

COMPLEJOS INMUNOLOGICOS CIRCULANTES EN ENFERMEDADES DEL HIGADO

Comunicación preliminar

C. E. GOLINDANO, P. J. GRASES, I. MACHADO, M. RIVERO,
C. CONTRERAS, M. MÁRQUEZ, R. SALOMÓN y N. BIANCO
Cátedra de Clínica Gastroenterológica, Escuela "Luis Razetti",
Unidad de Inmunología Clínica y Sección de Patología del
Aparato Digestivo, Instituto Anatomopatológico,
Facultad de Medicina, Universidad Central de Venezuela.

RESUMEN

Se estudiaron los niveles de complejos inmunológicos circulantes (CIC) en 27 pacientes con diversas hepatopatías agudas y crónicas. Los valores de complejos se determinaron mediante radioinmunoensayo de células Raji y ensayo de unión a Cl_2 fase fluida (Cl_2 -BA). Los porcentajes más altos de CIC se encontraron en hepatitis crónica activa (100%) y en pacientes cirróticos (87,5%). En hepatitis aguda solamente se encontraron niveles elevados en un poco más de la mitad de los casos. El 77,8% de nuestros pacientes mostraron uno o varios marcadores inmunológicos del virus de la hepatitis B. Se discute el papel de antígenos virales en la formación de los CIC y el bloqueo del sistema reticuloendotelial del hígado como uno de los mecanismos para explicar su elevación. Seis de los siete casos con hipocomplementemia se asociaron con elevación de CIC (1 hepatitis crónica y 4 cirrosis). En nuestra casuística no encontramos correlación entre los niveles de CIC, el grado de actividad de la hepatopatía y la transaminasemia máxima.

CIRCULATING IMMUNOLOGICAL COMPLEXES IN HEPATIC DISEASES

ABSTRACT

The levels of circulating immune complexes (CIC) were studied in twenty seven patients with chronic and acute liver disease. CIC levels were measured by the Raji cell and the Cl_2 -BA methods. The highest percentage was found in chronic active hepatitis (100%) and in patients with cirrhosis (87.5%). In acute hepatitis elevated levels were found over half of the cases. 77.8% of the patients showed one or more of the hepatitis B virus markers. The role of viral antigens in the composition of CIC and the blockage of the hepatic reticuloendothelial system as one of the mechanisms to explain their increase are discussed. Six of the seven cases with hypocomplementemia were associated with elevated CIC (1 chronic active hepatitis and 4 cirrhosis). In our series no correlation was found among the levels of CIC on one hand and the activity of liver disease and aminotransferases on the other.

COMUNICACION PRELIMINAR

Desde hace ya algún tiempo se sabe que diversos antígenos pueden unirse a anticuerpos para la formación de complejos inmunológicos¹. Ello constituye no sólo un mecanismo fisiológico para la eliminación antigénica, sino que, en ocasiones, los complejos son responsables de daño

tisular, lo cual se ha demostrado en un número cada vez mayor de condiciones patológicas^{2,3}. En algunas hepatopatías, los virus de la hepatitis y diversas proteínas celulares preexistentes o formadas *di novo* durante el daño tisular, son capaces de unirse a diferentes inmunoglobulinas para formar complejos inmunológicos^{4,5}.

Las investigaciones en este campo no son muy numerosas^{5,16}, y los niveles de complejos inmunológicos circulantes (CIC) en diferentes hepatopatías se han correlacionado con la etapa evolutiva del proceso, con su grado de actividad, con la presencia o ausencia de marcadores inmunológicos del virus B, y los resultados se han comparado en pacientes tratados y sin tratamiento.

En el presente trabajo se consignan los resultados de un estudio que incluye la determinación de CIC en un grupo de pacientes con enfermedades agudas y crónicas del hígado.

PACIENTES Y METODOS

Pacientes

Se estudia una serie de 27 pacientes del Hospital Universitario de Caracas, quienes fueron admitidos con ictericia. Incluye enfermos de ambos sexos (14 del sexo femenino y 13 del sexo masculino), con edades comprendidas entre 14 y 76 años.

TABLA I

Casuística

Nº Caso	Sexo	Edad	Dx. Clínico	Dx. A.P.
1	F	54	Ci	Ci
2	M	36	HCA	HCA
3	M	28	HA	—
4	M	28	HA	HA
5	F	28	HCA	HCA
6	M	65	Ci	Ci
7	F	68	HA	HA*
8	F	60	Ci	Ci
9	M	54	Ci(?)	Ci
10	M	49	HA	HA**
11	M	35	HA(?) H Alcol.(?)	Ci
12	M	56	HA	—
13	M	22	HA	—
14	M	29	HCA	HCA***
15	M	28	HA	—
16	F	23	HID Anti- conceptivos	Colestasis intrahepática
17	F	46	HID(?)	Ci
18	F	64	HCA	HCA
19	F	23	HID Clor- propamida	H Colestática
20	M	68	Ci	Ci
21	F	30	HA	—
22	F	57	HCA	HCA
23	F	50	HCA	HCA
24	F	28	HA	—
25	F	76	HCA	Ci
26	F	14	HA	—
27	M	24	HA	—

H, hepatitis; HA, hepatitis aguda; HCA, hepatitis crónica activa; Ci, cirrosis; HID, hepatopatía inducida por drogas; * en remisión, ** prolongada, *** en transición hacia cirrosis.

En las primeras 48 horas de hospitalización, cada paciente fue estudiado bioquímicamente e inmunológicamente, realizándosele: hematología completa, bilirrubina, aminotransferasa, fosfatasa alcalina, tiempo y actividad protrombínica y electroforesis de proteínas. Además, se investigó la presencia de complejos inmunológicos circulantes.

La casuística incluye 11 pacientes con hepatitis aguda, 6 pacientes con hepatitis crónica activa, 8 pacientes con cirrosis y 2 pacientes con hepatopatía inducida por drogas (tabla I). A un total de 19 pacientes se les realizó biopsia hepática. Ninguno de las pacientes recibía inmunosupresores (esteroides y/o azatioprina) en el momento de la obtención de la muestra de sangre para el estudio bioquímico e inmunológico.

En el grupo con hepatitis aguda, la enfermedad tuvo una evolución máxima limitada a 7 semanas, constatándose en 9 de los 11 casos el antígeno de superficie del virus de la hepatitis B. Solamente se consideró necesaria la biopsia hepática en dos casos. En el grupo con hepatitis crónica, la enfermedad tuvo una duración mayor de 6 meses; en 5 de los 6 casos se detectaron marcadores del virus de la hepatitis B (desconociéndose en uno la etiología). En todos los casos, la biopsia hepática confirmó el diagnóstico, encontrándose grados variables de actividad. En el grupo con cirrosis, aunque todos eran pacientes alcohólicos, en 4 se detectó presencia de marcadores inmunológicos de la hepatitis B; el grado de actividad histológica fue variable, y solamente en 3 casos se encontraron cambios morfológicos de hepatopatía alcohólica. En uno de los dos pacientes con hepatopatía inducida por drogas (anticonceptivo oral), solamente se encontró el anticore positivo.

MÉTODOS

La determinación de la actividad hemolítica total del suero se realizó por el método de Kent y Fife¹⁹, con valores normales entre 150 y 250 UH/ml. Los complejos inmunológicos se determinaron por dos métodos: radioinmunoensayo de células Raji²⁰ con estandarización de valores en 20 donantes normales de Banco de Sangre —30 ug equivalentes de GHA/ml (valor máximo obtenido de la \bar{X} de normales +2 DS); y ensayo de unión al Cl_q-fase fluida (Cl_q-BA)²¹ con estandarización en igual número de muestras —3,2% de Cl_q-I¹²⁵ ligado (valor máximo obtenido de la \bar{X} de normales +2 DS). Los anticuerpos antinucleares fueron detectados por la técnica convencional de inmunofluorescencia²². Por radioinmunoensayo (Abbott, Caracas)²³ se determinaron los siguientes marcadores virales para hepatitis B: antígeno de superficie (Ag_sHB), anticuerpo de superficie (Ac_sHB), anticuerpo del core (Ac_cHB) y antígeno e (Ag_eHB). Además, se determinó el anticuerpo de la hepatitis A (AcHA).

HALLAZGOS

En nuestra serie de 27 pacientes con enfermedades del hígado encontramos elevación de los CIC en 24 de ellos (88,9%), utilizando en forma combinada el Cl_q-BA y el método de células Raji. En la tabla II se discriminan los resultados para cada grupo en función del diagnóstico.

El 77,8% de nuestros pacientes mostraron uno o varios marcadores inmunológicos del virus de la hepatitis B.

En la tabla III se discrimina el porcentaje en función de la enfermedad y de acuerdo al marcador detectado.

No encontramos correlación entre los niveles de CIC y los niveles de aminotransferasas ($r=0,18^*$). Tampoco hubo correlación entre el grado de actividad histológica y los niveles de CIC en los casos de HCA y de cirrosis. Las determinaciones de complemento hemolítico (CH₅₀) en los diversos grupos estudiados revelaron cifras variables (normo-hipo-hipercomplementemia). Sin embargo, los casos con hipocomplementemia coincidieron con elevaciones de CIC (tabla IV). Todos los casos de HCA (1) y de cirrosis (4) con hipocomplementemia cursaron con elevación de los CIC. Las determinaciones de A.N.A. fueron negativas.

TABLA II

CIC en enfermedades del hígado

Diagnóstico	Nº de casos	RAJI	Cl _q -BA
HA	11	63,6	54,5
HCA	6	100	50,0
Ci	8	50,0	87,5
HID	2	0	50,0
CN*	20	0	0

* CN: Controles normales.

TABLA III

Marcadores inmunológicos del virus de la hepatitis B

Diagnóstico	Nº de casos	% DE POSITIVIDAD			
		Ag _s HB	Ac _s HB	Ac _c HB	Ag _e HB
HA	11	81,8	9,0	90,9	0
HCA	6	33,3	50,0	66,6	33,3
Ci	8	12,5	25,0	50,0	0
HID	2	0	0	50,0	0

TABLA IV

Hipocomplementemia y CIC en enfermedades del hígado

Diagnóstico	Nº de casos	CH ₅₀	Raji	Cl _q -BA
HA	2	86	94	2,34
		125	36	2
HCA	1	75	48	2,46
Ci	4	128	12,5	19,4
		106	130	7,2
		135	0	17,5
		96	300	4,31

* C(VN = 150-250UH/ml).

* Coeficiente de correlación por rango de Spearman.

TABLA V

Porcentaje de casos con CIC elevados en diversas enfermedades del hígado
(Revisión de la literatura)

DIAGNOSTICO	Cl _q -BA								C ₃		RAJI			
	(6) 1974	(8) 1977	(11) 1979	(12) 1979	(13) 1980	(14) 1980	(16) 1980	(18) 1980	●●●●	(15) 1980	(7) 1976	(9) 1978	(10) 1978	●●●●
Hepatitis aguda	71,4	20,0	78,5	35,4	—	—	100	31,6	54,5	100	52,9	—	—	63,6
Hepatitis crónica activa	—	57,5	87,5	46,6	44,8	100*	62,0	81,8	50,0	89	—	—	—	100
Hepatitis crónica persistente	85,7	0	—	25,0	—	—	89,0	—	—	32	—	—	—	—
Hepatitis lupoide	—	—	—	—	—	—	—	87,5	—	—	—	—	—	—
Hepatopatía alcohólica	—	—	—	—	—	—	—	96,0	—	—	—	—	—	—
Cirrosis	—	70,8	—	—	—	—	—	65,9 ^o	87,5	—	—	95,0 ^o	60,0 ^o	50,0
Hepatopatía inducida por drogas	—	—	—	—	—	—	—	78,0	50,0	—	—	—	—	0
Metástasis hepáticas	—	—	—	—	—	—	—	70,0	—	—	—	—	—	—
Portadores de Ag.HB	0	0	18,0	10,0	—	—	—	—	14,3	—	—	—	—	—
Enfermedades crónicas	—	—	—	—	—	—	—	25,0	—	—	—	—	—	—
Controles normales	—	—	—	—	—	—	—	4,0	0	—	3,3	—	—	0

●●●● — Resultados del presente trabajo.

* — Ag.HB positivo.

** — Ag.HB negativo.

^o — Solamente CI biliar primaria.

o — 76,5% en CI biliar primaria.

DISCUSION

En nuestra serie de 27 pacientes encontramos elevación de los complejos inmunológicos circulantes (CIC) en una proporción variable para cada grupo estudiado.

En nuestros casos, si los CIC se determinan usando el método de células Raji, el porcentaje más alto de positividad corresponde a la hepatitis crónica (100%); y si se utiliza el Cl_q-BA, el porcentaje mayor se encuentra en cirróticos (87,5%). En hepatitis aguda se encontraron niveles elevados en un poco más de la mitad de los casos, utilizando cualquiera de los dos métodos. Puede, por tanto, afirmarse que, mediante el empleo de ambos procedimientos, los niveles de CIC son más altos en las hepatopatías crónicas que en las hepatitis agudas.

Las diferencias entre los resultados obtenidos en una misma muestra entre Cl_q-BA y el método de Raji, podrían explicarse por las diferentes propiedades fisicoquímicas e inmunológicas de los componentes de los complejos (tamaño molecular, solubilidad)^{24,25}. Si se comparan nuestros resultados con lo publicado (tabla V), encontramos que solamente en las series de Sodomán y col.⁸ y Fukuda y col.¹⁶, los niveles de CIC son significativamente más altos en hepatopatías crónicas en comparación con las hepatopatías agudas. En las series de Nydegger y col.⁶ y de Sagnelli y col.¹⁵, no hay diferencia significativa entre los dos tipos de enfermedad.

En nuestra casuística no encontramos correlación entre los niveles de CIC y las siguientes variables: grado de actividad de la hepatopatía, y niveles más altos de aminotransferasas. Thomas y col.²⁶ encontraron en hepatitis crónica activa y hepatopatía alcohólica una correlación significativa entre los CIC (Cl_q-BA) y el grado de actividad. Trepó y col.¹² detectaron niveles más altos de CIC (CIC_q-BA) en hepatitis crónica activa no tratada en comparación con los casos tratados. Theophilopoulos y col.³ encontraron con mayor frecuencia CIC después que la bilirrubina alcanzó sus valores más altos, hallazgo de un todo similar al de Thomas y col.²⁶ para las aminotransfe-

rasas. Se ha documentado la reducción del CH₅₀ simultáneamente con la elevación de CIC en hepatopatías agudas²⁷. Cinco de nuestros seis pacientes con hipocomplementemia y elevación de CIC tenían hepatopatía crónica, por lo cual se hace difícil invocar consumo de complemento, ya que el descenso del mismo podría explicarse por un defecto de su síntesis en el hígado.

Los niveles elevados de CIC en hepatopatías pueden explicarse por un exceso de síntesis o por un déficit en la capacidad de remoción de los mismos por parte del sistema reticuloendotelial del hígado²⁸. Los CIC, en estas afecciones⁵ pueden estar, en parte, constituidos por el antígeno de superficie de la hepatitis B²⁹⁻³¹, el antígeno del core, el antígeno-e¹², por la proteína específica de la membrana del hepatocito¹⁵ y, probablemente, por la lipoproteína que constituye los cuerpos de Mallory¹⁶. Es posible también que participen partículas antigénicas no identificadas.

Si bien es cierto que hasta la fecha no ha sido posible demostrar el papel que juegan los CIC en la producción directa de daño hepático¹², el trabajo reciente de Sagnelli y col.¹⁵ demuestra que los pacientes con HCA, en los cuales una de las fracciones del CIC corresponde a la proteína específica de la membrana del hepatocito, tienen una evolución menos favorable (45% de mortalidad) que aquellos en los cuales dicha proteína no es detectada. Esto sugiere la posibilidad de utilizar este parámetro con fines de pronóstico.

Nuestros hallazgos, de carácter preliminar, están siendo complementados con el seguimiento de los pacientes. Por otra parte, en nuestros casos, el alto porcentaje de marcadores del virus de la hepatitis B impone tipificar inmunológicamente los componentes de los complejos inmunológicos circulantes.

AGRADECIMIENTO

Agradecemos a la señora Maruja Rappeti por su colaboración técnica, y a la señora Mercedes Golindano por la transcripción del manuscrito.

REFERENCIAS

1. Williams, R. C.: Immune complexes in clinical and experimental Medicine. Boston, Harvard Press, 1980.
2. McCluskey, R. T.; Hall, C. L., y Colvin, R. B.: Immune complex mediated diseases. Hum. Patol., 8: 71-84, 1978.
3. Theophilopoulos, A. N., y Dixon, F. J.: The biology and detection of immune complexes. Adv. Immunol., 28: 89-220, 1979.
4. Nowoskawski, A.: Hepatitis B virus - Induced immune complex disease. En progress in Liver Diseases (H. Popper, F. Schaffner, Eds.). Vol. VI, New York - San Francisco - London, Grune and Stratton, 1979, pp. 393-406.
5. Lawley, T. J.; James, S. P., y Jones, E. A.: Circulating immune complexes: Their detection and potential significance in some hepatobillar and intestinal diseases. Progress Article. Gastroenterology, 7: 626-641, 1980.
6. Nydegger, V. E.; Lambert, P. H.; Gerber, H., y Miescher, P. A.: Circulating immune complexes in the serum in systemic lupus erythematosus (SLE) and in carriers of hepatitis B antigen: quantitation of binding to radiolabelled Ciq. J. Clin. Invest. 54: 297, 1974.
7. Theophilopoulos, A. N.; Wilson, C.B., y Dixon, F. J.: The Raji cell radioimmune-assay for detecting immune complexes in human sera. J. Clin. Invest. 57: 169-182, 1976.
8. Sodomani, C.; Prokein, K.; Schmidt, H. y Haveman, K.: Arch. Hell. Med. Soc. Suppl. Vol. 3, 1977.
9. Wands, J. R.; Dienstag, J. L.; Bhan, A. K.; Feller, E. R., e Isselbacher, K. J.: Circulating immune complexes and complement activation in primary biliary cirrhosis. New Eng. J. of Med. 298: 233-237, 1978.
10. Gupta, R. C.; Dickson, E. R.; McDuffie, F. C., y Baggenstoss, A. H.: Circulating IgG complexes in primary biliary cirrhosis. A serial study in forty patients followed for two years. Clin. Exp. Immunol. 34: 19-27, 1978.
11. Carella, G.; Digeon, M.; Feldmann, G.; Jungers, P.; Drovot, J., y Bach, J. F.: J. Immn. Mexh. (en prensa). Citado en referencia siguiente.
12. Trepo, C.; Revillard, J. P., y Berthoux, F.: Immune complexes and pathogenesis of hepatitis B virus in infections. Immune reactions in liver disease. (A. L. W. F. Eddleston, J. C. P. Weber, R. Williams, Eds.) Bath, the Pitman Press, 1979, pp. 69-77.
13. Schena, F. P.; Pastore, G.; Pestora, G.; Angarano, L., y Pastore, A.: Circulating immune complexes in HB.Ag carriers with chronic hepatitis and other extrahepatic manifestations. International Meeting on HB.Ag related immune disease (Porto Cervo, Sardinia, Sept. 1979). Abst. Hepatology II: 38, 1980.
14. Radu, D.; Dumitrascu, D.; Paran, M.; Urcan, S.; Stanciu, L., y Ligia, N.: Circulating immune complexes and serum HB.Ag in chronic active hepatitis. 31st Annual Meeting of the AM Assoc. Study of Liver Disease. (Chicago, Nov. 1980). Abst. p. 51-D.
15. Sagnelli, E.; Behrens, V.; Trido, G.; Vernase, S. J., y Paronetto, F.: Liver antigen "LSP" - Containing immunocomplexes (IC) in liver diseases. 31st. Annual Meeting of AM Assoc. Study Liver Disease (Chicago, 1980). Abst. p. 57-A.
16. Abrass, C. K.; Border, W. A., y Hepner, G.: Non specificity of circulating immune complexes in patients with acute and chronic liver disease. Clin. Exp. Immunol. 40: 292-296, 1980.
17. Arima, T.; Narumoto, J.; Shmomyra, H.; Suwaki, K. Kunishi, K.; Yasuhara, T., y Nagshima, H.: Studies on circulating immune complexes of the liver disease. 4. Ciq binding activity. Gastroent Japonica 15: 27-32, 1980.
18. Fukuda, J.; Adachi, M.; Sano, M.; Imura, H., e Ito, K.: Detection and its clinical significance of circulating immune complexes by Ciq binding test in various liver disease. Acta Hepatol. Japonica 21: 816-822, 1980.
19. Kent, J. F., y Flife, E. M.: Precise standardization of reagent for complement fixation. Amer. J. Trop. Med. 12: 103-116, 1963.
20. Theophilopoulos, A. N.; Wilson, C. B., y Dixon, F. J.: The Raji cell radioimmune assay for detecting immune complexes in human sera. J. Clin. Invest. 57: 169-182, 1976.
21. Zubler, R. H.; Lange, G.; Lambert, P. H., y Miescher, P. A.: Detection of immune complexes in unheated sera by a modified ¹²⁵I-Ciq binding test. J. Immunol. 116: 232-235, 1976.
22. Tan Eng, M.: Antinuclear antibodies and the LE cell phenomenon. Diagnostic procedures. En Rheumatology and Immunology, pp. 80-85. Ed. Alan S. Cohen, New York, San Francisco. London. Grune. Snoton Inc., 1979.
23. Collier, J.; Millman, I.; Halbherr, T., y Blumberg, B.: Australia Antigen and Human Anti-Av. Detection by Radioimmunoassay. Fed. Proc. 30: 354 Abst., 1979.
24. Abrass, C. K.: Comparisons of assays for circulating immune En Batnett, E. V. moderator. Circulating immune complexes: their immunochemistry, detection and importance. Ann Intern Med. 91: 430-440, 1979.
25. Nielsen, H.: Circulating immune complexes: properties, methods for detection and disease models. Acta Pathologica et Microbiologica Scandinavica. Section C, 273 (suppl.): 28-41, 1980.
26. Thomas, H. C.; De Villiers, D.; Potter, B.; Hodgson, H.; Jain, S.; Jewell, D. P., y Sherlock, S.: Immune complexes in acute and chronic liver disease. Clin. Exp. Immunol. 31: 150-157, 1978.
27. Bonino, F.; Filippone, B.; Lavarini, C.; Recchas, S.; Crivelli, O.; Arrigoni, A., y Zrinchero, P.: Circulating immune complexes in acute type B hepatitis as detected by a solid phase radioimmuneassay for Ciq-binding activity - International meeting on HB.Ag related immune diseases (Porto Cervo, Sardinia, 1979). Hepatology, Vol. VII, Abst., p. 49, 1980.
28. Thomas, H. C.; MacSween, R. N. M., y Whire, R. G.: The role of the liver in controlling the immunogenicity of commensal bacteria in the gut. Lancet, i, 1288-1291, 1973.
29. Walsh, R. H.; Yalow, R., y Berson S. A.: Detection of Australia antigen and antibody by means of radioimmunoassay techniques. J. Infect Dis. 121: 550-554, 1970.
30. Collier, J.; Millman, I.; Halbherr, T. E., y Blumberg, B. S.: Radioimmunoprecipitation assay for Au antigen, antibody and antigen-antibody complexes. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 138: 249-257, 1971.
31. McIntosh, R. M.; Koss, M. N., y Gocke, D. J.: The nature and incidence of cryoproteins in hepatitis B antigen/HB.A./positive patients. Q. J. Med. 45: 23-38, 1976.