

FENOMENO 'L'E' Y LA ELECTROFERESIS DE LAS PROTEINAS SERICAS EN EL ESTUDIO DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO

PEDRO STASTNY M.

INTRODUCCION (*)

La prueba 'L'E' ('lupus eritematoso'), basada en el descubrimiento de Hargraves en 1948, (19), es una prueba de diagnóstico de valor reconocido (21) en el estudio del 'LES' (lupus eritematoso sistémico). Desde que se le emplea ha permitido ampliar notablemente el conocimiento de esta enfermedad (10).

Zinkham y Conley (50) han descrito una técnica para la realización de esta prueba, que se basa en el hecho de que mediante un traumatismo graduado de los leucocitos éstos se vuelven más susceptibles a la acción del factor plasmático 'L'E' cuya presencia se investiga mediante la prueba.

Dubois ha hecho un estudio comparativo entre los varios métodos en uso (12), habiendo encontrado que la técnica de Zinkham-Conley da el porcentaje más alto de positividad. Por ello se decidió el empleo de ese método en el presente trabajo.

Existen varios estudios electroforéticos de las seroproteínas en el LES (38, 7, 2). Los cambios protéicos han sido considerados de gran importancia en esta enfermedad (26) y posiblemente relacionados con su patogenia (15, 32). Es por eso que, en el estudio aquí presentado

(*) El autor expresa su reconocimiento a los Drs. Alberto Hurtado, J. Humberto Aste Salazar, César Merino, Carlos Subauste, Carlos Monge Casinelli, Vicente Zapata Ortiz y Uriel García C. por la orientación y ayuda prestada en la realización de este trabajo.

se ha querido no sólo hacer la electroforesis de cada caso de LES, sino también seguir las modificaciones de los patrones protéicos a lo largo de la evolución clínica de los pacientes.

Los hechos que se exponen a continuación son el resultado de dos años de experiencia en el estudio del LES con ambas pruebas.

MATERIAL Y METODOS

Material Clínico.

Se estudiaron 29 pacientes en las cuales el diagnóstico de lupus eritematoso sistémico (LES) se estableció por los datos clínicos, por una prueba 'LE' positiva y, en varios casos, por resultados de estudios de biopsias o necropsias.

Se presenta fuera de serie un caso de diagnóstico incierto, con LE repetidamente negativo, pero con una biopsia de riñón con lesiones compatibles con LES.

Además se presentan cuatro pacientes que tuvieron esclerodermia a la vez que una prueba LE positiva.

Se investigaron también 50 pacientes que padecían de diferentes enfermedades, cuyos diagnósticos se encuentran en la Tabla 1. En estos enfermos se practicaron estudios por sospecharse que podía tratarse de casos de LES. En algunos de ellos el diagnóstico no se había aclarado aun al momento de la redacción de este trabajo, pero las evidencias disponibles en ninguna manera justificaban el diagnóstico de LES para incluirlos en la serie.

Además se presentan estudios realizados en 20 sujetos supuestos normales usados como controles. Se trataba de estudiantes de medicina, internos y algunos donadores del banco de sangre.

Prueba 'LE'.

El fenómeno LE se investigó de acuerdo a la técnica de Zinkham-Conley (59, 12). Se tomaron cada vez 10 c.c. de sangre venosa, que se recogía en un tubo de vidrio 125 x 16 mm. provisto de tapa de baquelita con rosca y conteniendo tres gotas de una solución acuosa de heparina de 10 mgr. c.c. y 10 bolitas de vidrio de 4 mm. de diámetro. La sangre heparinizada fué incubada durante 90 minutos a temperatura ambiente, luego rotada verticalmente a razón de 50 r.p.m. duran-

le 30 minutos y a continuación nuevamente incubada a temperatura ambiente por 30 minutos. Las extensiones preparadas con la capa de leucocitos fueron teñidas con colorante de Wright y examinadas al microscopio con lente de inmersión. Las preparaciones fueron diagnosticada de acuerdo con los criterios corrientes (22). Una prueba fué considerada positiva cuando se encontraba en una misma lámina corpúsculos extracelulares, rosetas y células LE típicas.

Electroforesis clásica de fronteras móviles.

Se llevó a cabo en un aparato Perkin Elmer Modelo 38 A, con tampón de Barbitol pH 8.6, fuerza iónica 0.1, y siguiendo los métodos usuales (28).

La separación electroforética fué llevada a cabo, en una célula de Tiselius, después de la diálisis del suero en el tampón de Barbitol, durante 24 horas a 4° C., con una corriente constante de 20 mA., aproximadamente 150 voltios, temperatura de 1.0° C., durante 60-80 minutos.

Los trazados, fotografiados sobre película Polaroid, fueron ampliados cinco veces sobre papel de dibujo y las fracciones protéicas fueron recortadas y pesadas en balanza de precisión. Se calcularon los porcentajes a partir de los valores obtenidos.

Electroforesis en zona en papel de filtro.

Se empleó un aparato Spinco Modelo R. tipo Durrum, tampón Barbitol pH 8.6, fuerza iónica 0.075 y papel de filtro Whatman 3 MM, procediendo de acuerdo con la técnica habitual (13), que ya ha sido reportada por este laboratorio (8, 36, 46). Las corridas fueron de 6 horas, con corrientes constante de 16 mA y alrededor de 220 voltios.

Los electrocromatogramas, después de secados en un horno a 110° C., por 30 minutos, se tiñeron durante la noche con azul de bromofenol en solución de ácido acético al 5% y sulfato de zinc. Después de la tinción las tiras se lavaron 3 veces con ácido acético al 5%, durante 20 minutos cada vez y luego se fijaron con solución de acetato de sodio al 3% en ácido acético al 5%, también durante 20 minutos. Finalmente se secaron en horno a 110° C., por 15 minutos. De esta manera se obtuvieron mejores resultados.

La lectura cuantitativa de los electrocromatogramas teñidos se hizo con el densitómetro "Analytrol" Spinco, calculando los porcentajes del electrolorograma a partir de la integración del área de las curvas que el aparato hace en forma automática (25).

RESULTADOS

Pruebas LE.

En 29 pacientes el diagnóstico clínico de LES fué confirmado por una prueba LE positiva. En la Figura 1, se muestran algunas células LE típicas, rosetas y cuerpos extracelulares, elementos en los cuales se base el diagnóstico de la prueba. Fué siempre fácil diferenciar a las células LE de las células de núcleofagocitosis, de eritrofagocitosis, células de fagocitosis de gérmenes, y células vacuoladas, ejemplos de algunas de las cuales también se presentan en la Figura 1.

En cada paciente se han hecho dos o más preparaciones, de allí que se reportan un total de 70 preparaciones sobre un grupo de 29 enfermos.

En sólo un caso, la prueba fué repetidamente negativa al inicio de la enfermedad para hacerse positiva más tarde.

Historia Clínica I. Paciente I.G.

Esta paciente de 36 años se hospitalizó por primera vez por presentar dolores en las articulaciones, dolor en la porción lateral izquierda del tórax que se exacerbaba con los cambios de posición y fiebre.

Cinco años antes se le habían encontrado reacciones serológicas para sífilis positivas y había recibido tratamiento antilúético intenso.

Había llevado una vida normal. Tuvo cuatro embarazos, durante el último, hace tres años, se le encontró anemia.

Cuatro meses antes de su admisión presentó dolores en las articulaciones de las manos y pies y en las rodillas, con cierta impotencia funcional, malestar y astenia.

Posteriormente presentó dolor tipo hincada retroesternal y un dolor pleural en el lado izquierdo. Tuvo disnea severa y fiebre.

Ingresó en malas condiciones, muy disneica y dolorida. Estaba pálida en grado extremo: había un derrame pleural izquierdo y estertores pulmonares. El hígado y el bazo estaban aumentados de volumen. Había una anemia hemolítica intensa. En el recuento globular se encontraron 1'050,000 hematies, 12600 leucocitos, Hb. 3.66%. Reticulocitos 45.0%. En el recuento diferencial B 10, S 83, E 0, B 0, M 2, L 5. Se vieron 2% de normoblas-

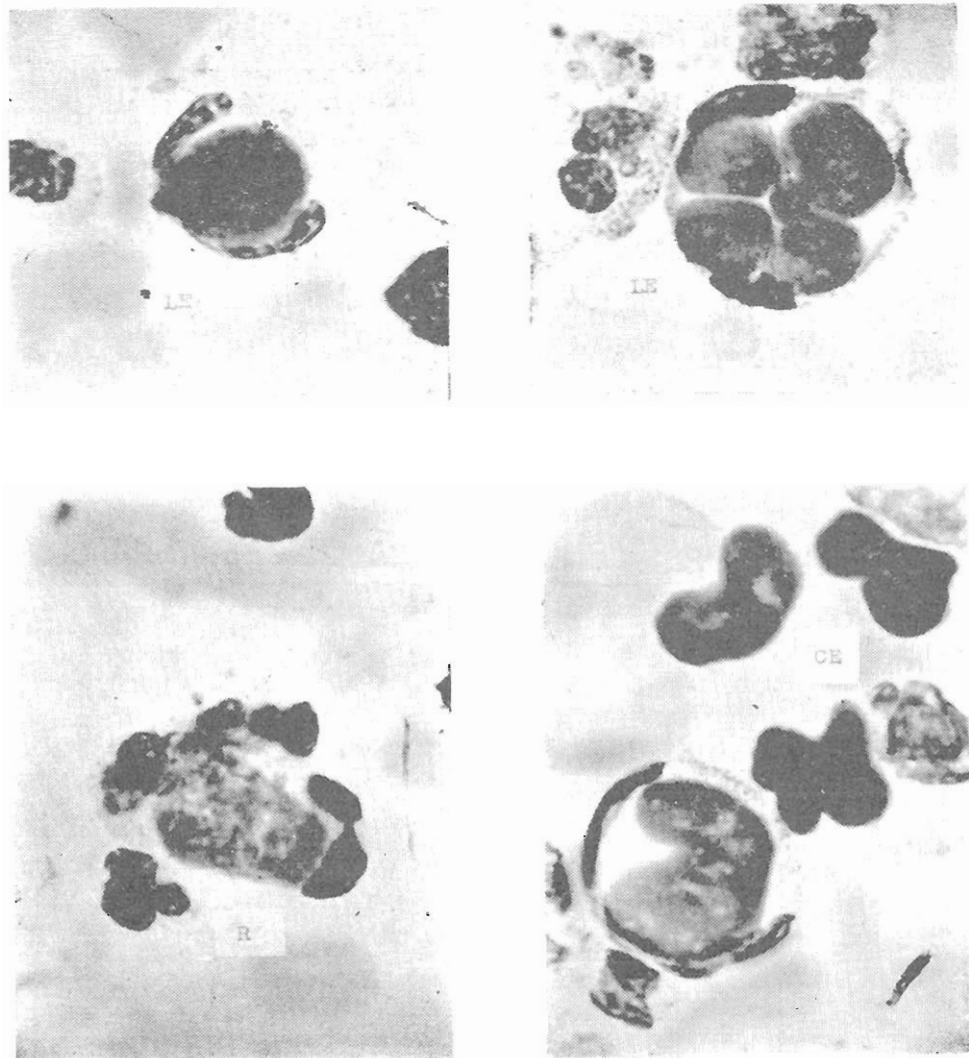


Figura 1.A. Células 'L A' (LE), Roseta (R), Corpúsculos extracelulares (CE).

tos y anisocitosis 2 cruces. Había trazas de albúmina en la orina y en el sedimento leucocitos y cilindros granulados. Bilirrubina total en el suero 3.3 mgr. %, directa 2.5, indirecta 0.8; pruebas de floculación positivas 3 cruces, fosfatasa alcalina 7.4 U.B. Proteínas totales 7.30, albúmina 3.30, globulina 4.00; gamaglobulina 1.25. Colesterol total 170 mgr %. Las reacciones serológicas para sífilis eran intensamente positivas. Las aglutinaciones fueron positivas con título 1:40 para tífico 0. La prueba LE fué negativa en varias oportunidades.

La paciente recibió prednisona y mejoró de sus síntomas siendo dada de alta, sin haberse podido comprobar el diagnóstico. Posteriormente fué vista por varios médicos por presentar nuevamente dolores en las articulaciones. Se le aplicaron rayos ultravioleta.

Poco tiempo después reingresó otra vez sumamente pálida y muy decaída. Tenía dolores articulares y disnea. En esta ocasión el fenómeno LE fué francamente positivo.

Se le dió tratamiento con prednisona logrando detener la hemólisis e inducir una remisión satisfactoria. La enferma desarrolló una pigmentación bruna de la piel y una considerable obesidad. El fenómeno LE era negativo.

Los estudios electroforéticos practicados en esta paciente dieron los siguientes resultados:

	Albúmina	Alfa-1	Alfa-2	Beta	Gama-glob.
15 - VIII - 57	35.4		16.9	5.8	41.9
16 - I - 58	51.7	3.5	5.0	9.6	30.2
31 - I - 58	54.8	3.1	5.0	8.2	28.9
8 - IV - 58	64.1	2.9	5.2	8.1	19.8

El último estudio se practicó después que la enferma había salido dada de alta en muy buenas condiciones.

En este caso la prueba LE se volvió positiva durante una recidiva severa que estuvo aparentemente en relación con la aplicación de rayos ultravioleta con fines fisioterapéuticos. La prueba LE había sido también negativa con otros dos métodos usuales para la investigación del fenómeno LE: el método del coágulo, y el estudio de la médula ósea (Este último practicado en el Laboratorio de Hematología del doctor César Merino). Además se observó que el fenómeno se negativizó rápidamente cuando la paciente entró en remisión por efecto del tratamiento.

En otra enferma (D.V.) que se ha venido estudiando durante tres meses, la prueba es consistentemente negativa aunque los datos clínicos y la biopsia renal sugieren el diagnóstico de LES. La historia de esta paciente es la siguiente:

Historia Clínica 2. Paciente D.V.

Mujer de 21 años que ingresó al hospital por presentar náuseas, vómitos, dolor abdominal, diarrea y fiebre. Se quejó también de cefalea y edemas.

Refirió que tres años antes había estado internada en otro servicio de medicina por haber presentado poli-artritis migratoria, con signos de flogosis, fiebre y malestar. Recibió cortisona y le extirparon las amígdalas.

Dos años antes se le diagnosticó TBC pulmonar. Presentaba malestar, anorexia, pérdida de peso. Recibió tratamiento específico durante 7 meses. Después de haber sido dada de alta presentó dolor pungitivo retroesternal, disnea, tos y fiebre requiriendo nueva hospitalización. Notó que cuando hacía frío los dedos se le ponían fríos y cianóticos. Un año antes de su ingreso tuvo edema de los pies y lesiones eritematosas y pequeñas vesículas.

El episodio agudo que la trajo en su presente hospitalización se inició 17 días antes, con náuseas, vómitos, dolor abdominal y diarrea. Tenía también fiebre vespertina precedida de escalofríos y cefalea de regular intensidad.

Al examen se encontró a una mujer joven, lúcida, en buen estado general. Había algo de edema en la cara y párpados. Las pequeñas articulaciones de ambas manos estaban algo deformadas y había desviación cubital de los dedos más marcada en el lado derecho. Los movimientos de flexión de los dedos estaban algo limitados. Se palparon pequeños ganglios duros en el cuello y axilas. Se encontró disminuido el murmullo vesicular en el tercio superior del hemitórax izquierdo. El resto del examen fue normal.

En el hemograma había H 3'480,00, Hb 8.9, L 5250, B 3, S 66, E 2, B 0, M 3, L 26. Velocidad de sedimentación 38 mm./h. Plaquetas normales. Orina: albúmina, en una ocasión vestigios y en otra 0.42 gr. % : Thevenon 4 cruces; leucocitos degenerados, hematies y cilindros granulosos en el sedimento. Proteínas totales en sangre 7.10, albúmina 3.30, globulina 3.80. El trazado electroforético reveló disminución de albúmina y aumento de gamaglobulina; alfa-globulinas estaban ligeramente por encima del valor máximo normal. La úrea en sangre fluctuó entre 0.40 y 0.80, la creatinina entre 0.9 y 3.7 mgr. La máxima densidad obtenida en una prueba de Fishberg fue de 1008. La depuración de creatinina fue de 24.8 cc/min. Un urocultivo fue positivo a E. Coli. En la radiografía de tórax se encontró disminución de la transparencia del vértice izquierdo. Se practicaron cinco investigaciones del fenómeno LE, todas negativas. La biopsia de riñón fue informada como sigue: "La muestra consta de 9 glomérulos. La totalidad de ellos muestran diversos grados de lesiones proliferativas de la trama conjuntiva y vascular; hay numerosas figuras de sinequia con la cápsula de Bowman. Las arteriolas muestran esclerosis concéntrica de grado moderado. Los espacios intersticiales muestran en zonas bandas de fibrosis. Algunos tubos contorneados proximales muestran dilatación de su luz. Diagnóstico: Glomerulonefritis difusa variedad subaguda de tipo proliferativo vascular, compatible con lupus eritematoso. Dr. Uriel García".

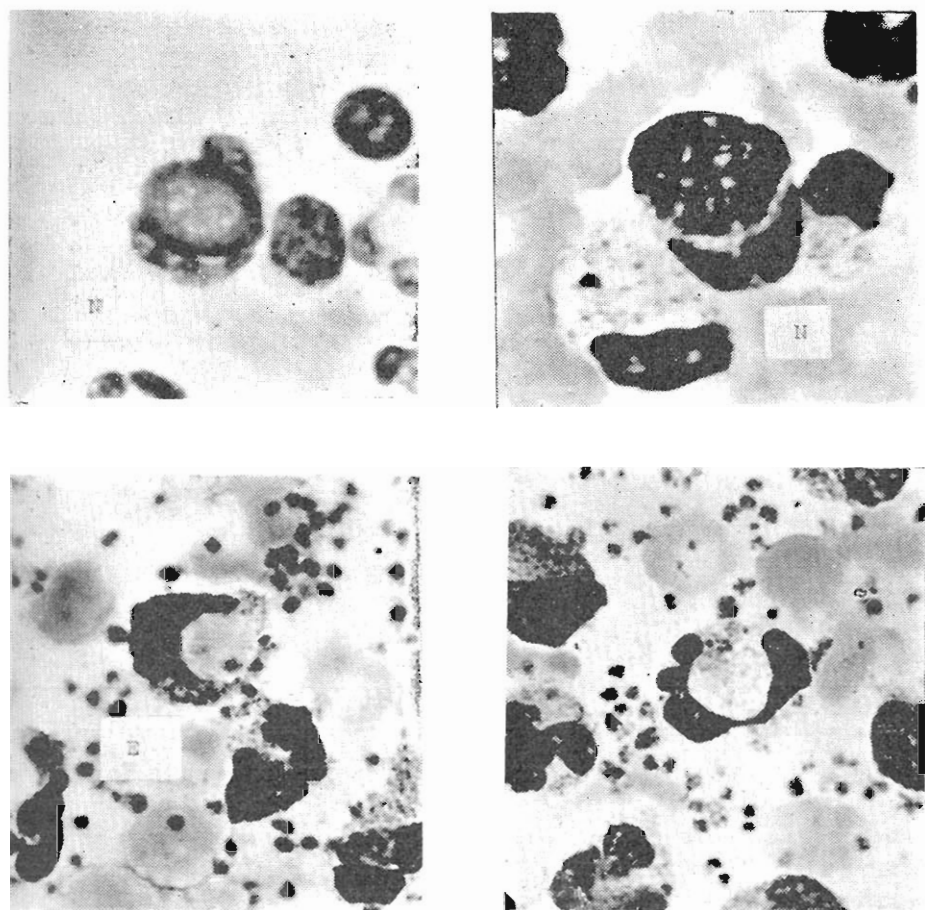


Figura 1.B. Células pseudo-LE. Núcleofagocitosis (N), Eritrofagocitosis (E).
Vacuolada (V).

Si tomamos en cuenta este caso tendríamos una enferma con prueba LE negativa sobre un total de 30 pacientes de LES, lo que equivale a decir que la prueba ha sido positiva en el 96.7 % de los casos comprobados.

Se practicó la prueba LE en 9 enfermas en las cuales se pudo establecer un diagnóstico seguro de esclerodermia por los datos clínicos o la biopsia. La prueba fue positiva en cuatro de ellas. Estos casos son motivo de una publicación especial (42).

TABLA 1. PRUEBAS LE

Diagnóstico	Nº de casos	Prueba LE	
		Positiva	Negativa
Lupus eritematoso sistémico	29	29	0
L E S, probable	1	0	1
Lupus discoide	5	0	5
Esclerodermia	9	4	5
Dermatomiositis	2	0	2
Artritis reumatoide	10	0	10
Glomerulonefritis	4	0	4
Eritema polimorfo	2	0	2
Eritema nodoso	1	0	1
Pericarditis inespecífica	2	0	2
Tuberculosis, poliserositis	4	0	4
Hepatitis	1	0	1
Endocarditis bacteriana subaguda	1	0	1
Úlcera péptica	1	0	1
Brucelosis	1	0	1
Shock post-transfusional	1	0	1
Sin diagnóstico	9	0	9
TOTAL:	83	33	50

En 50 pacientes cuyos diagnósticos se encuentran en la Tabla 1, la prueba fue negativa. Como se ve mejor en la Tabla 2, fuera de los casos de LES y de esclerodermia, se han estudiado 44 pacientes todos negativos, que incluyen (Tabla 1), lupus discoide, dermatomiositis, artritis reumatoide (10 casos), glomerulonefritis, etc..

TABLA 2.

Diagnóstico	Nº de casos	'LE' positivo	'LE' negativo
L E S	30	29 (96.7%)	1 (3.3%)
Esclerodermia	9	4 (44.4%)	5 (45.6%)
No-LES, ni esclerodermia	44	0 (0.0%)	44 (100.0%)

Electroforesis de las proteínas séricas.

Material: Se han practicado 100 determinaciones electroforéticas: 80 estudios en 34 pacientes con prueba LE positiva y 20 en controles normales.

Hallazgos: En los pacientes de lupus eritematoso sistémico se encontró una disminución de la albúmina, un aumento de la gama-globulina y frecuentemente elevación de la alfa-2globulina, de acuerdo con lo que otros autores han reportado anteriormente (2, 7, 38).

Hubo un acuerdo satisfactorio entre dos métodos electroforéticos empleados conforme también ya ha sido observado por otros (29).

Ha sido particularmente interesante estudiar la evolución de los patrones electroforéticos en relación con las modificaciones del cuadro clínico.

TABLA 3. ELECTROFORESIS DE LAS SEROPROTEINAS

Sujeto	Albúmina	Alfa-1	Alfa-2	Beta	Gama-Globulina
Sujetos normales. Método de fronteras movibles.					
P.C.	67.4	3.2	6.3	14.2	8.9
B.B.	60.0	6.5	10.5	8.2	15.0
B.A.	53.0	6.0	10.0	14.0	17.0
E.P.	56.0	3.0	9.0	13.0	19.0
D.B.	62.0	4.0	7.5	14.0	12.5
W.P.	58.5	3.0	7.5	14.0	17.0
P.S.	62.5	3.5	7.0	14.0	13.0
P.L.	59.0	4.5	8.0	14.0	14.5
F.M.	63.0	5.0	7.0	12.5	12.5
R.K.	61.5	3.5	6.5	14.5	14.0
Media	60.3	4.2	7.9	13.2	14.3
D.S.	3.91	1.25	1.44	1.92	2.87
E.S.	1.39	0.39	0.45	0.60	0.90
Sujetos normales. Método en papel de filtro.					
C.C.	68.0	4.0	8.2	9.6	10.2
Y.H.	65.0	3.9	7.2	9.0	14.9
G.P.	59.2	5.5	8.8	13.6	12.9
J.B.	59.1	4.6	6.7	11.8	17.8
J.W.	56.2	4.7	10.3	14.7	14.1
R.K.	69.2	2.8	6.9	9.9	11.2
R.R.	62.1	5.2	10.4	10.6	11.7
V.C.	66.4	3.5	7.2	12.8	10.1
D.M.	54.2	5.2	8.9	11.7	20.0
J.G.	57.7	4.4	10.6	12.7	14.6
Media	61.7	4.4	8.5	11.6	13.8
D.S.	5.23	0.84	1.52	1.85	3.25
E.S.	1.65	0.26	0.48	0.58	1.02

TABLA 3. (continuación)

Paciente	Albúmina	Alfa-1	Alfa-2	Beta	Gama-Globulina
Pacientes de Lupus eritematoso sistémico					
Y.P. ^o	29.0	6.5	10.0	14.5	40.0
E.D. ^o	13.0	7.5	21.0	18.0	40.5
C.A. ^o	32.0	8.0	14.0	13.0	33.0
V.P. ^o	39.0	4.0	10.0	10.0	37.0
J.D. ^o	28.0	9.0	10.0	12.0	41.0
D.G. ^o	33.5	5.5	8.0	12.5	40.5
E.T. ^o	27.0	4.5	7.4	11.5	49.5
G.D. ^o	32.0	5.0	9.0	11.0	43.0
M.F. ^o	12.4	6.5	5.0	5.8	70.3
R.V. ^o	10.5	12.5	19.5	8.0	49.5
P.M. ^o	32.0	6.8	21.4	13.3	26.5
P.I. ^o	9.4	7.7	28.2	9.0	45.7
S.A. ^o	50.5	4.5	10.5	19.0	15.5
C.O.	59.5	6.5	9.5	7.5	17.0
E.V.	34.3	6.3	13.9	14.5	31.0
A.G.	31.3	7.2	16.4	13.7	31.4
N.G.	30.3	6.1	13.2	14.0	36.4
M.D.	16.8	6.4	15.3	12.5	49.0
A.T.	38.1	4.9	9.0	13.8	34.2
I.G.	51.7	3.5	5.0	9.6	30.2
A.H.	28.3	7.6	14.7	8.0	41.4
H.C.	39.3	5.0	8.2	8.9	38.6
J.H.	33.2	4.7	6.6	10.5	45.0
L.N. ¹	23.5	9.4	12.7	9.2	45.2
E.O.	38.4	6.6	13.0	9.2	32.8
H.G.	40.4	4.8	7.6	8.4	38.8
I.B.	27.4	5.9	22.3	12.3	32.1
D.V.	37.3	6.2	13.3	8.1	35.1
L.L.	40.7	5.9	11.1	14.7	27.6
Media	31.7	6.4	12.6	11.5	37.8
D.S.	11.8	1.84	5.57	3.14	10.59
E.S.	2.24	0.35	1.05	0.59	2.00
P.	inf.	0.00006	0.00006	0.19	inf.

(^o) Estas determinaciones fueron hechas en electroforesis de fronteras móviles (Tiselius); las restantes en papel de filtro.

(¹) paciente grave, falleció en el curso del estudio.

La relación entre la severidad del LES y las proteínas séricas se ve, por ejemplo, en el hecho de que los casos más severos, pacientes que fallecieron en el curso de este estudio, tuvieron en general alteraciones más marcadas del proteinograma (Tabla 1).

Los ejemplos que se presentan en la Figura 2, ilustran la sorprendente correlación entre las proteínas séricas y la evolución clínica. En estas figuras se ha aplicado la evaluación cuantitativa basada en la calificación numérica de las características clínicas (35). En esta valoración cuantitativa al sujeto sano le corresponde 0, y 29 corresponde a la máxima gravedad por LES; la calificación de 30 puntos corresponde al fallecimiento por esta enfermedad.

En el caso V.P., por ejemplo, en el inicio de su enfermedad la gravedad clínica fué calificada 18, y durante la remisión, poco antes de salir de alta le corresponden 7 puntos. Los valores electroforéticos presentan una buena correlación con el cambio clínico.

Durante la evolución de la enfermedad de M. D., se vió como después de una mejoría evidente (de 15 a 9 puntos) reflejada también por la electroforesis, se produjo una recaída caracterizada por vómitos y un proceso respiratorio. Durante esta recaída la valoración numérica del estado clínico fué de 12 puntos y las gama-globulinas se elevaron de 27.3 % a 41.5 %. Posteriormente la enferma mejoró progresivamente, aunque desde el punto de vista clínico persistieron siempre algunas lesiones en piel, cierta aceleración del pulso, las lesiones renales y anemia. Su valoración cuantitativa correspondía a 6, persistiendo siempre una hipalbuminemia severa, elevación de las alfa-2 y betaglobulinas (en relación probablemente con el síndrome nefrótico) y una elevación discreta de las gama-globulinas.

La mejoría se acompañó invariablemente de una regresión de los cambios protéicos. Aunque no hay datos suficientes para comprobarlo, la experiencia sugiere que estos cambios se producen cualquiera que sea la causa de la remisión; sea ésta espontánea o inducida por el tratamiento con hormonas o con drogas antimaláricas tipo cloroquina.

Se ha observado con sorpresa que los cambios se producen a veces en días. En una enferma (Tabla 5) se pudo observar que el día en que hacía fiebre en aguja su nivel de gama-globulina era significativamente más alto que al día siguiente, que estuvo afebril. En los días subsiguientes siguió disminuyendo la gama-globulina paralelamente con la mejoría. Posteriormente sus proteínas llegaron a niveles normales, para volver a alterarse un mes más tarde en relación con un nuevo acceso febril.

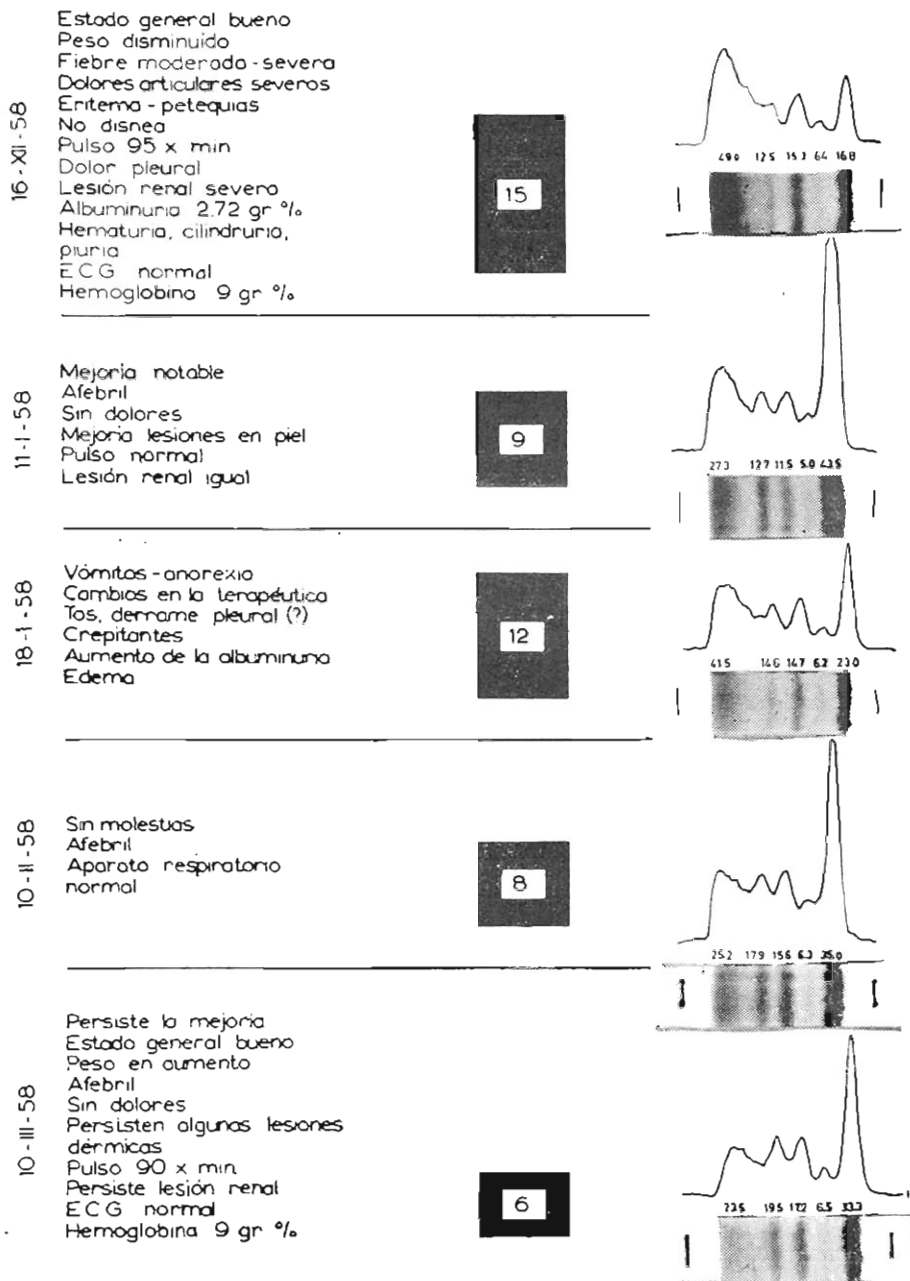


Figura 2. Caso M. D.

TABLA 4. FALTA DE CORRELACION ENTRE LAS PRUEBAS 'LE' Y LA ELECTROFORESIS DE LAS SEROPROTEINAS.

Pacien- te	Momento del estudio	Electroforesis de las seroprot.					'LE'
		Alb.	Alfa-1	Alfa-2	Beta	Gama	
S.A.	remisión	50.5	4.5	10.5	19.0	15.5	+
D.G.	recidiva	33.5	5.5	8.0	12.5	40.5	+
	remisión	65.0	3.3	6.4	10.1	15.2	+
V.P.	recidiva	39.0	4.0	10.0	10.0	37.0	+
	remisión	56.6	1.9	8.0	9.1	24.4	+
I.G.	inicio severo	35.4	16.9	5.8		41.9	0
	recaída	51.7	3.5	5.0	9.6	30.2	+
	remisión	64.1	2.9	5.2	8.1	19.8	0

Importante es señalar que no hubo correlación entre los resultados electroforéticos y los estudios del fenómeno LE; así como tampoco la hay, en la mayoría de los casos, entre dicho fenómeno y el cuadro clínico (11, 27). En tres enfermas (S. A., D. G., V. P.) se observó la normalización del proteinograma al momento de la remisión clínica de la enfermedad y las pruebas LE fueron intensamente positivas (Tabla 4) en otra (I.G.) se pudo demostrar el fenómeno LE sólo durante el breve período de una recaída, habiendo sido negativo cuando la enferma estuvo más grave al inicio de su enfermedad, lo mismo que después cuando entró en remisión prolongada. Es interesante señalar que esta enferma fué portadora durante por lo menos 5 años de lo que parece que fueron reacciones serológicas para sífilis falsas positivas biológicas. Desgraciadamente esta condición no fué reconocida en aquel tiempo.

TABLA 5. RELACION ENTRE LA ELECTROFORESIS DE LAS SEROPROTEINAS Y LA TEMPERATURA EN EL CASO H.C. CAMBIOS RAPIDOS DE LAS SEROPROTEINAS

Fecha	Temperatura ° C.	Electroforesis de las seroproteínas				
		Albúmina	Alfa-1	Alfa-2	Beta	Gama
31 - 1 - 58	36.4	38.0	4.5	8.3	8.3	40.9
25 - 3 - 58	39.0	33.5	3.0	8.1	10.8	44.6
26 - 3 - 58	36.4	34.0	3.5	8.4	12.7	41.4
3 - 4 - 58	36.5	37.8	3.8	8.9	11.8	37.7
17 - 4 - 58	37.0	56.0	2.3	5.5	10.2	26.0
6 - 5 - 58	38.0	39.4	4.1	10.5	9.6	36.4

DISCUSION

El método rotatorio de Zinkham y Conley es un buen método para la investigación del fenómeno LE. Su ejecución es sencilla y no toma mucho tiempo. Su interpretación es simple y rara vez presenta problemas. De acuerdo con la recomendación de Dubois (12) se ha optado por emplearlo como método único de rutina y reservar la aplicación de otros métodos (coágulo, médula ósea) para los casos en que se obtenga un resultado negativo en desacuerdo con el diagnóstico clínico.

El alto porcentaje de positividad encontrado en nuestra serie (96.7 %) está de acuerdo con la sensibilidad que le adscribe Dubois a la técnica en su publicación (12). Igual que este autor hemos visto una prueba negativa con el método del coágulo que salió positiva mediante el método rotatorio. Hay que remarcar, además, que con el método de Zinkham-Conley se encuentran aparentemente menor número de células parcialmente destruidas y menor número de células de nucleofagocitosis lo que facilita la lectura de las láminas.

Se ha señalado muchas veces (10, 44) que en los casos de pruebas negativas en desacuerdo con el diagnóstico clínico es preciso insistir y repetir las investigaciones. Se citan casos en que después de

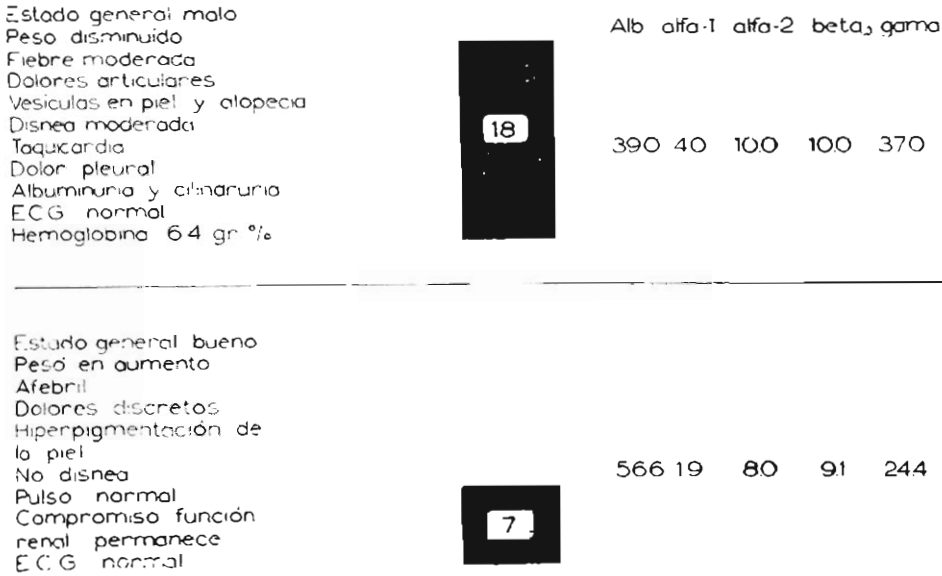


Figura 2. Correlación entre evolución clínica y electroforesis de seroproteínas. Caso V. P.

12 ó 18 investigaciones infructuosas se obtuvo la prueba positiva buscada (20).

El caso de I.G., cuya historia se ha presentado, ilustra este hecho. Con la elevada sensibilidad de esta técnica (96 % en comparación con 60-70 %, de las técnicas más antiguas; 12) no cabe pensar que el factor LE estaba presente pero que no se le ha detectado. Es evidente que éste fué un caso que tiende a cursar sin factor LE, o con una mínima cantidad de este factor, no detectable por las técnicas actuales.

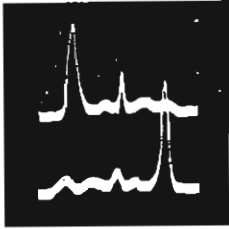
El problema cuantitativo que se plantea tácitamente con estas reflexiones no ha sido abordado en el presente trabajo. Los métodos basados en el recuento del número de células LE y corpúsculos por 1000 leucocitos, aparte de ser morosos, no han dado resultados muy satisfactorios (4, 6). En los ensayos con un método basado en la titulación serológica, esencialmente semejante al que han usado Lee y col., (27), pero con leucocitos de cobayo en vez de leucocitos humanos, iniciados aún antes de haber leído el trabajo citado, se tropezó con algunas dificultades que todavía no han sido superadas.

Por otra parte los resultados de Lee y col., (27) y otros (20), están de acuerdo con nuestra impresión de que no existe correlación entre la intensidad del fenómeno LE y la severidad del cuadro clínico.

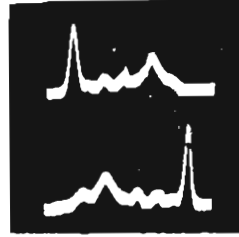
El hecho de que el factor LE no es patogenético en el LES es evidente, porque se ha visto que su pasaje a través de la placenta no produce otra alteración en el feto que un fenómeno LE asintomático en las primeras semanas de vida (3, 5).

Los interesantes problemas que plantea la presencia del factor LE en pacientes que tienen esclerodermia se discuten con la amplitud que se merecen en otro sitio (42).

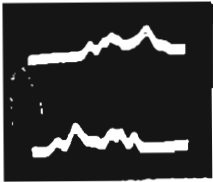
Existen algunos reportes aislados pero frecuentemente citados del hallazgo de células LE en pacientes de mieloma múltiple, anemia perniciosa, tuberculosis miliar, moniliasis generalizada, y otras enfermedades (4, 17, 24, 33). Del análisis cuidadoso de estos reportes se puede concluir que en cada uno de ellos hubiera sido posible dar otra interpretación al fenómeno observado. Varias de esas publicaciones fueron hechas en una época en que no se conocía bien la diferencia que hay que hacer entre células LE y células de nucleofagocitosis. Por otra parte en estos reportes muchas veces no se describe el método seguido ni se publican fotografías de las células halladas. En un caso por ejemplo, (17) se dice haber visto una sola célula LE en un estudio corriente de médula ósea. En otra publicación (4) se refiere el hallazgo de seis casos con LE falsamente positivo; sin embargo, en una Tabla del mismo trabajo aparecen tres de ellos con el diagnóstico de lupus, y un cuarto caso con la etiqueta dudosa de "probable enfermedad del colágeno de tipo indeterminado". En los dos restantes se encontró sólo "una célula LE por 500 leucocitos" y no se nos informa sobre la presencia de los otros elementos del fenómeno (corpúsculos extracelulares y rosetas). Lee y col., (27), reportaron el hallazgo de un célula LE falsa positiva en un caso de amiloidosis de la médula ósea, pero pudieron demostrar que se trataba, en realidad, de la fagocitosis de material amiloide. También es posible que en algunos casos de mieloma haya depósito de amiloide en la médula ósea. La falsedad de algunas células LE falsamente positivas podría demostrarse por la ausencia del factor plasmático capaz de inducir el fenómeno en leucocitos normales. En un caso publicado como LE falsamente positivo debido a tuberculosis miliar (24), se descubre, leyendo cuidadosamente la historia del caso, que la enferma presentó un rash cutáneo en relación con la ingestión de penicilina y que posteriormente el fenómeno fué negativo.



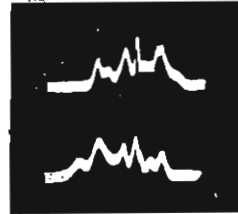
R.K.-normal



V.P.-LES benigno



P.I.-LES severo



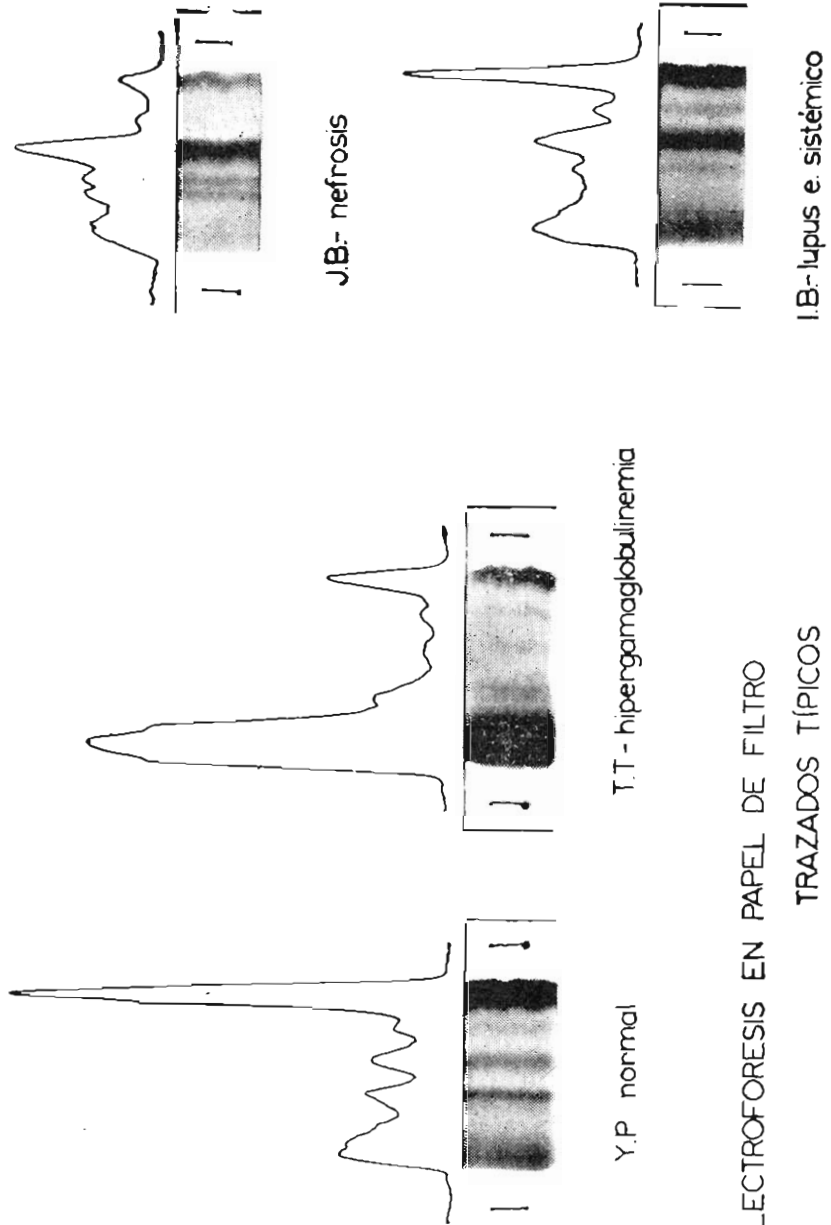
E.D.-LES severo

ELECTROFORESIS DE FRONTERAS MOVIBLES

Figura 3.

Numerosos autores se inclinan hoy día a pensar que la producción de células LE es una característica altamente específica del LES (11, 20, 48), y que su hallazgo tiene valor diagnóstico indiscutible.

Sin embargo, debe aceptarse que el fenómeno ha sido observado en algunas formas severas de reacciones a la penicilina (49), y a la hidralazina (14, 34, 37). Por otra parte, hay casos bien documentados de artritis reumatoide (16) (en una serie seleccionada hasta 27 %) con el fenómeno LE positivo, y también algunos casos de periarteritis (30), anemia hemolítica (9), púrpura trombótica trombocitopénica (40), síndrome de Sjögren (31, 39), hepatitis crónica (23), y finalmente esclerodermia (1, 42, 47), en los que se encontró el fenómeno LE.



ELECTROFORESIS EN PAPEL DE FILTRO
TRAZADOS TÍPICOS

Figura 4.

En muchos de estos casos existían además del fenómeno LE algunas otras características que sugieren que se trata verdaderamente de un LES sobreagregado o coexistente; en algunos, sin embargo, tales evidencias están ausentes, y se plantean por eso una serie de interrogantes cuya discusión es tema de otro trabajo (43).

Los estudios electroforéticos de las proteínas séricas en los pacientes con LES han mostrado severos cambios cuyos patrones están de acuerdo con los ya anteriormente reportados por otros autores (27, 38). Estos cambios, como es sabido, no son patognomónicos aunque tienden a conformar una morfología que le confiere cierta personalidad propia y que permite decir si un proteinograma es o no compatible con el diagnóstico. En los casos severos se encuentra siempre una considerable disminución de la albúmina, gran aumento de la gamaglobulina y frecuentemente aumento de la alfa-2-globulina. Un lupus que cursa con síndrome nefrótico tendrá naturalmente un patrón protéico de nefrosis (45) que como es sabido, se caracteriza por la hipoalbuminemia extrema y la elevación de las fracciones alfa-2 y betaglobulina, que contienen las lipoproteínas.

Lo más interesante de este estudio electroforético es indudablemente la correlación entre las alteraciones protéicas y la evolución clínica de la enfermedad. Ehrlich (15) ha planteado una teoría patogénica en la cual las gama-globulinas tienen un papel principal. Su aumento reflejaría un disturbio primario de las células, plasmáticas productoras de estas proteínas y sería la causa de las lesiones propias de la enfermedad.

En este estudio se ha encontrado un paralelismo neto entre los cambios protéicos y el cuadro clínico pero no es posible saber si el uno es causante del otro o viceversa. Cuando el paciente mejora, sus proteínas también mejoran. Es posible que las proteínas no sean sino un reflejo de esa mejoría, pero tampoco puede descartarse la posibilidad de que la mejoría sea consecuencia del cambio protéico. Sin embargo, tenemos algunos datos que nos hacen alejar algo esta segunda hipótesis. Un simple aumento de las gama-globulinas evidentemente no es la causa del lupus, puesto que se presentan hipergamaglobulinemias iguales y aún más altas en otros pacientes. Por otra parte, hay casos de LES en remisión, pero con fenómeno LE intensamente positivo, cuyas proteínas son normales; lo que revela que seguramente lo fundamental no es el cambio cuantitativo que se refleja en el trazado electroforético, sino las alteraciones cualitativas detectables, quizás, por métodos serológicos más finos.

La rapidez de algunos de los cambios observados tanto en el sentido de la agravación como en el de la mejoría es un hecho sorprendente. Si se consideran estos cambios a la luz de nuestros conceptos corrientes sobre la vida media de las proteínas (18), se hace difícil explicarlos. Es verdad que nuestros conocimientos sobre la fisiología de las proteínas séricas se basan principalmente en estudios practicados en sujetos normales. En el enfermo de LES podrían operar mecanismos de producción y destrucción de proteínas de actividad desmesurada, o podría tratarse quizás simplemente, de redistribuciones de sustancias en los espacios corporales. Tales pensamientos atrevidos se enuncian solamente para esbozar la importancia de hacer más estudios sobre los cambios rápidos de las proteínas séricas en el LES.

La electroforesis de las proteínas séricas tal como se ha venido haciendo en el curso del presente trabajo tiene definido valor en el manejo práctico de los enfermos de LES, como elemento de juicio en la valoración clínica de la evolución, la terapéutica y el pronóstico de estos enfermos.

RESUMEN

Se presentan los resultados de las pruebas LE y de la electroforesis de las seroproteínas practicadas en una serie de pacientes en el curso de un estudio sobre LES y enfermedades relacionadas.

Se practicaron 120 investigaciones de células LE, sobre un grupo de 83 pacientes. La prueba fué positiva en 29/30 casos de LES, lo que da un 96.7 %. Fué positiva también en 4/9 casos de esclerodemia investigados (44.4 %). Todas las demás pruebas fueron negativas.

Se hicieron 100 determinaciones electroforéticas. Estudios seriados en 34 enfermos con prueba LE positiva y 20 determinaciones en controles supuestos normales. En los casos de LES se encontró el conocido patrón de disminución de albúmina, aumento de gama-globulina y frecuente elevación de alfa-2-globulina.

Se observó correlación entre la evolución del cuadro clínico y la de las proteínas séricas. En algunos casos cambios significativos de los niveles de las fracciones de seroproteínas se produjeron con gran rapidez. Se presenta un caso en que se observó relación entre los resultados de electroforesis y la temperatura de la paciente.

No hubo correlación entre las proteínas séricas y el fenómeno LE.

Se discuten los hallazgos descritos señalando el valor de ambas pruebas en el estudio clínico de los enfermos.

BIBLIOGRAFIA

- 1.—ARNOLD, H. L. JR., TILDEN, I.L.: Fatal Scleroderma with LE Phenomenon; Report of a Case, *A.M.A. Arch. Derm.* **76**: 427, 1957.
- 2.—BAPTISTA, D., HOXTER, G., VELLINI, L., MUNGIOLI, R.: Electrophoretic Studies in Disseminated and Fixed Lupus Erythematosus, *Am. J. Med. Sci.* **232**: 83, 1956.
- 3.—BERLYNE, G. M., SHORT, I. A., VICKERS, G. F. H.: Placental Transmission of the LE Factor. Report of Two Cases, *Lancet* **273**: (6884) 15, 1957.
- 4.—BERMAN, L., AXELROD, A. R., GOODMAN, H. L., MCCLAUGHRY, R. I.: So-called "Lupus Erythematosus Inclusion Phenomenon" of Bone Marrow and Blood: Morphologic and Serologic Studies, *Am. J. Clin. Path.* **20**: 403, 1950.
- 5.—BRIDGE, R. G., FOLEY, F. E.: Placental Transmission of the Lupus Erythematosus Factor, *Am. J. Med. Sci.* **227**: 1, 1954.
- 6.—CARRERA, A. E., REID, M. V., KURNICK, N. B.: Differences in Susceptibility of Polymorphonuclear Leukocytes from Several Species to Alterations by Systemic Lupus Erythematosus Serum: Application to a more sensitive L. E. Phenomenon Test, *Blood* **9**: 1165, 1954.
- 7.—COBURN, A. F., MOORE, D. H.: The Plasma Proteins in Disseminated Lupus Erythematosus, *Bull. Johns Hopkins Hosp.* **73**: 196, 1943.
- 8.—CRUZ, H. G.: Electroforesis al Filtro de las Seroproteínas en Niños Normales y Desnutridos, Tesis de Bachiller, Fac. de Med., Lima, 1956.
- 9.—DUBOIS, E. L.: Acquired Hemolytic Anemia as the Presenting Syndrome of Lupus Erythematosus Disseminatus, *Am. J. Med.* **12**: 197, 1952.
- 10.—DUBOIS, E. L.: The Effect of the LE Cell Test on the Clinical Picture of Systemic Lupus Erythematosus, *Ann. Int. Med.* **38**: 1265, 1953.
- 11.—DUBOIS, E. L.: Simplified Method for the LE Cell Test, *Arch. Int. Med.* **92**: 168, 1953.
- 12.—DUBOIS, E. L., FREEMAN, V.: A Comparative Evaluation of the Sensitivity of the LE Cell Test Performed Simultaneously by Different Methods, *Blood* **12**: 657, 1957.
- 13.—DURRUM, E. L.: Paper Electrophoresis - Manual of Paper Chromatography and Paper Electrophoresis, Academic Press Inc. Publ., New York, 1955.
- 14.—DUSTAN, H. P., TYLOR, R. D., CORCORAN, A. C., PAGE, I. H.: Rheumatic and Febrile Syndrome during prolonged Hydralazine Treatment, *J.A.M.A.* **154**: 23, 1954.
- 15.—EHRICH, W. E.: Nature of Collagen Diseases, *Am. Heart. J.* **43**: 121, 1952.
- 16.—FRIEDMAN, I. A., SICKLEY, J. F., POSKE, R. M., BLACK, A., BRONSKY, D., HARTZ, W. H. JR., FELDHAKE, C., REEDER, P. S., KATZ,

- E. M.: The L. E. Phenomenon in Rheumatoid Arthritis *Ann Int. Med.* **46**: 1113, 1957.
- 17.—GAUSEWITZ, P. L., JONES, F. S., WORLEY, G.: Fatal, General Moniliasis, *Am. J. Clin. Path.* **21**: 41, 1951.
 - 18.—GITLIN, D.: Distribution Dynamics of Circulating and Extravascular 1131 Plasma Proteins, *Ann. New York Acad. Sci.* **70**: 122, 1957
 - 19.—HARGRAVES, M. M., RICHMOND, H., MORTON, R.: Presentation of Two Bone Marrow Elements: The "Tart" Cell and the "LE" Cell, *Proc. Staff Meet. Mayo Clin.* **23**: 23, 1958.
 - 20.—HARVEY, A. MCG., SHULMAN, L. E., TUMULTY, P. A., CONLEY, C. L., SCHOENRICH, E. H.: Systemic Lupus Erythematosus: Review of the Literature and Clinical Analysis of 138 Cases, *Medicine* **33**: 291, 1954.
 - 21.—HASERICK, J. R.: Evaluation of Three Diagnostic Procedures for Systemic Lupus Erythematosus, *Ann. Int. Med.* **44**: 497, 1956.
 - 22.—HELLER, P., ZIMMERMAN, H. J.: Nucleophagocytosis - Studies on Three Hundred Thirty-Six Patients, *A.M.A. Arch. Int. Med.* **97**: 403, 1956.
 - 23.—HELLER, P., ZIMMERMAN, H. J., ROZENGVAIG, S., SINGER, K.: The L. E. Phenomenon in Chronic Hepatic Disease. *The New England J. Med.* **254**: 1160, 1956.
 - 24.—JACOBS, A. G.: A. False Positive Lupus Erythematosus Test, *Ann. Int. Med.* **42**: 1097, 1955.
 - 25.—JENCKS, W. D., JETTON, M. R., DURRUM, E. L.: Paper Electrophoresis as a Quantitative Method, *Biochem. J.* **60**: 205, 1955.
 - 26.—LAURELL, A. B., NILSSON, I. M.: Hypergammaglobulinemia Circulating Anticoagulant, and Biologic False Positive Wassermann Reaction, *J. Lab. Clin. Med.* **49**: 694, 1957.
 - 27.—LEE, S. L., MICHAEL, S. R., VURAL, I. L.: LE (Lupus Erythematosus) Cell, *Am. J. Med.* **10**: 446, 1951.
 - 28.—LONGSWORTH, L. G.: Electrophoresis, *Methods in Med. Res.*, The Year Book Pub. Inc., Chicago **5**: 63, 1952.
 - 29.—MACKAY, I. R., VOLWILLER, W., GOLDSWORTHY, P. D.: Paper Electrophoresis of Serum Proteins: Photometric Quantitation and Comparison with Free Electrophoresis, *J. Clin. Invest.* **33**: 855, 1954.
 - 30.—MALLORY, T. B., STILLMAN, J. S.: Massachusetts General Hospital Case Report, *New England J. Med.* **254**: 147, 1951.
 - 31.—MC LEAN, K., ROBINSON, M. S.: Sjögren's Syndrome, *Canad. M. A. J.* **71**: 5, 1954.
 - 32.—MELLORS, R. C., ORTEGA, L. G., HULMAN, H. R.: Role of gamma-globulins in Pathogenesis of Renal Lesions in Systemic Lupus Erythematosus and Chronic Membranous Glomerulonephritis, with an Observation on the Lupus Erythematosus Cell Reaction, *J. Exp. Med.* **106**: 191, 1957.
 - 33.—MONTGOMERY, H., MCCREIGHT, W. G.: Disseminated Lupus Erythematosus, *Arch. Derm. Syph.* **60**: 356, 1949.
 - 34.—MULLER, C. J., RAST, C. L., PRYOR, W. W., ORGAIN, E. S.: Late

Systemic Complications of Hydralazine (Apresoline) Therapy, *J. A.M.A.* 157: 894, 1955.

- 35.—PACHAS, W.: Observaciones Clínicas y Terapéuticas sobre Lupus Eritematoso Sistémico, Tesis de Bachiller, Fac. de Med., Lima, (en preparación).
- 36.—PEÑA, L.: Electroforesis al Papel de Filtro de las Seroproteínas. Valores normales al Nivel del Mar (Lima) y en la Altura (Morococha), Tesis de Farmacia, Lima, 1955.
- 37.—PERRY, M. H. J., SCHROEDER, H. A.: Syndrome Simulating Collagen Disease Caused by Hydralazine (Apresoline) *J.A.M.A.* 154: 670, 1954.
- 38.—REINER, M.: Effect of Cortisone and ACTH Therapy on Serum Proteins in D.L.E., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 74: 529, 1950.
- 39.—SCHPOSNIK, F., BERGNA, L. J., CONTI, A.: Síndrome de Sjögren y Lupus Eritematoso Diseminado, *Rev. Clin. Españ.* 59: 102, 1955.
- 40.—SIEGAL, B. M., FRIEDMAN, I. A., KESLER, S., SCHWARTZ, S. O.: Thrombohemolytic Thrombocytopenic Purpura and Lupus Erythematosus, *Ann. Int. Med.* 47: 1022, 1957.
- 41.—STASTNY, P.: Abnormal Proteins in Systemic Lupus Erythematosus: A Precipitation Test with Human Tissue Extracts, *J. Lab. Clin. Med.* (en prensa).
- 42.—STASTNY, P., PACHAS, W., GARCIA-CACERES, U.: Scleroderma with Positive L E Cell Tests, (en preparación).
- 43.—STASTNY, U., PACHAS, W., GARCIA-CACERES, U.: Transitional forms of 'Collagen Diseases'. Assay of an Interpretation, (en preparación).
- 44.—TALBOTT, J. H., MOLERES FERRANDIS, R.: Collagen Diseases, Grune Stratton, New York, 1956.
- 45.—THORN, G. W., ARMSTRONG, S. H. JR., DAVENPORT, V. D., WOODRUFF, L. M., TYLER, F. H.: Chemical, Clinical and Immunological Studies on the Products of Human Plasma Fractionation. XXX. The use of Saltpoor Concentrated Human Serum Albumin Solution in the Treatment of Chronic Bright's Disease, *J. Clin. Invest.* 24: 802, 1945.
- 46.—TORD, J.: Electroforesis al Papel de Filtro en Afecciones Hepato-biliares, Tesis de Bachiller, Fac. de Med., Lima, 1956.
- 47.—VOLPE, R., HAUCH, J. T.: A Case of Scleroderma with L E Cells and Prolonged Remission on Cortisone Therapy, *Canad. M. Ass. J.* 78: 597, 1955.
- 48.—WALSH, J. R., EGAN, R. L.: The Reliability of the L E Test, *New England J. Med.* 246: 755, 1952.
- 49.—WALSH, J. R., ZIMMERMAN, H. J.: The Demonstration of the "L.E." Phenomenon in Patients with Penicillin Hypersensitivity, *Blood* 8: 65, 1953.
- 50.—ZINKHAM, W. H., CONLEY, C. L.: Some Factors Influencing the Formation of L.E. Cells. A Method for Enhancing L.E. Cell Production. *Bull. Johns Hopkins Hosp.* 98: 102, 1956.