Ac anti SSA60 y Ac anti SSA52. Tanto la sensibilidad (53,6%) y la especificidad (100%) del Ac anti Rib-P superaron los valores calculados para el Ac anti Sm (35,7% y 93,3%). **Conclusión.** No encontramos asociación entre la presencia del Ac anti Rib-P y síntomas clínicos ni pruebas de laboratorio analizadas. Sin embargo, la detección de Ac anti Rib-P estuvo exclusivamente asociado a pacientes pediátricos con Dx de LES.

Palabras clave: Anticuerpos, Ribosomal P, Lupus eritematoso sistémico, Niños.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades autoinmunes se caracterizan por la producción de anticuerpos (Acs) contra antígenos propios. Se dividen en dos grupos: las específicas, circunscriptas a un órgano en particular, y las sistémicas, dentro de las cuales se incluye la artritis reumatoide y el lupus eritematoso sistémico (LES) (1). Estas patologías son más comunes en pacientes adultos, afectando principalmente a mujeres (1,2). En los niños son poco frecuentes pero potencialmente graves porque causan incapacidades a largo plazo, ya sea por alteración o pérdida de función de un órgano o sistema (3) y/o también por efectos adversos de la medicación (1,4,5). Con respecto a su patogenia, se plantean factores genéticos, ambientales, químicos (fármacos) y biológicos (infecciones) (1,4-6).

Como determinación de *screening* en la búsqueda de patologías autoinmunes se utiliza la determinación de Acs anti núcleo citoplasmáticos (*ANA*, por sus siglas en inglés). Si éstos resultan positivos (+), se debe establecer su especificidad antigénica, principalmente si son dirigidos contra ácido desoxirribonucleico (*DNA*, por sus siglas en inglés) u otros antígenos extraíbles del núcleo (*ENA*, por sus siglas en inglés) (7,8). Los Acs anti *ENA* se los utiliza generalmente para contribuir al diagnóstico de varias enfermedades autoinmunes, ya que algunas de ellas tendrían fuerte asociación con la presencia de alguno de estos Acs en particular (9). La presencia de ciertos Acs anti *ENA* es relevante para el diagnóstico (Dx) de LES, otros auto Acs se asocian con las manifestaciones clínicas, pronóstico y/o actividad de la enfermedad (10).

Se conoce que un resultado de *ANA* (+) pueden detectarse también en ausencia de enfermedad autoinmune, como consecuencia de procesos infecciosos, terapias con drogas o procesos hematológicos y en alrededor del 5% de niños sanos (11). Otros autores mencionan que la prueba de *ANA* puede ser (+) hasta en un 33% de niños sanos, siendo este porcentaje mayor en pacientes adultos (12).

El LES es una patología autoinmune, crónica, multi sistémica y auto inflamatoria que afecta a distintos órganos del cuerpo, incluyendo riñones, corazón, pulmones y sistema nervioso central (12,13). El LES se caracteriza por la producción de auto Acs dirigidos contra diferentes antígenos nucleares y citoplasmáticos (10). Auto Acs específicos pueden presentarse años antes de la aparición de la enfermedad, y en algunas condiciones, los análisis serológicos pueden proveer información importante para predecir el curso clínico y/o complicaciones relacionadas a la afección (7,14).

El LES es una patología rara en los niños, sin embargo entre un 15 a 17% de los casos puede presentarse durante la infancia (12,15,16).

Para el Dx de LES, tanto los Ac anti *DNA doble cadena* (*dsDNA*, por sus siglas en inglés) como los Ac anti *Smith* (*Sm*) son considerados específicos, ya que ambos forman parte de los criterios de clasificación inmunológica según el Colegio Americano de Reumatología (ACR, por sus siglas en inglés) (17). Además, los Acs anti *dsDNA* se utilizan habitualmente en el seguimiento del paciente para evaluar la actividad de la enfermedad (18,19).

En la determinación de Acs anti *ENA* generalmente se investigan Acs anti SSA (60 y 52 kDa), anti SSB, anti *Sm*, anti complejo *Smith* y Ribonucleoproteínas (*Sm/RNP*), anti escleroderma 70 (*Sci70*), anti histidil-tRNA sintetasa (*Jo1*), anti proteína B del centrómero (*CENP-B*) y anti ribosomal P (*Rib-P*).

Los auto antígenos *Rib-P* consisten en tres componentes proteicos de la subunidad ribosomal 60S (mayor), designados P0 (38kDa), P1 (19kDa) y P2 (17kDa). Éstos forman un complejo pentamérico compuesto por una copia de P0, dos copias de P1 y dos copias de P2. Dicho complejo interactúa con la molécula de 28S *rRNA* formando un dominio GTPasa, que se activa durante la etapa de elongación en la traducción de proteínas (20). El epítipo más inmunoreactivo de los antígenos ribosomales está localizado en el extremo carboxi terminal, consiste en 22 aminoácidos con un dominio altamente conservado compartido por las 3 proteínas ribosomales (21). Los Acs anti *Rib-P* son capaces de unirse y penetrar algunas células, unirse a proteínas ribosomales, bloquear la síntesis de proteínas, inducir cambios apoptóticos e inhibir la secreción de citoquinas específicas (14,19,22,23).

Los Acs anti *Rib-P* se presentan con mayor prevalencia en pacientes con LES (10-40%) en comparación con sujetos normales y con pacientes afectados por otras enfermedades autoinmunes (14,22,24,25). Llamativamente, se ha detectado el Ac anti *Rib-P* en alrededor de un 10% de pacientes diagnosticados con LES (de acuerdo a criterios de ACR), que presentan pruebas negativas para Acs anti *dsDNA*, Acs anti *Sm* o Acs anti cardiolipinas. Estos hallazgos enfatizan el potencial rol del Ac anti *Rib-P* como herramienta para el Dx de LES (18,21,26).

Además, la presencia de Acs anti *Rib P* fue principalmente demostrada en pacientes con LES durante la fase activa de la enfermedad, con lo cual podría ser de utilidad como un marcador de actividad de la patología (20,24,26,27). También se observó la presencia de Ac anti *Rib-P* asociado a LES neuropsiquiátrico, desórdenes renales, hepáticos, rash malar, fotosensibilidad, pero esto es aun controversial (10,18,21,24,27).

La presencia de Anti *Rib-P* en pacientes con LES ha sido reportada al inicio de la patología a edad temprana, afectando a múltiples órganos, y asociándolo a un curso severo de la enfermedad (10,27). Asimismo, los Acs anti *Rib-P* son de mayor prevalencia en LES juvenil en comparación con LES que afecta a la población adulta (2,10,21,24,25,27,28). Los pacientes pediátricos con LES por lo general se presentan con afecciones más agudas y severas a diferencia de lo que ocurre con los pacientes adultos incluyendo elevada frecuencia de nefritis lúpica al inicio de la enfermedad y siendo ésta una de las causas primarias de morbilidad y mortalidad asociada al LES pediátrico (2,16).

Los **objetivos** de este estudio son evaluar la frecuencia de seropositividad de Acs anti *Rib-P* en pacientes pediátricos, establecer valores de sensibilidad y especificidad de Acs anti *Rib-P* en pacientes pediátricos con LES e investigar la posible relación entre determinadas características clínicas de LES y la presencia de Acs anti *Rib-P*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestra y Tipo de Estudio

En el presente estudio retrospectivo, transversal y descriptivo, se analizaron pacientes que asistieron al Hospital de Niños de la Santísima Trinidad (Córdoba, Argentina) entre el año 2007 y 2015; diagnosticados con LES según criterios de ACR y pacientes con otras patologías autoinmunes (OPA), dentro de ellas se encontraban pacientes con Dx de hepatitis autoinmune (HAI), artritis idiopática juvenil, dermatomiositis, síndrome de Sjögren, enfermedad mixta del tejido conectivo, púrpura trombocitopénica autoinmune y vasculitis. Los pacientes tenían edades comprendidas entre 4 y 15 años en los dos grupos. El grupo con diagnóstico de LES estaba constituido por 28 pacientes y el grupo con OPA por 15 pacientes. Se recolectaron datos de auto Acs presentes en cada uno de ellos y se revisaron historias clínicas a los fines de obtener información sobre síntomas, signos clínicos y parámetros de laboratorio que presentaban los pacientes al momento del Dx. Se obtuvo aprobación de la Comisión Científica dependiente del Comité Interdisciplinario de Capacitación, Docencia e Investigación del Hospital, y al ser un estudio retrospectivo no se requirió consentimiento informado de los pacientes.

Métodos

La determinación de los Acs anti *ENA* se efectuó mediante la técnica de *LIA* (*Linear Immuno Assay*), utilizando el kit comercial *ANA 9 line* (ORGENTEC, Alemania). La determinación de Acs anti *DNA* se realizó por Inmunofluorescencia Indirecta (IFI) en improntas de *Crithidia Luciliae* (ORGENTEC, Alemania), y la determinación de *ANA* se realizó mediante IFI en improntas de células HEp-2 (BION, USA) y/o improntas de células HEp- 2000 (INMUNOCONCEPTS, USA).

Entre los parámetros de laboratorio y manifestaciones clínicas que se analizaron se incluyen:

- ✓ Acs anti Rib-P.
- ✓ Acs anti *DNA*.
- ✓ Acs anti *Sm*.
- ✓ Anemia.
- ✓ Alteración de la función renal.
- ✓ Sedimento anormal de orina.
- ✓ Fotosensibilidad.
- ✓ Caída del cabello.
- ✓ Eritrema/rash malar.
- ✓ Eritrosedimentación aumentada.
- ✓ Plaquetopenia.

- ✓ Función hepática alterada.
- ✓ Úlceras.
- ✓ Compromiso del sistema nervioso central.
- ✓ Disminución de fracción C3 del complemento.
- ✓ Disminución de fracción C4 del complemento.
- ✓ Artritis/artralgias.
- ✓ Presencia de Acs anti SSA60.
- ✓ Presencia de Acs anti SSA52.

Análisis Estadístico

Los datos fueron analizados con el programa estadístico IBM SPSS *Statistics*23. A los fines de analizar asociación entre la presencia de Acs anti Rib-P y manifestaciones clínicas se utilizó el test de Chi cuadrado o prueba exacta de *Fisher* según correspondía. Se diseñaron tablas de contingencia 2x2 para el cálculo de sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) con sus respectivos intervalos de confianza del 95%. Se consideró estadísticamente significativo un $p < 0,05$.

RESULTADOS

Se observó que dentro del grupo de pacientes con LES, la edad a la cual con mayor frecuencia se realiza el Dx es a los 14 años.

Dentro de los 28 pacientes con Dx de LES, 15 (53,6%) de ellos presentaron Acs anti Rib-P al momento del Dx.

Evaluando la sensibilidad y especificidad de Acs anti *DNA*, Acs anti *Sm* y Acs anti Rib-P en pacientes pediátricos, se encontró que las mismas fueron del 65,4% y 100%; 35,7% y 93,3%; y 53,6% y 100% respectivamente (Grafico I). Se obtuvieron además, datos de VPP y VPN para los mismos Acs (Tabla 1).

Grafico I. Sensibilidad y especificidad de los auto Acs estudiados.

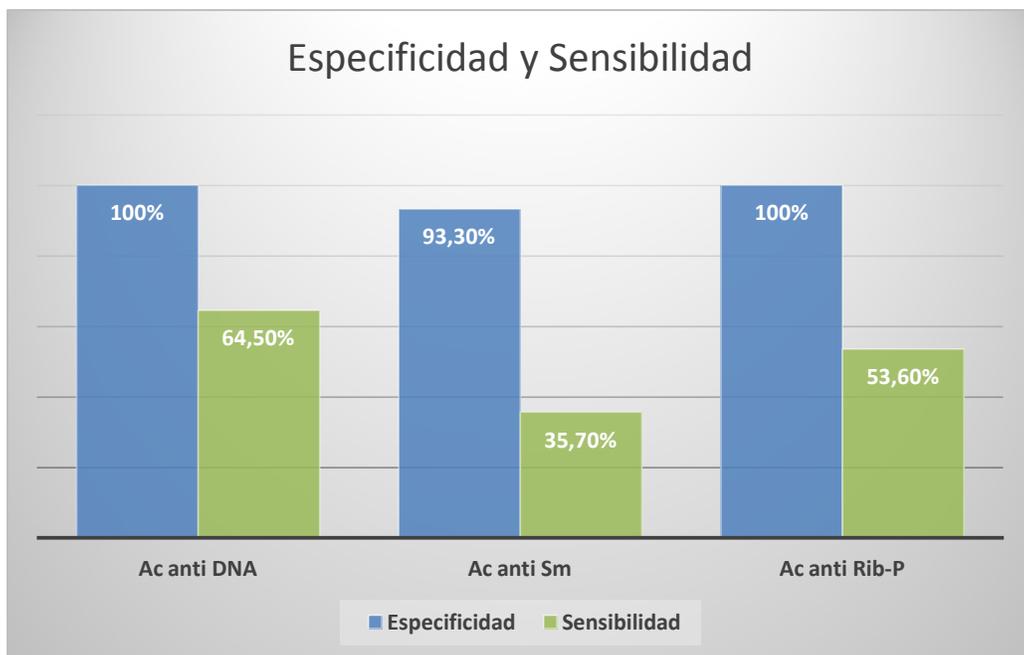


Tabla 1. Valor predictivo positivo (VPP) y valor predictivo negativo (VPN) para Ac anti *DNA*, Ac anti *Sm* y Ac anti Rib-P.

	Ac anti <i>DNA</i>	Ac anti <i>Sm</i>	Ac anti RibP
VPP	100%	90,9%	100%
VPN	55,0%	43,8%	53,6%

En el presente estudio encontramos que la presencia de Acs anti Rib-P no estaría asociada a ninguna de las manifestaciones clínicas y parámetros de laboratorio analizados, hallándose en todas las comparaciones un $p > 0,05$.

Si bien no se hallaron valores estadísticamente significativos que lo confirmen, encontramos una disminución de la fracción C4 del complemento en el 60,0 % (9/15) de pacientes con presencia de Acs anti Rib-P. En el 53,3% (8/15) de los pacientes se encontró alteración de la función renal, y un 33,3 % (5/15) presentó anemia y eritema/rash malar. Ningún

paciente con Acs anti Rib-P positivo presentó sedimento anormal de orina, fotosensibilidad, ni artritis/artralgias.

DISCUSIÓN

Existen diversas publicaciones que mencionan cierta relación entre alguna de las características clínicas y/o parámetros de laboratorio con la presencia del Ac anti Rib-P en pacientes con LES, pero hay escasa información de lo que sucede en pacientes pediátricos (11). Las características que planteamos estudiar surgieron a partir de una recopilación de lo que se menciona en la bibliografía citada.

En la población pediátrica estudiada no podemos afirmar que haya algún tipo de asociación entre la presencia de Acs anti Rib-P con el desarrollo de alguna sintomatología específica y/o parámetro de laboratorio analizado. Por lo tanto, no podríamos esperar que la aparición repentina del Ac anti Rib-P en pacientes con LES pueda llegar a desfavorecer una condición o estar asociado a la afección de algún órgano o sistema en particular, aparentemente sería independiente de ello.

En el presente estudio, el Ac anti Rib-P fue encontrado positivo sólo en pacientes con LES, por lo que demuestra tener alta especificidad aunque carece de sensibilidad. Sin embargo, tanto la especificidad como la sensibilidad del Ac anti Rib-P para LES, fueron mayores que las obtenidas para el Ac anti *Sm*. Esto es debido a que en el grupo de pacientes con OPA, un paciente con HAI presentó Ac anti *Sm* positivo.

Del total de pacientes con Acs anti Rib-P positivos por la técnica de *LIA*, sólo uno pudo ser apreciado por IFI como patrón citoplasmático característico de este Ac, lo que refleja la baja sensibilidad de la técnica de IFI para su detección.

Nuestros resultados coinciden con los de algunos autores en que la determinación del Ac anti Rib-P contribuiría al Dx de LES dada su alta especificidad, y podría ser tenido en cuenta dentro de los criterios de Dx inmunológico para la enfermedad (10,20,24). Además, algunas publicaciones mencionan la posibilidad de combinar la determinación de Acs anti Rib-P junto con Acs anti *DNA* y Acs anti *Sm*, lo que llevaría a favorecer y mejorar la sensibilidad diagnóstica para LES (25,26).

Cabe mencionar que la detección del Ac anti Rib-P en los distintos centros de análisis se realiza por diferentes métodos, y la falta de estandarización de estas pruebas sería un obstáculo clave a sortear ya que no permite efectuar comparaciones válidas entre los estudios. Sería sumamente necesario unificar el uso de un método en particular o alguna combinación entre ellos, lo que permitiría determinar la especificidad y sensibilidad del Ac anti Rib-P y su verdadero rol en LES (22).

CONCLUSIÓN

En base a nuestro estudio, no podemos concluir que haya asociación entre la presencia del Ac anti Rib-P y alguna de las manifestaciones, signos clínicos o parámetros de laboratorio analizados. Sin embargo, sorprende llamativamente que el Ac anti Rib-P haya sido detectado y asociado específicamente a pacientes pediátricos con LES. Si bien varios autores proponen al Ac anti Rib-P para ser tenido en cuenta dentro de los criterios de Dx inmunológico de esta enfermedad, se requieren más estudios que confirmen este hallazgo.

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Hospital Universitario Salamanca.
<https://www.aebm.org/jornadas/autoinmunidad/2.%20ENFERMEDADES%20AUTOINMUNES.pdf>. Consultado el 10/11/2016.
- 2) C. N. Pisoni, S. A. Muñoz, C. Carrizo, et al. Multicentric prevalence study of Anti-ribosomal P antibodies in Juvenile Onset Systemic Lupus Erythematosus Compared With Adult Onset Systemic Lupus Erythematosus. *ReumatolClin*2015; 11(2):73-7.
- 3) Revista: Pediatría Atención Primaria. Asociación Española de Pediatría.
<http://www.pap.es/FrontOffice/PAP/front/Articulos/Articulo/IXus5lLjPqmzmYUJVNzPeLSusNfLfpv>. Consultado el 10/11/2016.
- 4) Niklas K., Niklas A., et al. Rheumatic diseases induced by drugs and environmental factors: the state-of-the art _ part one. *Reumatología* 2016; 54, 3:122-7.
- 5) Niklas K., Niklas A., et al. Rheumatic diseases induced by drugs and environmental factors: the state-of-the art _ part two. *Reumatología* 2016; 54, 4:165-9.
- 6) Revista Buena Salud: Enfermedades reumáticas en los niños.
<http://www.revistabuenasalud.com/enfermedades-reumaticas-en-los-ninos/>. Consultado el 10/11/2016.
- 7) N. Agmon-Levin, J. Damoiseaux, C. Kallenberg, et al. International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis* 2014; 73:17-23.
- 8) A. Melegari, C. Bonaguri, et al. Harmonization of Autoimmune Diagnostics With Antinuclear Antibody Testing Algorithm: Approach of Appropriateness and Clinical Relevance. *IMAJ* 2014; 16:640-2.
- 9) A.R. Bradwell, R. G. Hughes. Atlas of HEp-2 patterns. Tercera edición, año 2007.
- 10) D. Carmona-Fernandes, M. J. Santos, E. Canhao, et al. Anti-ribosomal P protein IgG autoantibodies in patients with systemic lupus erythematosus: diagnostic performance and clinical profile. *BMC Medicine* 2013; 11-98.
- 11) B. C. Perilloux, A. K. Shetty, L. E. Leiva, et al. Antinuclear Antibody (ANA) and ANA Profile Test in Children with Autoimmune Disorders: A Retrospective Study. *Clinical Rheumatology* 2000; 19:200-3.
- 12) J. L. McGhee, L. M. Kickingbird, J.N. Jarvis, et al. Clinical utility of antinuclear antibody tests in children. *BMC pediatrics* 2004; 4-13.
- 13) S. Sciascia, M. L. Bertolaccini, et al. Autoantibodies involved in neuropsychiatric manifestations associated with systemic lupus erythematosus: a systematic review. *J Neurol* 2014; 261:1706-1714.
- 14) G. Yaniv, G Twig, D. Ben-Ami Shor, et al. A Volcanic Explosion of autoantibodies in systemic lupus erythematosus: A diversity of 180 different antibodies found in LES patients. *Autoimmun Rev* 2014.
- 15) B. Goilav, C. Putterman, et al. Biomarkers for kidney involvement in pediatric lupus. *Biomark. Med* 2015; 9(6):529-543.
- 16) D. J. Haddon, V.K. Diep, J. V. Price, et al. Autoantigen microarrays reveal autoantibodies associated with proliferative nephritis and active disease in pediatric lupus erythematosus. *Arthritis Research and Therapy* 2015; 1-12.

- 17) M. Petri, A.M. Orbai, et al. Derivation and Validation of Systemic Lupus International Collaborating Clinics Classification Criteria for Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum* 2012; 64(8):2677-2686.
- 18) Z-R Shi, C-X Cao, G-Z Tan, et al. The association of serum anti-ribosomal P antibody with clinical and serological disorders in systemic lupus erythematosus: a systematic review and meta-analysis. *Lupus* 2015; 24: 588-596.
- 19) Cozzani E., Drosera M., Gasparini G., et al. Serology of Lupus Erythematosus: Correlation between Immunopathological Features and Clinical Aspects. *Autoimmune Diseases* 2014; 1-13.
- 20) M. Mahler, K. Kessenbrock, M. Szmyrka, et al. International Multicenter Evaluation of Autoantibodies to Ribosomal P Proteins. *Clinical and Vaccine Immunology* 2006; 13:77-83.
- 21) S. Gofinet Pasoto, V. Santos Trindade Viana, E. Bonfa, et al. The clinical utility of anti-ribosomal P antibodies in systemic lupus erythematosus. *Expert Rev. Clin. Immunol* 2014; 10:1493-1503.
- 22) N. Agmon-Levin, B.Gilburd, S. Kivity, et al. Anti-Ribosomal-P Antibodies in Lupus Patients and Healthy Controls: Evaluation of Three ELISA Assays. *IMAJ* 2009; 11:403-6.
- 23) Ghirardello A., Caponi L., Franceschini F., et al. Diagnostic Test for Antiribosomal P Protein Antibodies: A Comparative Evaluation of Immunoblotting and ELISA Assays. *Journal of Autoimmunity* 2002; 19:71-7.
- 24) L. Mozo, P. López, L. Caminal-Montero, et al. Anti-ribosomal P antibodies are associated with elevated circulating IFN α and IL10 levels in systemic lupus erythematosus patients. *Lupus* 2014; 0:1-9.
- 25) Haddouk S., Marzouk S., Jallouli M., et al. Clinical and diagnostic value of ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology* 2009; 48:953-7.
- 26) S. Hirohata, T. Kasama, Y. Kawahito, et al. Efficacy of anti-ribosomal P protein antibody testing for diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Mod Reumathol* 2014; 1-6.
- 27) Olesinska M., Chwalinska-Sadowska H., Wiesik-Szewczyk E., et al. Clinical manifestation of systemic lupus erythematosus in patients with antiribosomal P protein antibodies. *Pol Arch MedWewn.* 2010; 120 (3): 76-81.
- 28) Reichlin M., Faulker Broyles T., Hubscher O., et al. Prevalence of autoantibodies to ribosomal P proteins in juvenile-onset systemic lupus erythematosus compared with the adult disease. *Arthritis and Rheumatology* 1999;42(1):69-75.