



ORIGINAL

Evaluación de arginina sérica en pacientes con lupus eritematoso sistémico



E. Ruiz-Bedolla*, B. Lopez-Martinez y L. Embriz-Mendoza

Laboratorio clínico, Hospital Infantil de México "Federico Gómez", México, D.F., México

Recibido el 28 de octubre de 2014; aceptado el 18 de noviembre de 2014

Disponible en Internet el 26 de marzo de 2015

PALABRAS CLAVE

Arginina;
Lupus eritematoso

Resumen Hacer un diagnóstico clínico de lupus eritematoso hasta la fecha es difícil efectuarlo y cuando este se hace, la enfermedad se encuentra en estado avanzado; por esta razón se han buscado en la sangre de los pacientes otros componentes diferentes a los anticuerpos antinucleares para hacer un diagnóstico temprano. En este trabajo se evaluaron los niveles de arginina sérica en sujetos clínicamente sanos y en pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES). Los resultados obtenidos fueron de 4 a 17 mg/dl en sujetos sanos y de 0.0 a 11 mg/dl en pacientes con LES. El 77% de los pacientes con LES presentaron valores bajos de arginina. Los pacientes con valores de arginina menores de 6 mg/dl también presentaron títulos elevados de anticuerpos antinucleares. Con los resultados obtenidos se da un avance más en el conocimiento del LES y pensamos que la evaluación de los niveles de arginina sérica pueden ser útiles como apoyo al diagnóstico integral de la enfermedad.

© 2014 Universidad Autónoma del Estado de México. Publicado por Masson Doyma México S.A. Todos los derechos reservados.

KEYWORDS

Arginine;
Systemic lupus
erythematosus

Evaluation of serum arginine in patients with systemic lupus erythematosus

Abstract A diagnosis of systemic lupus erythematosus is currently difficult to make, and when it is made the disease is usually in an advanced stage. For this reason, a search has been made to find components other than antibodies in the blood of patients in order to make an early diagnosis. In this study, serum arginine levels were measured in clinically healthy subjects and in patients with systemic lupus erythematosus (SLE). The results obtained were from 4 to 17 mg/dL in healthy subjects and from 0.0 to 11 mg/dl in patients with SLE. Low arginine values were found in 77% of patients with SLE. Patients with serum arginine values less than 6 mg/dl also

* Autor para correspondencia: Laboratorio clínico, Hospital Infantil de México "Federico Gómez", Dr Marquez No 162, Col Doctores, CP 06720, México D. F., México. Tel.: +0155 52289917; ext. 2280.

Correo electrónico: helix@prodigy.net.mx (E. Ruiz-Bedolla).

had elevated anti-nuclear antibody titers. These results further advance the knowledge of SLE, and we believe that the evaluation of serum arginine levels could be a useful support in the integrated diagnosis of this disease.

© 2014 Universidad Autónoma del Estado de México. Published by Masson Doyma México S.A. All rights reserved.

Introducción

Desde que fue descrito por primera vez en 1895 el lupus eritematoso sistémico (LES), han pasado más de 100 años y poco se ha avanzado en el descubrimiento de los mecanismos bioquímicos de esta enfermedad. Aproximadamente 50 años después en 1941, se describió como una enfermedad de la colágena vascular¹. Posteriormente se han realizado estudios de tipo inmunológico pero no han llegado a descifrar el mecanismo de formación de los anticuerpos que aparecen durante la enfermedad. Al LES todavía se le define como una enfermedad inflamatoria de tipo autoinmune y etiología desconocida probablemente multifactorial^{2,3}. Cuando se observó el síndrome de lupus eritematoso asociado a drogas farmacológicas o agentes químicos, se dieron los primeros avances en el conocimiento del LES. Después en los años de 1970 cuando se estudió el metabolismo de la isoniazida (un fármaco antituberculoso) se observó que los principales metabolitos excretados en la orina, son: acetil-isoniazida y ácido isonicotínico. La excreción urinaria de estos compuestos varía con cada persona encontrándose en algunas de ellas totalmente invertidos³. Esto se debe a que la enzima acetiltransferasa responsable del metabolismo del fármaco presenta polimorfismo de tal manera que a las personas se les puede clasificar en acetiladores rápidos y acetiladores lentos. Los individuos de origen caucásico, de origen africano, de la india o de origen mexicano son acetiladores lentos o ligeramente lentos. Los individuos de origen japonés, de origen chino o de origen coreano son acetiladores rápidos. Los individuos que son acetiladores lentos tienden a producir fácilmente anticuerpos antinucleares cuando se les administra procainamida, hidralazina o isoniazida⁴⁻⁶. La hidralazina y la isoniazida alteran diversos antígenos nucleares al interactuar con la nucleoproteína soluble, mientras que las hidantoínas y la clorpromazina lo hacen con el DNA desnaturalizado.

Actualmente todavía es difícil hacer un diagnóstico de LES debido a sus variadas manifestaciones clínicas iniciales que en varios casos permanecen sin que se presente un cuadro clínico bien definido. Algunas de las lesiones causadas por la enfermedad son casi siempre irreversibles, por lo tanto es importante hacer un diagnóstico temprano de la enfermedad.

El interés en la evaluación de algunos aminoácidos en esta enfermedad es para tratar de encontrar algún componente sanguíneo que sea útil para hacer el diagnóstico de la enfermedad de manera segura y rápida. En estudios previos se han evaluado las concentraciones séricas de prolina, creatina, ornitina y la actividad de arginasa en pacientes

con LES⁷⁻⁹ encontrándose alterados los niveles séricos de ornitina junto con la actividad de la enzima arginasa; por esta razón en esta ocasión se evaluará la arginina sérica que es un aminoácido precursor de la ornitina para ver si también se encuentran alterados sus niveles en sangre con la intención de tratar de hacer un diagnóstico temprano de la enfermedad para que se pueda aplicar una terapia adecuada y oportuna.

Material y métodos

Para obtener los valores de referencia de arginina sérica se utilizaron 193 sueros de personas de ambos sexos aparentemente sanas con edades de 15 a 40 años de edad y los sueros de pacientes con LES fueron 350 muestras de igual número de personas. El diagnóstico de la enfermedad se efectuó clínicamente y con estudios de laboratorio y gabinete. Los valores de arginina se correlacionaron con los títulos de anticuerpos antinucleares.

La arginina sérica se determinó con la técnica de E.L. Oginski¹⁰ y los anticuerpos antinucleares (ANA) se observaron por inmunofluorescencia con el método de Gonzalez et al.¹¹.

Resultados

Los valores obtenidos de arginina sérica para personas aparentemente sanas son de 4.0 a 17 mg/dl con una media de 11 mg/dl, desviación estándar 3.56 y en pacientes con LES son de 0.0 a 11.0 mg/dl con una media de 5 mg/dl y desviación estándar 3.53, mostrando una diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.01$) (tabla 1). Los pacientes con LES el 77% presentaron valores disminuidos de arginina.

Al comparar los valores de arginina con los títulos de ANA se observó que todas las muestras con niveles de arginina menores de 6 mg/dl presentan títulos elevados de ANA (tabla 2).

Discusión

Considerando al lupus eritematoso como una enfermedad de la colágena han sido efectuados varios estudios y con sus resultados continuamos evaluando los precursores de algunos aminoácidos que forman parte de la colágena como la prolina la cual se sintetiza a partir de la arginina. Por lo tanto en esta ocasión se evaluó la arginina encontrando que el 77% de las muestras evaluadas presentaron valores menores de arginina comparados con los valores de las personas

Tabla 1 Niveles de arginina sérica en personas sanas y en pacientes con LES

Arginina mg/dl	Pacientes con LES n	Personas sanas n
0-1	67	0
2-3	30	0
4-5	86	8
6-7	47	14
8-9	57	45
10-11	63	42
12-13	0	15
14-15	0	30
16-17	0	19

Tabla 2 Relación de los niveles de arginina sérica con los títulos de ANA en pacientes con LES

n	Arginina mg/dl	Títulos de ANA
10	5	1:80
10	4	1:120
6	3	1:160
3	2	1:240
6	1	1:320
4	1	1:640
6	1	1:1,280
7	0	1:640
4	0	1:1,280
4	0	1:2,560

clínicamente sanas (tabla 1). Esto coincide con los valores de arginasa sérica encontrados en sangre de pacientes con LES⁹, quienes presentaron actividad disminuida en el 74% de los enfermos. La arginasa renal transforma la arginina en ornitina y esta por medio de la enzima ornitín-desaminasa dependiente del fosfato de piridoxal se transforma en poliaminas que son putrescina, espermidina y espermina las cuales se producen en todas las células y se localizan principalmente en el citoplasma; en él se encuentra un 8% de putrescina, 16% de espermidina y 17% de espermina. Estos compuestos tienen un papel muy importante en los procesos de crecimiento, multiplicación y diferenciación celular; por lo tanto al disminuir los niveles de arginina se considera que también disminuyen los niveles de poliaminas. Como resultado de sus múltiples cargas positivas las poliaminas se unen con facilidad al DNA¹²; además estimulan la biosíntesis del RNA y por lo tanto la síntesis de proteínas. Cuando se presenta disminución de la síntesis de poliaminas, también disminuye el crecimiento celular y la división celular y como resultado final de este proceso se presenta disminución de la producción de eritrocitos (eritropenia), disminución de leucocitos (leucopenia) y disminución de plaquetas (trombocitopenia), también se observa disminución de los linfocitos T y disminución de la síntesis de hemoglobina. Todo esto concuerda con lo observado en los enfermos con LES.

La arginina también es un constituyente importante de las histonas, siendo aproximadamente el 15% de los aminoácidos. Las histonas son altamente catiónicas y su función es

plegar el DNA formando la estructura cromosómica y regular la actividad de los genes. La modificación en la cantidad de algunos aminoácidos y la sustitución de la arginina disminuye las cargas catiónicas de la proteína por lo tanto disminuye la interacción de la histona con el DNA¹³.

El hígado sintetiza citrulina y a partir de esta se produce arginina convirtiéndose la mayor parte en urea y ornitina, aparentemente cuando aumenta la urea sanguínea se bloquea parcialmente el ciclo de la urea acumulándose arginino-succinato a partir del cual se produce ácido guanidino succínico¹⁴. El riñón utiliza la citrulina producida por el hígado para sintetizar una mayor cantidad de arginina por medio de la enzima arginino-sintetasa que está presente en la médula renal, esto contribuye a un medio favorable en el riñón para la síntesis de arginina la cual se utiliza para la síntesis de proteínas en otros tejidos.

Cuando se encuentra disminuida la actividad de la enzima arginasa, se eleva la concentración de la ornitina debido a que esta no se metaboliza porque están inhibidas las enzimas ornitina aminotransferasa y la ornitina descarboxilasa junto con la enzima peptidil-lisil-oxidasa las cuales tienen como cofactor el fosfato de piridoxal¹⁵⁻¹⁸. La arginasa, enzima responsable de metabolizar la arginina, también cataboliza la hidrólisis de la L-canavanina (aminoácido presente en el frijol comestible), además metaboliza L-argininamida, L-homoarginina, ácido L-arginínico y agmatina¹⁹. Los esteroides utilizados para el tratamiento del LES incrementan la actividad de la enzima arginasa, la ornitín-desaminasa y ornitínaminotransferasa entre otras, por eso es que los pacientes responden bien al tratamiento con esteroides. De los 350 pacientes estudiados la mayoría de ellos estaban recibiendo tratamiento, solamente en 22 de ellos se les diagnosticó por primera vez la enfermedad y no estaban recibiendo ningún medicamento. Estos 22 pacientes todos tuvieron valores de arginina menores de 4 mg/dl y presentaron títulos elevados de ANA (tabla 2) y en general se observó que a medida que disminuyen los valores de arginina aumentan los títulos de ANA; por lo tanto consideramos que la evaluación de los niveles de arginina como apoyo de laboratorio para el diagnóstico de la enfermedad, es necesario cuantificarla antes de comenzar el tratamiento.

La arginina y la lisina constituyen aproximadamente el 25% del total de aminoácidos que forman parte de las histonas, las cuales son proteínas altamente catiónicas lo que hace que se enlacen fuertemente al DNA.

En ratas de laboratorio se ha observado que al administrarles arginina por vía oral, se incrementa el tamaño del timo, aumenta el número de linfocitos provenientes del timo y no se alteran los niveles sanguíneos de urea, creatinina glucosa ni las pruebas de función hepática²⁰. Por otra parte, la arginina agregada en cultivos mixtos de linfocitos inhibe el desarrollo de linfocitos T citotóxicos. Este efecto inhibitorio está mediado por poliaminas²¹.

Varios investigadores han comprobado los efectos de las poliaminas sobre el DNA, RNA, síntesis de proteínas y sobre el ciclo celular²². Los anticuerpos anti-DNA representan una clase única de proteínas que enlazan DNA de las cuales hay poca información. Estos son de interés biomédico porque se producen "in vivo" en los pacientes con enfermedades autoinmunes como el LES aunque en algunas ocasiones pueden no presentarse^{23,24}. La presencia de anticuerpos varía

en un amplio rango y se han identificado más de 25 tipos diferentes de autoanticuerpos reactivos a diversos antígenos celulares entre los cuales están los anticuerpos antihistona, antinucleoproteína, antirribosoma, antimitocondria, etc.²⁵. Los anticuerpos anti-DNA se pueden depositar en la membrana basal de los glomérulos renales dando como resultado una glomerulonefritis lo cual es una de las principales causas de mortalidad en pacientes con LES. Es sabido que el alto contenido de arginina es una propiedad fundamental de los anticuerpos anti-DNA en ratones y en pacientes con LES, incluso al agregar arginina aumenta la afinidad por los anti-DNA. Por lo tanto se ha concluido que la patogenicidad de los ANA correlaciona con el contenido y localización de la arginina. El DNA tiene moléculas de arginina en las posiciones 94 y 98. Cuando hay una mutación de arginina en la posición 98 por lisina o por metionina, en apariencia no hay cambios de atracción debido a las cargas positivas de la arginina. Una mutación en la posición 94 del DNA por alanina si afecta la interacción con las moléculas de proteína. La arginina 94 puede enlazar DNA formando anticuerpos²⁶.

La arginina constituye el 8% de los aminoácidos de la colágena humana. La administración de arginina en ratas no eleva la actividad de la arginasa hepática, en cambio con el consumo de proteína aumenta al doble la actividad de la arginasa hepática. Con los resultados aquí obtenidos nos permite sugerir que en los pacientes con LES existe una deficiencia de arginina lo que posiblemente influya en la baja actividad de las enzimas participantes en su metabolismo o bien que las enzimas están bloqueadas por algún compuesto. Además la baja concentración de arginina en sangre indica que en los tejidos también debe estar disminuida lo que hace que la colágena se encuentre alterada en su estructura produciéndose la enfermedad.

La arginina es el principal precursor de la ornitina y cuando esta se encuentra en concentraciones bajas en el plasma sanguíneo se correlaciona con estados de psicosis, stress y con alteraciones a nivel inmunológico. Estos datos nos indican la importancia que tiene la arginina dentro de la enfermedad y se considera que haciendo más estudios de la arginina con relación al LES se pueden obtener resultados que permitan conocer los mecanismos por los cuales se desarrolla la enfermedad de LES y posiblemente también otras enfermedades autoinmunes. En la literatura revisada no se encontró información sobre la arginina en relación al lupus eritematoso siendo esta la primera ocasión en que se hace un estudio sobre arginina y lupus eritematoso.

Por lo tanto es necesario hacer más estudios sobre aspectos metabólicos de la arginina durante la enfermedad con la intención de conocer las causas por las cuales están inhibidas las diferentes enzimas que participan en el metabolismo de la arginina e intentar descubrir el origen de la enfermedad y por otra parte consideramos que su evaluación en los pacientes con LES debe efectuarse antes de que inicien un tratamiento para que pueda servir como apoyo para el diagnóstico de la enfermedad.

Financiamiento

No se recibió patrocinio para llevar a cabo este artículo.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Ruiz BE, Suarez RJ. Lupus eritematoso sistémico. *Acta Med.* 1992;28:93-102.
2. Manolios N, Schrieber L. Current concepts in the etiopathogenesis and treatment of systemic lupus erythematosus (SLE). *Aust N Z J Med.* 1986;16(5):729-43.
3. Enriquez-Mejia MG. Fisiopatología del lupus eritematoso sistémico. *Rev Medicina Invest.* 2013;1:1-9.
4. Drayer DE, Reidenberg MM, Reidenberg MM. Clinical consequences of polymorphic acetylation of basic drugs. *Clin Pharmacol Ther.* 1977;22(3):251-8.
5. Zacharias W, Koopman WJ. Lupus-inducing drugs alter the structure of supercoiled circular DNA domains. *Arthritis Rheum.* 1990;33(3):366-74.
6. Dubroff LM, Reid RJ Jr. Hydralazine-pyrimidine interactions may explain hydralazine-induced lupus erythematosus. *Science.* 1980;208(4442):404-6.
7. Ruiz BE, Dionisio AM. Evaluación de los niveles de creatina sérica en Lupus Eritematoso Sistémico. *Rev Mex Patol Clin.* 1996;43:35-7.
8. Ruiz BE, Bravo MJ. Ornitina sérica en pacientes con lupus eritematoso sistémico. *Rev Mex Patol Clin.* 1997;44:217-21.
9. Ruiz BE. Arginasa sérica en pacientes con lupus eritematoso sistémico. *Rev Mex Patol Clin.* 2009;56:45-9.
10. Oginsky EL. Isolation and determination of arginine and citrulline. *Methods Enzymol.* 1957;3:639-43.
11. Gonzalez EN, Rothfield NF. Immunoglobulin class and pattern of nuclear fluorescence in systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med.* 1966;274(24):1333-8.
12. Pegg AE. Recent advances in the biochemistry of polyamines in eukaryotes. *Biochem J.* 1986;234(2):249-62.
13. 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 anti-native DNA antibody with glomerulonephritis. *J Clin Invest.* 1977;59(1):90-6.
14. Featherston WR, Rogers QR, Freedland RA. Relative importance of kidney and liver in synthesis of arginine by the rat. *Am J Physiol.* 1973;224(1):127-9.
15. Rahiala EL, Kekomäki M, Jänne J, et al. Inhibition of pyridoxal enzymes by L-canaline. *Biochim Biophys Acta.* 1971;227(2):337-43.
16. Shih VE, Mandell R, Berson EL. Pyridoxine effects on ornithine ketoacid transaminase activity in fibroblasts from carriers of two forms of gyrate atrophy of the choroid and retina. *Am J Hum Genet.* 1988;43(6):929-33.
17. Kito K, Sanada Y, Katunuma N. Mode of inhibition of ornithine aminotransferase by L-canaline. *J Biochem.* 1978;83(1):201-6.
18. Sipilä I. Inhibition of arginine-glycine aminotransferase by ornithine. *Biochim Biophys Acta.* 1980;613:79-83.
19. Morimoto I, Shiozawa S, Tanaka Y, et al. L-canavanine acts on suppressor-inducer T cells to regulate antibody synthesis: lymphocytes of systemic lupus erythematosus patients are specifically unresponsive to L-canavanine. *Clin Immunol Immunopathol.* 1990;55(1):97-108.
20. Barbul A, Sisto DA, Wasserkrug HL, et al. Arginine stimulates lymphocyte immune response in healthy human beings. *Surgery.* 1981;90(2):244-51.
21. Susskind BM, Chandrasekaran J. Inhibition of cytolytic T lymphocyte maturation with ornithine, arginine, and putrescine. *J Immunol.* 1987;139(3):905-12.

22. Morris DR. A new perspective on ornithine decarboxylase regulation: prevention of polyamine toxicity is the overriding theme. *J Cell Biochem.* 1991;46(2):102–5.
23. Pisetsky DS, Grudier JP, Gilkeson GS. A role for immunogenic DNA in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1990;33(2):153–9.
24. Schwartz RS, Stollar BD. Origins of anti-DNA autoantibodies. *J Clin Invest.* 1985;75(2):321–7.
25. Portanova JP, Arndt RE, Tan EM, et al. Anti-histone antibodies in idiopathic and drug-induced lupus recognize distinct intrahistone regions. *J Immunol.* 1987;138(2):446–51.
26. Tanner JJ, Komissarov AA, Deutscher SL. Crystal structure of an antigen-binding fragment bound to single-stranded DNA. *J Mol Biol.* 2001;314(4):807–22.