

Prevalencia y significado clínico de los anticuerpos anti-SS-A(RO) en pacientes con enfermedades reumáticas autoinmunes sistémicas

Prevalence and clinical significance of anti-SS-A(RO) antibodies in patients with systemic autoimmune rheumatic diseases

Ana María Guerreiro Hernández, Rinaldo Villaescusa Blanco, Julio César Merlín Linares, Aymara Leyva Rodríguez, Ada Amalia Arce Hernández, Odalis de la Guardia Peña, Yamila Junco González, Arturo Chang Monteagudo

Instituto de Hematología e Inmunología. La Habana, Cuba.

RESUMEN

Por la importancia diagnóstica que tiene la detección de las distintas especificidades de anticuerpos que permite distinguir síndromes reumáticos que se sobreponen en el plano clínico, se exploró su frecuencia en un grupo de 4 693 pacientes con enfermedades reumáticas autoinmunes sistémicas (SARDs) en el periodo entre el 10 de junio del 2010 al 10 de junio del 2016. Fueron estudiados con ANA *screen*, ANA *combi* e IMMUNOBLOTTING. Solo fueron positivos 277 (5,9 %), 250 del sexo femenino y 27 del sexo masculino. Existió una importante prevalencia de reactividad contra los anticuerpos anti-SS-A con 140 pacientes (50 %), seguido de los antinucleosoma con 97 (35 %) y los DNA ds con 72 (25 %), en el resto de los anticuerpos no existieron hallazgos importantes. Este estudio sugiere que para los pacientes con manifestaciones clínicas de enfermedades reumáticas autoinmunes sistémicas es necesario y útil la utilización de estas pruebas que, junto con la información clínica y en algunos casos histológica, puede ayudar a realizar un diagnóstico más preciso.

Palabras clave: anticuerpos anti SS-A (RO); lupus eritematoso sistémico; síndrome de Sjögrens; ensayo inmunoenzimático; inmunoblotting.

ABSTRACT

Due to the diagnostic importance of the detection of different antibody specificities that allows us to distinguish rheumatic syndromes that clinically overlap; we studied its prevalence in a group of 4 693 patients with systemic autoimmune rheumatic diseases In the period between June 10, 2010 and June 10, 2016. For that purpose, we used ANA Screen and ANA Combi. 277 (5 %) were female and 250 males. There was a significant prevalence of anti-SS-A antibodies 140 (50 %) followed by antinucleosome 97 (35 %) and DNAs of 72 (25 %), no significant results were obtained with the rest of the other antibodies. Our results suggest the usefulness of these tests in patients with clinical manifestations of systemic autoimmune rheumatic diseases together with the clinical and histological information that could help to make an accurate diagnosis.

Keywords: anti SS-A (RO) antibodies; systemic lupus erythematosus; Sjögrens syndrome; immunoenzymatic assay.

INTRODUCCIÓN

Las enfermedades autoinmunes del tejido conectivo constituyen un grupo de entidades que presentan con gran frecuencia síntomas y signos comunes que se sobrepone en el plano clínico, siendo necesarias para el diagnóstico diferencial la utilización de pruebas diagnósticas complementarias como es la detección de autoanticuerpos y otros estudios como los enzimáticos, electromiográficos e histológicos, para junto a la información clínica completar los criterios diagnóstico de la enfermedad.

Entre los autoanticuerpos frecuentemente determinados se encuentran los anti-SS-A (RO) cuya presencia se asocia más a trastornos cutáneos que a daño renal;¹⁻⁵ se distinguen por precipitar ARN citoplasmáticos humanos denominados hyRNA (hy1, hy2, hy3 y hy5) y por reaccionar con al menos tres polipéptidos (scRNP) cuyos pesos moleculares son 60,52 y 46 kb.^{6,7} Las más conocidas son la subunidades SS-A 52 y SS-A 60, la primera es una ligasa E3, proteína inducible por el interferón que funciona como un regulador negativo de la producción de citocinas pro inflamatorias;⁸ mientras la molécula SS- A 60 participa en la degradación del ARN defectuoso y a partir de modelos experimentales se plantea que pudiera tener un papel protector contra las respuestas autoinmunes.⁹

Fueron originalmente detectados en el síndrome de Sjögrens primario, desorden autoinmune que afecta principalmente a las glándulas exocrinas, con un amplio espectro clínico que va desde una enfermedad confinada a las glándulas exocrinas, expresada por los conocidos síntomas de sequedad, hasta una enfermedad sistémica con gran variedad de manifestaciones extraglandulares.¹⁰ Su presencia en algunos pacientes se ha asociado al desarrollo de una gammapatía monoclonal o linfoma de células B.¹¹ También se pueden identificar en el lupus eritematoso sistémico (LES), enfermedad autoinmune órgano inespecífica, caracterizada por la presencia de células T autorreactivas, responsable de la producción aberrante de un grupo heterogéneo de autoanticuerpos;^{12,13} o asociado al lupus neonatal producto del paso a través de la barrera placentaria de los anticuerpos presentes en la madre al

niño y que se manifiesta por *rash* en la piel, bloqueo cardiaco completo y secuelas neurológicas.¹⁴⁻¹⁶

La presencia de anti SS-A se asocia además al lupus de individuos homocigotos con deficiencia de complemento C2 y C4, otras enfermedades autoinmunes como la esclerosis sistémica, cirrosis biliar primaria y artritis reumatoide.¹⁷⁻¹⁹

Para el diagnóstico serológico de las enfermedades reumáticas autoinmunes es necesario el seguimiento y la caracterización de los hallazgos positivos, apoyados en la combinación de pruebas de detección simultaneados con pruebas confirmatorias.

El objetivo del estudio fue determinar la frecuencia con que se asocian la presencia de anticuerpos anti-SS-A (RO) a los signos y síntomas que hacen sospechar la presencia de las enfermedades autoinmunes del tejido conectivo con expresión sistémica.

MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo de la totalidad de pacientes con síntomas y signos considerados presuntivos de una enfermedad autoinmune del tejido conectivo con pruebas solicitadas, sin estudios previos y que fueron estudiados para determinar la presencia de anticuerpos anti-SS-A (RO) en el Laboratorio de Inmunología del Instituto Nacional de Hematología e Inmunología en el periodo comprendido de junio de 2010 hasta junio de 2016.

Se incluyeron todos aquellos pacientes que llegaron al laboratorio con indicación de estudios de autoinmunidad justificados con la presencia de dos o más de las manifestaciones siguientes: úlceras orales, fotosensibilidad, alopecia, eritema malar, fenómeno de Raynaud, anemia hemolítica, linfopenia, plaquetopenia, serositis, glomerulonefritis, convulsiones, neuropatía, boca seca y ojo seco, además de la impresión diagnóstica consignada de una de las siguientes afecciones: LES, síndrome de Sjögrens, esclerosis sistémica, artritis reumatoide, enfermedad mixta del tejido conectivo, dermatomiositis, polimiositis. En todos los casos la indicación fue autorizada previamente por expertos del laboratorio, quienes exploraron sobre la información y la voluntad para realizarse el estudio.

A partir de estos criterios quedaron incluidos 4 693 pacientes, de los que se obtuvo una muestra de sangre por punción venosa que fue conservada a -20 °C hasta el momento de realizar las determinaciones. Además, se estableció un grupo control de 30 donantes aparentemente sanos con los que se procedió de igual modo.

La determinación de los anticuerpos antinucleares fue realizada mediante un ensayo inmunoenzimático *ANA Screen* de la firma comercial *Orgentec* que contiene fijado en las placas de poliestireno una mezcla de 6 antígenos nucleares altamente purificados (SS-A, SS-B, RNP, Sm, Scl-70, Jo-1). Se consideraron positivos aquellos casos con una absorbancia mayor que 1.2.

Posteriormente, los casos que resultaron positivos, se pasaron a un segundo nivel de caracterización mediante pruebas más sensibles y específicas para confirmar el antígeno reconocido por los ANA, presente en la muestra del paciente y se les realizó un segundo ensayo inmunoenzimático con *ANA combi* en el cual los antígenos altamente purificados se encuentran independientes fijados en cada pocillo, lo que permite detectar anticuerpos específicos contra (SS-A, SS-B, rnp, sm, scl-70, jo-1), se consideraron positivos aquellos cuya absorbancia fue mayor de 1,2.

Existieron casos que a pesar de ser positivos en el ANA screen no fue posible con el segundo ensayo inmunoenzimático encontrar algún anticuerpo específico, estos se utilizó un *Inmunoblotting Nucleo 9 Line* de la firma comercial *Orgentec*, que es una importante prueba de diferenciación de los ANA después de haber realizado una prueba de detección por Elisa y que contiene una mezcla de 9 antígenos altamente purificados que se encuentran inmovilizados en tiras de nitrocelulosa y permite detectar anticuerpos específicos contra (DNAds, nucleosoma, SS-A, SS-B, RNP, Sm, Scl-70, Cenp-b, Jo-1) la detección de los anticuerpos unidos es posible por la presencia de bandas que se corresponden con la presencia de cada uno de los autoanticuerpos y que se visualizan por la intensidad de la coloración.

RESULTADOS

Del total de pacientes estudiados atendiendo a los criterios de selección, resultaron positivos 277 (5,9 %), 250 del sexo femenino y 27 del sexo masculino. En el grupo control (donantes) todos fueron negativos para la prueba de detección, por lo tanto, no hubo necesidad de utilizar una segunda prueba confirmatoria en ninguno de ellos.

En la [tabla](#) se representa la frecuencia encontrada para cada especificidad de autoanticuerpo en el grupo de pacientes estudiados. Se encontró prevalencia de reactividad serológica dirigida hacia los anticuerpos anti SS-A (50 %), seguido de los anticuerpos antinucleosoma (35 %) y los anti DNA ds (25 %). Existió un predominio de casos que resultaron positivos en el sexo femenino (90,3 %) comparado con el sexo masculino (9,7 %).

Tabla. Frecuencia de las diferentes especificidades de autoanticuerpos estudiados

Anticuerpos (especificidad)	Pacientes positivos (n)
SS-A	140
SS-B	41
DNA ds	72
RNP	40
SM	20
SCL-70	13
NUNC	97
CENP-B	20
Jo-1	4

DISCUSIÓN

Los resultados encontrados en cuanto al porcentaje de casos positivos en la muestra estudiada se corresponden con los resultados obtenidos por otros estudios con muestras similares, así como también en los hallazgos encontrados en cuanto a positividad de los autoanticuerpos que fue superior en el sexo femenino en relación al masculino en una proporción de 9/1; lo que se corresponde con el predominio femenino en el comportamiento de las colagenosis sistémicas, ya que las mujeres suelen desarrollar una respuesta inmune más fuerte que los hombres pues producen niveles de anticuerpos más altos por lo que los procesos autoinmunes se desarrollan poco después de la pubertad o en el curso de un embarazo.^{20,21}

Existen una serie de condiciones que pudieran dar un ANA positivo, sin estar en presencia de un proceso autoinmune. Está descrito que entre el 5 y el 7 % de la población sana pudiera resultar positiva, también con el incremento de la edad, un estado infeccioso, cáncer o una elevación inducida por drogas. Por eso es necesario pasar al segundo nivel de caracterización mediante pruebas más específicas para confirmar el antígeno reconocido por los ANA presentes en la muestra del paciente. El significado clínico de la presencia de esos ANA positivos y la posterior detección de anticuerpos específicos en determinados pacientes con clínica sugestiva de algún tipo de conectivopatía, indica que estos individuos requieren de un seguimiento más riguroso que aquellos que no resultaran positivos, pues podría estarse en presencia de alguna entidad clínica o que se desarrolle en breve.²²

En este estudio se encontró una prevalencia importante de reactividad contra los anticuerpos anti SS-A, pero no fue posible llegar a establecer hacia cuál de las dos subunidades, estaban dirigidos los anticuerpos encontrados. Por ello sería interesante estudiar a este grupo de pacientes en una segunda etapa, ya que ayudaría a determinar cuáles tendrían un mejor pronóstico en cuanto a la evolución de su enfermedad en dependencia de hacia dónde está dirigida la reactividad serológica, ya sea a la subunidad SS-52 o SS-60, e independientemente de la entidad reumatológica que padecen. En el caso de la SS-52 favorecería la producción de citosinas proinflamatorias y por tanto un desarrollo de la enfermedad con un mal pronóstico; por el contrario, si estuvieran dirigidos hacia la SS-60, su presencia podría ser un factor protector o de mejor pronóstico como se ha visto en algunos modelos experimentales y sería un interesante tema de estudio futuro.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Yang Z, Ren Y, Liu D, Lin F, Liang Y. Autoimmune rheumatic diseases and clinical significance of ANA profile : data from a tertiary hospital in Shanghai, China. *APMIS*. 2016 Sep;124(9):805-11. doi: 10.1111/apm.12564.
2. 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.
3. Gonzalez DA, Rodríguez CC, Armas LM, Varela AR, Rodríguez IM, Duarte MT, et al. Anti ENA profile related with anti SS-A\RO detection of RO-52 and RO-60 according to the presence of SS-B (LA) and ANA pattern and titer. *Immunol*. 2014;161(1):6-12.
4. Scholz J, Grossmann K, Knutter I, Hiemann R, Sowa M, Rober N, et al. Second generation analysis of antinuclear antibody by combination of screening and confirmatory testing. *Clin Chem Lab Med*. 2015;53(12):1991-2002.
5. Yoshimi R, Veda A, Ozato K, IshigatsuboY. Clinical and pathological roles of Ro/SS-A autoantibody system. *Clin Dev Immunol*. 2012;606195. doi:10, 1155/2012/606195.
6. Provost TT, Watson R, Simmons-O'Brien E. Significance of the anti (SS-A) antibody in evaluation of patients with cutaneous manifestation of a connective tissue disease. *J Am Acad Dermatol*. 1996;35;147-69.
7. Bielsa I. Anticuerpos antinucleares y citoplasmáticos. Significado clínico y biológico. *Piel*. 1995;10:445-8.
8. Higgs R, Lazzari E, Wynne C. Self-protection from antiviral responses SS-52 promotes degradation of the transcription factor IRF 7 downstream of the viral toll-like receptors. *Plos One*. 2010;5:e1176.

9. Xue D, Shi H, Smith JD, Chen X, Noe DA, Cedervall T, et al. A lupus like syndrome develops in mice lacking the SS-A 60 kd protein at major lupus autoantigen. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:7503-8.
10. Harley JB. Autoantibodies in Sjögrens syndrome. *J Autoimmun.* 1989;2(4):113-9.
11. Talal N. Sjögrens syndrome. Historical overview and clinical spectrum of disease. *Rheum Dis Clin North Am.* 1994;2:391-407.
12. Biazar C, Ssigges J, Patsinakidis N. Cutaneous lupus erythematosus: first multicenter database analysis of 1002 patients from the European Society of cutaneous lupus erythematosus (EUSCLE). *Autoimmun Rev.* 2013;12:444.
13. Onoda M, Inokuma S, Arai S. Antibody is positively associated with steroid-induced psychiatric events in systemic lupus erythematosus patient. *Rheumatol Int.* 2013;33(6):1437-42.
14. Anami A, Fukuschima K, Takasaki Y, Sumida T, Naguri M, Wake N, et al. The predictive value of anti SS-A antibodies titration in pregnant women with fetal congenital heart block. *Mod Rheumatol.* 2013;23(40):653-8.
15. Saxene A, Izmirly PM, Han SW, Briassouli P, Rivera TL, Zhong H, et al. Serum biomarkers on inflammation, fibrosis and cardiac function in facilitating diagnosis, prognosis and treatment of anti SS-A associated cardiac neonatal lupus. *J Am Col Cardiol.* 2015;66(8):930-9.
16. Kanda K, Sato A, Abe D, Nishijima S, Isshigami T. The unique coexistence of anti SS-A antibodies in a neonate with symptomatic ischemic stroke. *Pediatr Neurol.* 2016;62:47-50.
17. Kuwana M, Kaburaki J, Okano Y, Tojo T, Homma M. Clinical and prognostic associations based on serum antinuclear antibodies in japanese patients with systemic sclerosis. *Arthritis Rheumatol.* 1994;37:75-83.
18. Stinton LM, Swain M, Myers RP. Autoantibodies to GM antibodies and others auto antigens in primary biliary cirrhosis. *Clin Exp Immunol.* 2011;163(2):147-56.
19. Shierbeck P, Lundback K, Palmblad K. Monoclonal anti HMGB1 (high mobility group box chromosomal protein 1) antibody protection in two experimental arthritis models. *Mol Med.* 2011;17(9-10):1039-44.
20. Stamouli M, Skliris A, Reppa D, Maganaki E. Detection of antinuclear antibodies (ANA) antibodies to double stranded DNA (anti-dsDNA) and antibodies to extractable nuclear antigens (anti-ENA) in greek patients. *Clin Lab.* 2013;59(3-4):283-91.
21. Sánchez-Román J, Castillo Palma MJ, García Hernández FJ. *Colagenosis.* Barcelona: Glosa; 2010.
22. Abeles AM, Abeles M. The clinical utility of a positive antinuclear antibody test result. *Am J Med.* 2013;126(4):342-8.

Recibido: 2 de agosto de 2017.

Aprobado: 12 de diciembre de 2017.

Lic. Ana María Guerreiro Hernández. Instituto de Hematología e Inmunología.
Apartado 8070, La Habana, CP 10800, Cuba. Tel (537) 643 8695, 8268.
Correo electrónico: rchematologia@infomed.sld.cu
