

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE MEDICINA DIVISION DE POSTGRADO

11262

14

2es.

**DETERMINACION DE AUTOANTICUERPOS  
ANTIPROLACTINA EN PACIENTES ADOLESCENTES  
CON LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO,  
CORRELACION CON NIVELES DE PROLACTINA  
SERICA Y CON ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD**

**TESIS**

PARA OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRIA EN CIENCIAS MEDICAS**

PRESENTA

**DRA. MA. GUADALUPE QUINTAL ALVAREZ**

**TUTOR: DR. FRANCISCO BLANCO FAVELA**

MEXICO, D.F.

JUNIO 1998

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

263817



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Mi mas sincero agradecimiento a:

Mi tutor

**Dr. Francisco Blanco Favela**

Por toda su paciencia y apoyo durante mi formación en la maestría, en la elaboración de la tesis y sobre todo por su amistad

A mis sinodales por su asesoría y apoyo

**Dr. Roberto Kretschmer Schmid**

**Dr. Juan Garduño Espinosa**

**Dr. Niels Wachter Rodarte**

**Dr. Vicente Baca Ruiz**

A mis compañeros y amigos

**Dalila Pascoe Lira**

**Rocío Herrera Marquez**

**Alfredo Leaños Miranda**

Por toda la enseñanza que me dejaron y por su amistad y apoyo sinceros

Dedico con todo mi amor este trabajo a mi hijo

**IRVING DANIEL**

Gracias por existir y ser mi principal razón para seguir adelante

A mi madre

**Aída Alvarez Mendez**

Por todo su apoyo, paciencia, comprensión y cariño

A mis hermanos

**José, Marco Antonio y Rosa**

Por su apoyo incondicional

## INDICE

	Página
Resumen. . . . .	2
Antecedentes . . . . .	4
Justificación. . . . .	11
Planteamiento del Problema . . . . .	11
Objetivos. . . . .	12
Hipótesis. . . . .	12
Material y Métodos . . . . .	13
Resultados. . . . .	17
Discusión. . . . .	21
Conclusiones . . . . .	23
Tablas. . . . .	24
Gráficas. . . . .	29
Anexos. . . . .	37
Bibliografía. . . . .	43

## RESUMEN

El Lupus Eritematoso Sistémico (LES) es una enfermedad reumática autoinmune con predominio en el sexo femenino, en la 2ª y 3ª décadas de la vida. Se caracteriza por presentar una amplia gama de autoanticuerpos dirigidos contra diferentes estructuras citoplásmicas y nucleares. Los pacientes con LES pueden presentar hiperprolactinemia (HPRL) como parte de sus alteraciones.

Recientemente se demostró la existencia de autoanticuerpos antiprolactina (anti-PRL) en pacientes adultos con HPRL idiopática sin enfermedad autoinmune, observándose además que los pacientes que tenían estos autoanticuerpos no presentaban manifestaciones clínicas de HPRL (galactorrea, alteraciones menstruales).

El objetivo de nuestro estudio fue establecer la frecuencia de autoanticuerpos antiprolactina en el paciente pediátrico con LES, y determinar si su presencia se relaciona con los niveles séricos de prolactina (PRL) y/o con actividad de la enfermedad.

Estudiamos 103 pacientes con LES, de 9 a 16 años de edad, de ambos sexos, atendidos en la consulta externa del servicio de Reumatología e Inmunología del Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional Siglo XXI, del Instituto Mexicano del Seguro Social. Se realizó una historia clínica (incluyendo evaluación de la actividad lúpica a través del índice de SLEDAI) y simultáneamente se tomó una muestra de 10 cc de sangre periférica para la determinación de los niveles séricos de PRL y la búsqueda de los autoanticuerpos anti-PRL.

En nuestro estudio la frecuencia de pacientes con actividad lúpica fue del 62%. La frecuencia de HPRL fue del 31%, de los cuales el 78.1% se encontraba con actividad lúpica.

La frecuencia de autoanticuerpos anti-PRL fue de 6.8% en el grupo estudiado, y en el grupo con HPRL la frecuencia fue de 21.56%. Todos los pacientes fueron del sexo femenino y cursaban con HPRL, cinco se encontraban activas y dos inactivas, la variedad de LES más frecuente en este grupo fue la mucocutánea y articular, los niveles séricos de PRL en este grupo fueron mayores que en los pacientes sin autoanticuerpos anti-PRL. No encontramos diferencias en edad, tiempo de evolución ni tratamiento entre los pacientes con y sin autoanticuerpos anti-PRL. Ninguna de las pacientes con autoanticuerpos anti-PRL presentó alteraciones menstruales.

En este trabajo demostramos una asociación positiva entre HPRL y autoanticuerpos anti-PRL, no hubo correlación entre la presencia de los autoanticuerpos anti-PRL y la actividad de la

enfermedad. También encontramos una correlación positiva entre los niveles séricos de PRL y el título de los autoanticuerpos anti-PRL.

En conclusión, este es el primer reporte de autoanticuerpos anti-PRL en el paciente pediátrico con LES. Su presencia se correlacionó con los niveles séricos de PRL pero no con la actividad de la enfermedad, esto último quizás se debió al bajo poder del estudio y al diseño utilizado. Aunque con este estudio no es posible establecer el origen de los autoanticuerpos anti-PRL, su asociación con la HPRL nos permite inferir que quizás estos autoanticuerpos puedan tener alguna acción biológica protectora ya que ninguna de las pacientes con autoanticuerpos anti-PRL presentó datos clínicos de HPRL.

## ANTECEDENTES

### LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO

El Lupus Eritematoso Sistémico (LES) es una enfermedad reumática autoinmune que afecta mas frecuentemente al sexo femenino (1,2), esto se relaciona con factores hormonales, existe evidencia tanto en modelos experimentales como en humanos de que el sexo femenino presenta mayor reactividad humoral y mayor prevalencia de enfermedades autoinmunes que el sexo masculino (1). En LES se ha demostrado que los andrógenos ejercen un efecto depresor y los estrógenos un efecto estimulador sobre la actividad de la enfermedad (2). La mayor prevalencia de LES se encuentra principalmente en la segunda y tercera décadas de la vida (3). Es una enfermedad poco frecuente en la edad pediátrica, en E.U.A. se estima que están afectados 0.6 de cada 100,000 niños, constituyendo cerca del 10% de su consulta de reumatología pediátrica. El inicio del LES antes de los 5 años de edad es extremadamente raro, y la mayor parte de los pacientes inician su enfermedad durante la adolescencia. También en la etapa pediátrica se observa mayor frecuencia de mujeres en una relación 3:1 (4).

En 1968, Meislin y Rothfield reportaron que el pronóstico del LES en la infancia es mas grave que en los adultos, sin embargo, estudios posteriores han demostrado que no hay diferencia tanto en el pronóstico como en las manifestaciones clínicas entre adultos y niños, aunque cabe mencionar que la afección renal es más frecuente en los niños (3).

El LES se caracteriza por la presencia de autoanticuerpos y complejos inmunes (5) que median respuestas inflamatorias afectando varios órganos y sistemas. Dentro de las probables etiologías de esta enfermedad se han considerado factores humorales, infecciosos, endocrinos y por medicamentos (en niños se ha asociado con el uso de anticonvulsivantes) (4). La mayoría de los pacientes pediátricos con LES presentan síntomas articulares y/o hematológicas al inicio de la enfermedad (4). El diagnóstico clínico se determina cuando el paciente presenta 4 o más de los criterios establecidos por la Asociación Americana de Reumatología (ARA) (Anexo 1) y se confirma mediante exámenes inmunológicos como son la determinación de anticuerpos antinucleares, anticuerpos anti-DNA, anticuerpos anti-Sm, etc. (6,7)

## PROLACTINA

La hormona polipeptídica lactotrópica prolactina (PRL), es secretada por células de la hipófisis anterior. En ausencia de estímulos tales como la succión o el estrés, la secreción de PRL es regulada únicamente por la dopamina hipotalámica. Sin embargo, se ha documentado que la autorregulación de la PRL no se lleva a cabo únicamente por vía hipofisiarias sino también a través de la eminencia media del hipotálamo (8). La PRL regula varios procesos bioquímicos requeridos para el crecimiento y la división celular (9).

La PRL fue descrita en 1928 como una sustancia lactogénica presente en extractos de hipófisis de vaca. Hasta 1970 se identificó esta hormona en sangre humana a través de inmunoanálisis, demostrándose que se trata de una sustancia inmunológicamente distinta a la hormona del crecimiento (10). La hormona PRL esta presente en la hipófisis humana en una proporción de 1:100 con respecto a la hormona del crecimiento, también se encuentra en concentraciones relativamente altas en líquido amniótico (10).

El gen de la PRL se localiza en el cromosoma 6 y contiene 16 kb que codifican para una proteína globular de una sola cadena de 198 aminoácidos, con un peso molecular de 23,000 daltons.

En los vertebrados, esta hormona tiene una amplia variedad de acciones biológicas, hasta el momento se han identificado mas de 89, algunas de sus funciones son: Mamotrópica, lactogénica, osmoregulación, desarrollo y crecimiento, metabolismo de lípidos y carbohidratos, reproducción y, de importancia para nuestro estudio, cabe mencionar su actividad inmunomoduladora (11).

Cada una de las hormonas de la hipófisis anterior se encuentra bajo el control del hipotálamo, por lo que su secreción puede estar influenciada por estímulos suprahipotalámicos tales como: medio ambiente, ritmo de sueño/vigilia, estrés físico o emocional, etc. Las células del sistema inmune son afectadas directamente por la hormona del crecimiento y por la prolactina. La PRL se une a receptores específicos en varios tipos de linfocitos, estimulando así la proliferación de citoquinas y su secreción por los linfocitos, siendo un factor esencial para el desarrollo de líneas de células linfoides (12).

Las propiedades inmunomoduladores de la PRL se han demostrado "in vitro" y en modelos animales, por ejemplo, en modelos de ratón NZB X NZWF que padecen una enfermedad similar al LES, se ha demostrado que la PRL tiene efectos sobre la respuesta inmunitaria, al

inducirle hiperprolactinemia crónica por trasplante singénico de glándulas pituitarias debajo de la cápsula renal, se incrementan la albuminuria y los complejos inmunes gp70-anti-gp70, desarrollan hipergamaglobulinemia rápidamente y finalmente presentan una mortalidad temprana secundaria a nefritis por complejos inmunes (11,13). Por el contrario, los ratones NZB X NZBWF que recibieron bromocriptina a largo plazo presentaron tardíamente la aparición de anticuerpos anti-DNA y la hipergamaglobulinemia, incrementándose el tiempo promedio de supervivencia. En los ratones en los que se ha inducido hiperprolactinemia artificialmente se ha encontrado correlación entre los niveles séricos de PRL y el número de células esplénicas productoras de anticuerpos (11,13).

Otra acción de la PRL es sobre la función gonadal en ambos sexos, al parecer esta relación es bidireccional. La hiperprolactinemia puede asociarse con hipogonadismo en ambos sexos y amenorrea primaria ó secundaria (14, 15).

#### Control de la secreción de PRL

La PRL tiene su control inhibitorio en el hipotálamo a través de la dopamina, la cual es liberada del hipotálamo hacia los vasos portales (8). Aunque la forma predominante de la regulación de PRL es la inhibición, los factores liberadores de PRL también existen. La hormona liberadora de tirotrópina fue descubierta como coestimulante de la secreción de PRL por Tashjian y colaboradores en las células hipofisarias "in vitro". Este efecto se ha demostrado también "in vivo", pero al parecer no es un importante regulador biológico (10).

Otros estudios, han documentado que la PRL es sintetizada y secretada también en células mononucleares, líneas linfoblastoides de células B humanas y linfocitos de sangre periférica (16-18).

Los receptores para PRL se incluyen en la familia de receptores para PRL/hormona del crecimiento, los cuales comprenden al menos 10 tipos de receptores, entre los cuales están los receptores para citoquinas, hormona del crecimiento y eritropoyetina. Estos receptores están expresados en varios tejidos entre los que se incluyen los linfocitos murinos, células T humanas, células B, monocitos y epitelio de timo y bazo (19, 21).

Existen diversos factores que influyen en la secreción de PRL: fisiológicos (10) (sueño, lactancia, estrés físico o emocional, hipoglucemia, embarazo, edad, ciclo menstrual, estrógenos y ciclo circadiano), y farmacológicos (22-25).

Los niveles séricos de PRL en la edad pediátrica son iguales para ambos sexos (5 ng/ml en promedio), y en los adultos varía dependiendo del sexo siendo ligeramente mayor en las mujeres que en los hombres (26, 27). Al igual que otras hormonas su secreción <sup>es</sup> cíclica, siendo de mayor amplitud durante el sueño, en forma contraria a la hormona del crecimiento (10,26). En la adolescencia no se ha determinado cuales serían las concentraciones séricas de esta hormona y se utilizan como valores de referencia los de adultos. Se deduce que al iniciar la adolescencia esta hormona tenderá a ser mas elevada en mujeres que en hombres, sin embargo, en un estudio que realizaron Guyde y colaboradores (27) se observa que los niveles séricos de PRL no presentan una diferencia significativa entre ambos sexos en la adolescencia, lo cual llama la atención ya que actualmente se sabe que los estrógenos influyen en forma positiva en la secreción de PRL.

#### Condiciones patológicas

Existen numerosas causas para una producción excesiva de PRL, entre ellas podemos mencionar a los tumores pituitarios, <sup>enfermedades</sup> (desordenes) hipotalámicos (inflamación, tumores, traumatismos), hipotiroidismo, medicamentos (Varios medicamentos elevan los niveles séricos de PRL, como la clorpromacina, labetalol, alfametildopa, difenilhidantoína entre otros, algunos se han asociado a la presencia de autoanticuerpos - drogas relacionadas a LES, "lupus-like" o a exacerbaciones de la enfermedad), neurogénicas (por ejemplo enfermedades de pared torácica: herpes zoster, trauma, tumores), procesos inflamatorios del pezón, y las idiopáticas (26).

La hiperprolactinemia frecuentemente interfiere con la función gonadal normal, ocasionando en forma secundaria retraso en el desarrollo puberal, cuyo tratamiento se basa principalmente en la supresión de la producción de PRL a través del uso de bromocriptina (14, 23).

#### HIPERPROLACTINEMIA Y LES

La PRL estimula la respuesta inmune y el paciente con LES que cursa con hiperprolactinemia puede presentar mayor actividad de la enfermedad, principalmente durante el embarazo y el parto (28). Sin embargo, algunos autores no han encontrado esta asociación entre hiperprolactinemia y aumento de actividad lúpica (29-31).

El primer reporte de hiperprolactinemia en hombres con LES fue realizado por Lavallo en 1987 (32), y en mujeres embarazadas por Jara en el mismo año (33), relacionándolo con la actividad de la enfermedad.

Las causas de los niveles altos de PRL (hiperprolactinemia) en LES no han sido bien entendidas, en algunos pacientes se han encontrado causas que pueden explicar la presencia de hiperprolactinemia como son: adenoma hipofisiario funcional, embarazo, insuficiencia renal, medicamentos e insuficiencia tiroidea. Sin embargo, en la mayor parte de los pacientes no fue posible determinar la etiología de la hiperprolactinemia (20, 33), es probable que en estos casos los pacientes tengan microprolactinomas que no son identificados con las pruebas de diagnóstico disponibles o bien que su origen sea linfoide. Sin embargo, al parecer la PRL de origen linfocitario solo tiene funciones autocrinas o paracrinas y aún no se encuentra bien esclarecido que cantidad de PRL de origen linfocitario pueda alcanzar la circulación sanguínea. Otra posible explicación sería que la hipófisis anterior sea estimulada por altas concentraciones de citocinas para liberar PRL (20). Se ha demostrado que las citocinas juegan un papel importante en la modulación del sistema neuroendócrino, particularmente con respecto a la secreción de hormonas de la hipófisis anterior. La interleucina 1 (IL-1) es la citocina más potente que estimula la secreción hormonal en el eje hipotálamo-hipófisis-glándulas adrenales. Las otras citocinas que participan en el proceso inflamatorio (IL-6 y FNT-  $\alpha$ ) y la IL-2 muestran esta misma acción biológica actuando sobre el eje hipotálamo-hipófisis-glándulas adrenales. (20, 34-36). Se ha encontrado también una relación entre IL-6 e incremento de la secreción de PRL hipofisiaria en pacientes con LES neurológico, con altas concentraciones de IL-6 y PRL en líquido cefalorraquídeo (11).

En estudios de pacientes pediátricos con LES en etapa prepuberal para determinar la existencia de hiperprolactinemia, no se ha encontrado elevación ni de PRL ni de otras hormonas como estrógenos, FSH y LH (37- 39). Sin embargo, en un estudio reciente, Garf (40) encontró la presencia de hiperprolactinemia en el 9% de niños prepuberes con LES, asociándose además a manifestaciones neurológicas de la enfermedad.

#### AUTOANTICUERPOS ANTIPROLACTINA

El suero de los pacientes con LES está caracterizado por su reactividad a un amplio espectro de componentes nucleares, citoplásmicos y de la membrana celular. Entre estos anticuerpos

antinucleares se han estudiado más extensamente los que se dirigen contra DNA, RNA, Sm, Ro, La, histonas y poliADP-ribosa (41).

Algunos anticuerpos (anti-DNA y Ro) muestran especificidad para LES, algunos están asociados con características clínicas particulares (42), como por ejemplo, los anticuerpos Ro se relacionan con lupus cutáneo subagudo, lupus neonatal y lupus seronegativo, los anticuerpos anti-La están usualmente presentes en los pacientes que cursan en forma concomitante con Síndrome de Sjogren (41), los anticuerpos dirigidos contra las ribonucleoproteínas (Sm, Ro/SSA y La/SSD) son de utilidad pronóstica para daño renal en nefritis lúpica (43-45). También se ha documentado la presencia de anticuerpos dirigidos contra la sulfatida (ácido glicosfingolípido constituyente de la membrana celular en el cerebro, riñón y otros tejidos), que se habían encontrado previamente en la hepatitis crónica activa autoinmune. Se ha relacionado la presencia de estos anticuerpos con la afección neurológica en los pacientes de LES (46).

Por otro lado, ha sido demostrado que la PRL influye en la producción de anticuerpos en el paciente con LES. Gutiérrez y colaboradores (47) demostraron en un estudio *in vitro* que al aplicar altas concentraciones de PRL a células mononucleares de individuos con LES y de sujetos normales se indujo un incremento en la síntesis de inmunoglobulinas y de anticuerpos anti-DNA.

En forma análoga, Mc Murray (48) observó que en niños con artritis reumatoide juvenil los niveles de prolactina sérica fueron significativamente mayores en los que tenían anticuerpos antinucleares positivos que en los que estos anticuerpos eran negativos, sin haber relación con la intensidad de la enfermedad, lo que nos habla de la hiperreactividad celular en los pacientes con enfermedades autoinmunes.

Los autoanticuerpos antiprolactina (anti-PRL) fueron reportados por primera vez en el suero de pacientes adultos con hiperprolactinemia idiopática por Hattori y colaboradores en 1992 (49). Los pacientes con autoanticuerpos anti-PRL no presentaban síntomas de hiperprolactinemia tales como amenorrea o galactorrea, lo que sugiere que quizás los anticuerpos anti-PRL tengan alguna significancia biológica protectora (49-51). El análisis demostró que se trata de una inmunoglobulina G con alta capacidad y baja afinidad. En 1994, Hattori (52) reportó una frecuencia de autoanticuerpos antiprolactina del 16% en pacientes con

antinucleares se han estudiado más extensamente los que se dirigen contra DNA, RNA, Sm, Ro, La, histonas y poliADP-ribosa (41).

Algunos anticuerpos (anti-DNA y Ro) muestran especificidad para LES, algunos están asociados con características clínicas particulares (42), como por ejemplo, los anticuerpos Ro se relacionan con lupus cutáneo subagudo, lupus neonatal y lupus seronegativo, los anticuerpos anti-La están usualmente presentes en los pacientes que cursan en forma concomitante con Síndrome de Sjogren (41), los anticuerpos dirigidos contra las ribonucleoproteínas (Sm, Ro/SSA y La/SSD) son de utilidad pronóstica para daño renal en nefritis lúpica (43-45). También se ha documentado la presencia de anticuerpos dirigidos contra la sulfatida (ácido glicosfingolípido constituyente de la membrana celular en el cerebro, riñón y otros tejidos), que se habían encontrado previamente en la hepatitis crónica activa autoinmune. Se ha relacionado la presencia de estos anticuerpos con la afección neurológica en los pacientes de LES (46).

Por otro lado, ha sido demostrado que la PRL influye en la producción de anticuerpos en el paciente con LES. Gutiérrez y colaboradores (47) demostraron en un estudio *in vitro* que al aplicar altas concentraciones de PRL a células mononucleares de individuos con LES y de sujetos normales se indujo un incremento en la síntesis de inmunoglobulinas y de anticuerpos anti-DNA.

En forma análoga, Mc Murray (48) observó que en niños con artritis reumatoide juvenil los niveles de prolactina sérica fueron significativamente mayores en los que tenían anticuerpos antinucleares positivos que en los que estos anticuerpos eran negativos, sin haber relación con la intensidad de la enfermedad, lo que nos habla de la hiperreactividad celular en los pacientes con enfermedades autoinmunes.

Como una analogía podemos mencionar el estudio realizado en 1997 por Maule y cols. (56) en el que se demostró la presencia de autoanticuerpos dirigidos contra estructuras nerviosas del sistema autónomo en pacientes con LES y Artritis Reumatoide (AR). En este estudio no se encontró correlación entre la presencia de estos autoanticuerpos y la duración de la enfermedad o tipo de tratamiento que recibieron los pacientes. Estos autoanticuerpos se encontraron en el 18% de los pacientes y en nadie del grupo control. En conclusión, el estudio sugiere que la presencia de estos autoanticuerpos dirigidos contra estructuras nerviosas del

sistema autónomo puede jugar un papel en la patogenia de la disfunción autonómica de los pacientes con LES.

Los autoanticuerpos antiprolactina (anti-PRL) fueron reportados por primera vez en el suero de pacientes adultos con hiperprolactinemia idiopática por Hattori y colaboradores en 1992 (49). Los pacientes con autoanticuerpos anti-PRL no presentaban síntomas de hiperprolactinemia tales como amenorrea o galactorrea, lo que sugiere que quizás los anticuerpos anti-PRL tengan alguna significancia biológica protectora (49-51). El análisis demostró que se trata de una inmunoglobulina G con alta capacidad y baja afinidad. En 1994, Hattori (52) reportó una frecuencia de autoanticuerpos antiprolactina del 16% en pacientes con hiperprolactinemia idiopática sin enfermedad autoinmune y una correlación positiva ( $r_s = 0.74$ ) entre los títulos de autoanticuerpos antiprolactina y los niveles séricos de PRL.

El origen de estos autoanticuerpos no es muy claro, ya que es probable que los niveles elevados de PRL circulante induzcan su producción, es decir, al unirse la PRL con el autoanticuerpo quizás altere los mecanismos de producción de esta hormona a nivel hipotalámico o hipofisiario ocasionando que exista una hipersecreción de la PRL. Por otro lado, la hiperprolactinemia quizás también esté relacionada con la presencia de estos autoanticuerpos, ya que al unirse los autoanticuerpos antiprolactina a la PRL circulante no permiten que esta última sea excretada por vía renal, lo cual al seguirse produciendo la PRL, incrementa en forma secundaria los niveles circulantes de la misma.

Si la hiperprolactinemia condiciona la aparición de los autoanticuerpos antiprolactina, o si estos son los que inducen la elevación de los niveles séricos de PRL es un hecho que solo podrá dilucidarse claramente en modelos experimentales, sin embargo, consideramos que es importante el hecho de documentar la presencia de estos autoanticuerpos en el paciente con LES, en el que la hiperprolactinemia juega un papel importante en su patogenia.

## **JUSTIFICACION**

Los pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES) se caracterizan por la producción de diversos autoanticuerpos, algunos de ellos se relacionan en forma directa con la actividad de la enfermedad o con algunas de sus características clínicas.

Por otro lado, los pacientes con LES pueden cursar con hiperprolactinemia, como parte de su enfermedad por lo que resulta lógico pensar que la hiperreactividad propia del LES condicione la producción de autoanticuerpos dirigidos contra la prolactina.

Se ha documentado la existencia de estos autoanticuerpos en pacientes con hiperprolactinemia secundaria a enfermedades no autoinmunes.

Por lo anterior, es de nuestro interés investigar si estos autoanticuerpos se presentan en el paciente pediátrico con LES, cuál es su frecuencia, y si se correlacionan con los niveles séricos de prolactina y/o con la actividad de la enfermedad.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

1. ¿Cuál es la frecuencia de autoanticuerpos antiprolactina en el paciente adolescente con Lupus Eritematoso Sistémico?
2. ¿Los niveles séricos de prolactina estarán relacionados con la presencia de los autoanticuerpos antiprolactina?
3. ¿Los autoanticuerpos antiprolactina tendrán alguna relación con la actividad de la enfermedad?

## **JUSTIFICACION**

Los pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES) se caracterizan por la producción de diversos autoanticuerpos, algunos de ellos se relacionan en forma directa con la actividad de la enfermedad o con algunas de sus características clínicas.

Por otro lado, los pacientes con LES pueden cursar con hiperprolactinemia, como parte de su enfermedad por lo que resulta lógico pensar que la hiperreactividad propia del LES condicione la producción de autoanticuerpos dirigidos contra la prolactina.

Se ha documentado la existencia de estos autoanticuerpos en pacientes con hiperprolactinemia secundaria a enfermedades no autoinmunes.

Por lo anterior, es de nuestro interés investigar si estos autoanticuerpos se presentan en el paciente pediátrico con LES, cuál es su frecuencia, y si se correlacionan con los niveles séricos de prolactina y/o con la actividad de la enfermedad.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

1. ¿Cuál es la frecuencia de autoanticuerpos antiprolactina en el paciente adolescente con Lupus Eritematoso Sistémico?
2. ¿Los niveles séricos de prolactina estarán relacionados con la presencia de los autoanticuerpos antiprolactina?
3. ¿Los autoanticuerpos antiprolactina tendrán alguna relación con la actividad de la enfermedad?

## **OBJETIVOS**

### **GENERAL**

Conocer la frecuencia de autoanticuerpos antiprolactina en el paciente adolescente con LES, y determinar si la presencia de los mismos se correlaciona con los niveles séricos de prolactina y/o con la actividad de la enfermedad.

### **ESPECIFICOS**

1. Medir la frecuencia de autoanticuerpos antiprolactina en el paciente adolescente con LES.
2. Establecer la correlación entre los niveles séricos de prolactina y la presencia de autoanticuerpos antiprolactina.
3. Investigar si existe correlación entre la presencia de autoanticuerpos antiprolactina y la actividad lúpica.

## **HIPOTESIS**

1. La frecuencia de autoanticuerpos antiprolactina en pacientes adolescentes con LES es del 10%.
2. Los autoanticuerpos antiprolactina se correlacionan en forma positiva en los pacientes adolescentes con LES.
3. La actividad lúpica se correlaciona en forma negativa con los autoanticuerpos antiprolactina.

## **OBJETIVOS**

### **GENERAL**

Conocer la frecuencia de autoanticuerpos antiprolactina en el paciente adolescente con LES, y determinar si la presencia de los mismos se correlaciona con los niveles séricos de prolactina y/o con la actividad de la enfermedad.

### **ESPECIFICOS**

1. Medir la frecuencia de autoanticuerpos antiprolactina en el paciente adolescente con LES.
2. Establecer la correlación entre los niveles séricos de prolactina y la presencia de autoanticuerpos antiprolactina.
3. Investigar si existe correlación entre la presencia de autoanticuerpos antiprolactina y la actividad lúpica.

## **HIPOTESIS**

1. La frecuencia de autoanticuerpos antiprolactina en pacientes adolescentes con LES es del 10%.
2. Los autoanticuerpos antiprolactina se correlacionan en forma positiva en los pacientes adolescentes con LES.
3. La actividad lúpica se correlaciona en forma negativa con los autoanticuerpos antiprolactina.

## SUJETOS, MATERIAL Y METODOS

LUGAR DE ESTUDIO: Unidad de Investigación Médica en Inmunología, Servicio de Inmunología y Reumatología, Hospital de Pediatría del CMN Siglo XXI del IMSS. Servicio de Inmunología, Instituto Nacional de Pediatría.

### DISEÑO :

1. Para el objetivo específico 1: Transversal descriptivo.
2. Para los objetivos específicos 2 y 3: Transversal comparativo.

*bastaría con decir que es un estudio transversal*

### DEFINICION OPERATIVA DE VARIABLES

- Autoanticuerpos antiprolactina: Se determinará su presencia en el suero de los pacientes utilizando inmunoprecipitación de complejos PRL- IgG y se confirmará por medio de la cromatografía de afinidad con proteína G acoplada a sepharosa .

Escala de medición: Nominal

Categoría de la variable: Con anticuerpos antiPRL

Sin anticuerpos antiPRL

- Niveles séricos de prolactina: Se determinarán por medio de cuantificación sérica de PRL libre y total por el método de análisis de radioinmunometría (IRMA).

Escala de medición: Cuantitativa continua

Categoría de la variable: ng/ml

- Actividad del LES: Se medirá en forma simultánea a la toma de muestra de sangre utilizando un índice de actividad de la enfermedad (SLEDAI)(Anexo 1).

Escala de medición: Nominal

Categoría de la variable: 0 puntos = Inactivo

1 ó mas puntos = Activo

- Tratamiento con medicamentos inmunomoduladores y medicamentos que alteran la secreción de prolactina: Se investigaron los medicamentos utilizados en los 3 meses previos a la toma de la muestra de sangre.

Escala de medición : Cuantitativa continua

Categoría de la variable: mg/K/día

## CARACTERISTICAS DEL GRUPO DE ESTUDIO

Criterios de inclusión:

- Ambos sexos
- Edad: 9 a 16 años
- Diagnóstico confirmado de LES de acuerdo a los criterios de la ACR (Anexo 2)
- Pacientes atendidos en el Servicio de Inmunología y Reumatología del Hospital de Pediatría del CMN SXXI y en el Servicio de Inmunología del INP

Criterios de exclusión:

- Pacientes con datos clínicos y/o de laboratorio incompletos

## CALCULO DEL TAMAÑO DE MUESTRA

Para el objetivo 1: No se conoce la frecuencia de anticuerpos antiprolactina en el paciente pediátrico con LES, por lo que utilizamos la fórmula para estimar la proporción de un evento en una población, con una frecuencia mínima esperada del 5% y el IC 95% se obtuvo un tamaño de muestra de 73 pacientes.

Para los objetivos 2 y 3:

Utilizando los datos obtenidos por Hattori en pacientes hiperprolactinemia idiopática sin enfermedad autoinmune, con  $r = 0.74$  aceptando un nivel alfa de 0.05 bimarginal y un nivel beta de 0.20 se obtuvo un tamaño de muestra de 13 pacientes con autoanticuerpos anti-PRL.

## ANALISIS ESTADISTICO

Para determinar las frecuencias de las variables de interés se utilizaron las medidas de tendencia central y de dispersión de acuerdo a la distribución de las variables.

Para investigar la correlación entre las variables de estudio se utilizaron las siguientes pruebas estadísticas:

- Prueba de chi cuadrada con corrección de Yates para variables nominales (sexo, actividad lúpica, autoanticuerpos antiprolactina, hiperprolactinemia, tratamiento con cloroquina).

- t de student para muestras independientes ó U de Mann-Whitney (según la distribución para variables continuas (edad, tiempo de evolución de la enfermedad, porcentaje de unión, dosis de prednisona, niveles séricos de PRL y calificación del índice SLEDAI).

El nivel de significancia estadística es en todos los casos de 0.05 bimarginal para una hipótesis nula.

## DESCRIPCION GENERAL DEL ESTUDIO

Estudiamos a todos los pacientes atendidos en los Servicios de Inmunología de los hospitales pediátricos antes mencionados, en un periodo comprendido del 1 de junio de 1996 al 30 de agosto de 1997. Se les realizó una historia clínica, determinandose a la vez la actividad de la enfermedad utilizando un instrumento ya validado (SLEDAI) (53). Simultáneamente, se realizó la extracción de 10 ml de sangre por venopunción periférica, en ayuno. El suero se guardo a - 40°C hasta el momento de su procesamiento.

Posteriormente se efectuaron las determinaciones de PRL y anticuerpos anti-PRL (Anexo 3), y de acuerdo a los resultados se realizó el análisis y las conclusiones.

## ASPECTOS ETICOS

En todos los casos se solicitó autorización previa del paciente y de su padre o tutor (Anexo 4), el riesgo de complicaciones secundarias a la venopunción fue mínimo y se les explicó a los pacientes antes de realizar el procedimiento. No se intervino en el manejo médico del paciente por lo que no implicó problemas éticos.

## PERSONAL Y RECURSOS FISICOS Y FINANCIEROS

Personal de investigación: Investigador, Tutor, Laboratorista y Asesor Metodológico.

Recursos físicos: Unidad de Investigación Médica en Inmunología, Hospital de Pediatría del CMN Siglo XXI.

Recursos financieros: Los gastos concernientes a material y reactivos de laboratorio fueron cubiertos por la Unidad de Investigación en Inmunología.

## RESULTADOS

Se estudiaron un total de 103 pacientes con LES, la distribución por sexo fue de 88 mujeres y 15 hombres, una relación mujer:hombre de 6.4:1. La edad promedio de  $13.73 \pm 1.92$  años (amplitud 9 - 16 ).

El tiempo promedio de evolución de la enfermedad fue de  $23.75$  meses  $\pm 20.14$  meses (amplitud 2 – 132, mediana de 20). Las características clínicas y demográficas de los 103 pacientes con LES se muestran en la tabla 1.

De acuerdo a la calificación del SLEDAI 64 pacientes (62%) se encontraban activos y 39 pacientes inactivos, considerándose como activos aquellos que presentaron una calificación de 1 punto o mas, el promedio del puntaje obtenido fue de  $5 \pm 6.6$  (amplitud de 0 a 30 puntos, mediana de 2).

Las manifestaciones clínicas más frecuentes del grupo de pacientes de LES fueron mucocutáneas y articulares (48.5%), seguida de la afección renal (15.5%).

La concentración sérica de PRL fue de  $19.41 \pm 12.42$  ng/ml (amplitud 4.7 – 71, mediana de 16.75). En 32 pacientes (31%) se encontró hiperprolactinemia (HPRL) definida como una concentración sérica de PRL mayor de 20 ng/ml , la frecuencia de HPRL en hombres fue de 2/15 (13.33%) y en mujeres fue de 30/88 (34%).

En cuanto a desarrollo sexual, 20 pacientes (24.44%) aún presentaban amenorrea primaria al momento del estudio, de estas 20 pacientes, 3 (15%) tenían desarrollo sexual secundario con Tanner mamario y genital III. Un total de 5 pacientes (5.55%) presentaron alteraciones menstruales (amenorrea secundaria), ninguna de ellas recibió tratamiento hormonal 2 meses previos al estudio.

### ACTIVIDAD LUPICA Y LES

Se encontraron 64 pacientes (62%) con actividad lúpica, sus características clínicas y demográficas se presentan en la tabla 2. La edad promedio, el tiempo de evolución y la FUM fueron similares entre los pacientes con y sin actividad de la enfermedad. Hay mayor predominio del sexo femenino en los pacientes con actividad lúpica, sin embargo, esta diferencia no es significativa (90.62% vs 76.9%,  $p = 0.1043$ ). La variedad clínica de LES más frecuente en ambos grupos fue la MCA, en segundo lugar, la afección renal en los pacientes activos y la afección neurológica en los no activos.

Los niveles séricos de prolactina promedio fueron significativamente mayores en los pacientes con actividad lúpica (21.71 vs 15.62 ng/ml,  $p = 0.01$ ), al igual que la frecuencia de hiperprolactinemia (39.1% vs 17.9%,  $p = 0.02$ ).

En cuanto al tratamiento, los pacientes con actividad lúpica recibieron significativamente mayor dosis promedio de prednisona (21.68 vs 13 mg/d) ( $p < .01$ ), en cambio, el uso de cloroquina como parte del manejo fue similar entre ambos grupos.

La presencia de amenorrea secundaria fue similar en ambos grupos (4.68% vs 5.13%), en cambio, la amenorrea primaria fue mas frecuente en el grupo de pacientes con actividad lúpica (20.31% vs 15.38%).

### HIPERPROLACTINEMIA Y LES

Las características clínicas y demográficas de los pacientes con y sin hiperprolactinemia se muestran en la tabla 3. La edad promedio fue similar en ambos grupos al igual que el tiempo de evolución, hubo mayor predominio del sexo femenino en el grupo con hiperprolactinemia, sin embargo esta diferencia no es significativa ( $p > .05$ ).

Se observó mayor proporción de pacientes con actividad lúpica en el grupo con hiperprolactinemia (78.1% vs 54.9%) y la diferencia fue significativa ( $p = 0.04$ ), en lo referente al índice SLEDAI el puntaje promedio de los pacientes con hiperprolactinemia fue significativamente mayor en comparación al otro grupo (5 vs 2,  $p < .01$ ). Se observó una correlación positiva entre hiperprolactinemia y actividad de la enfermedad ( $r_s = 0.2213$ ,  $p = 0.02$ ).

La variedad clínica mas frecuente en ambos grupos fue la mucocutánea y articular, seguida de la afección renal.

No hubo diferencia en la dosis promedio de prednisona utilizada por ambos grupos (16.33 vs 19.36 mg/d,  $p > .05$ ), por otro lado, el uso de cloroquina fue significativamente mas frecuente en los pacientes con hiperprolactinemia (87.5% vs 63.4%,  $p = .02$ ).

Las variables relacionadas a la elevación sérica de prolactina encontradas en los pacientes con hiperprolactinemia fueron: Insuficiencia renal crónica (25%) y tratamiento con cloroquina (87.5%)

En siete de las pacientes con hiperprolactinemia (21.87%) se encontraron autoanticuerpos antiprolactina.

## DETECCIÓN DE AUTOANTICUERPOS ANTIPROLACTINA

Se determinó el porcentaje de unión PRL-IgG en todos los sueros de los pacientes con LES (Anexo 4), en aquellos en los que el porcentaje de unión fue mayor del 40% (media + 3 d.e.) se les realizó cromatografía por afinidad con proteína G. Se observó que en 7 de ellos la mayor parte o la totalidad de la PRL fue retenida en las primeras 10 fracciones obtenidas de la columna de afinidad (pH 7.4), y posteriormente fue eluida en las fracciones ácidas (ricas en IgG)(Figuras 1-3), en el resto de los sueros sometidos a cromatografía por afinidad la totalidad o la mayor parte de la PRL fue eluida en las primeras 10 fracciones (Figuras 4-7).

Las características clínicas de los 7 pacientes en quienes se determinó la presencia de autoanticuerpos antiprolactina se muestran en la tabla 5. Las 7 pacientes fueron del sexo femenino, la edad promedio fue de  $14.57 \pm 2.51$  años (amplitud 9 - 16, mediana 15), el tiempo promedio de evolución de la enfermedad fue de  $29.14 \pm 26.86$  meses (amplitud 2 - 71, mediana 17), 5 de las pacientes (71.4%) tenían actividad de la enfermedad, el puntaje obtenido del índice SLEDAI fue en promedio los niveles séricos de prolactina promedio fueron de  $41.85 \pm 18.59$  ng/ml (amplitud 21-69.5, mediana 38.42). Todas las pacientes presentaron hiperprolactinemia.

En cuanto al tratamiento la dosis promedio de prednisona fue de  $11.07 \pm 8.15$  mg/d (amplitud 5 - 25, mediana 5). Todas recibieron cloroquina como parte de su tratamiento. Una de las pacientes (No.1) presentó amenorrea primaria al momento del estudio (Tanner mamario y genital I).

En la tabla 4 se muestran las características clínicas y demográficas en los pacientes con y sin autoanticuerpos antiprolactina.

La edad promedio, el predominio del sexo femenino, el tiempo de evolución de la enfermedad, el porcentaje de pacientes con actividad lúpica y el puntaje obtenido en el SLEDAI fueron similares en ambos grupos.

El promedio en el porcentaje de unión fue significativamente mayor en el grupo con autoanticuerpos antiprolactina (42.4% vs 23.18%,  $p = .01$ ).

La dosis promedio de prednisona fue menor en los pacientes con autoanticuerpos antiprolactina (11.07 vs 18.96), pero esta diferencia no fue significativa ( $p > .05$ ). El uso de

cloroquina como parte del tratamiento fue mayor en el grupo con autoanticuerpos antiprolactina, pero no hubo diferencia significativa entre ambos grupos.

Ninguna paciente del grupo de autoanticuerpos antiprolactina presentó amenorrea secundaria, y solo una de ellas tenía amenorrea primaria.

#### CORRELACIÓN ENTRE AUTOANTICUERPOS ANTIPROLACTINA, ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD Y NIVELES SÉRICOS DE PROLACTINA

No encontramos ninguna correlación entre la presencia de autoanticuerpos antiprolactina y la actividad de la enfermedad ( $r_s = 0.0517$ ,  $p > .05$ ), así como tampoco entre el puntaje obtenido con el índice SLEDAI y los títulos de autoanticuerpos antiprolactina ( $r_s = 0.1178$ ,  $p > .05$ ).

Encontramos una correlación positiva significativa entre los títulos de autoanticuerpos antiprolactina y los niveles séricos de prolactina ( $r_s = 0.4531$ ,  $p < 0.01$ ).

También demostramos una correlación positiva significativa entre la presencia de hiperprolactinemia y de los autoanticuerpos antiprolactina ( $r_s = 0.4022$ ,  $p < 0.01$ ).

## DISCUSION

En un grupo de pacientes con LES se ha reportado elevación de los niveles séricos de prolactina (hiperprolactinemia) (20, 28, 29), pero su influencia sobre la actividad lúpica ha sido controversial en los estudios clínicos (20, 28, 30, 31). Gran parte de esta controversia estriba en el poder estadístico de los estudios y la falta de control sobre las variables que influyen sobre la actividad lúpica. Sin embargo, en un metanálisis realizado por Blanco y cols. (54) se demuestra que sí existe una asociación entre hiperprolactinemia y actividad lúpica. Por otro lado, esta asociación ya ha sido demostrada con certeza en modelos animales (13).

En el paciente pediátrico con LES no se había documentado la presencia de hiperprolactinemia por lo que no se le relacionaba con la actividad de la enfermedad (38, 39), sin embargo, en 1996 Garf y cols. (40) documentaron la existencia de hiperprolactinemia en el 9% de sus pacientes prepuberes con LES, observando que la variedad clínica más frecuente en estos pacientes con hiperprolactinemia fue la afección neurológica.

No se han realizado estudios en el paciente pediátrico adolescente, por lo que no sabemos cuál es la frecuencia de hiperprolactinemia en esta edad y si existe alguna asociación con la actividad de la enfermedad. Debido a que en esta edad pediátrica comienza el incremento en forma rápida de hormonas que intervienen en el desarrollo gonadal consideramos que quizás la frecuencia de hiperprolactinemia fuera similar a la del adulto, al igual que su influencia sobre la actividad de la enfermedad. Sin embargo, en nuestro estudio encontramos una frecuencia de hiperprolactinemia de 31% (32 pacientes) mayor que la reportada en promedio en los pacientes adultos (2.2 - 25%), con un marcado predominio del sexo femenino (30:2). Por otro lado, observamos una asociación significativa de la actividad lúpica con la hiperprolactinemia, (utilizando el índice de actividad SLEDAI). Es de llamar la atención que ninguna de las pacientes con hiperprolactinemia presentó amenorrea secundaria o alteraciones menstruales.

Al analizar la correlación entre hiperprolactinemia y actividad de la enfermedad en el grupo en general encontramos que esta fue positiva ( $r_s = 0.2213$ ,  $p = 0.02$ ), lo cual concuerda con el marco teórico existente (54).

Los pacientes con LES se caracterizan por su hiperreactividad y la producción de una amplia gama de autoanticuerpos dirigidos contra diversos elementos nucleares y citoplásmicos, algunos de ellos se asocian con características clínicas de la enfermedad (41-46). Como

anteriormente, el Dr. Leños (55) demostró la existencia de autoanticuerpos antiprolactina en pacientes adultos con LES e hiperprolactinemia.

En nuestro estudio encontramos autoanticuerpos antiprolactina en 7 pacientes (6.8%), lo cual fue similar a lo reportado en adultos (5%) (55). La presencia de estos autoanticuerpos se demostró basándonos en los siguientes resultados:

- a) El porcentaje de unión PRL-IgG utilizando un gel de afinidad (proteína G acoplada a sepharosa) fue mayor a la media + 3 d.s. de pacientes control utilizados en un estudio previo (55).
- b) La PRL del suero fue retenida en las cromatografías por afinidad (proteína G con afinidad para IgG), y eluida en las fracciones ácidas (ricas en IgG).

No se observó ninguna asociación entre la presencia de autoanticuerpos antiprolactina y la actividad de la enfermedad, pero si se demostró una correlación significativa entre la presencia de estos autoanticuerpos y los niveles séricos de prolactina ( $r_s = -0.3659$ ,  $p < 0.01$ ), y entre estos autoanticuerpos y la hiperprolactinemia ( $r_s = 0.2213$ ,  $p = 0.02$ ).

El diseño de nuestro estudio es transversal por lo que no es posible establecer temporalidad ni inferir asociaciones causales, sin embargo, dado que la prolactina activa al LES y que la presencia de los autoanticuerpos se correlacionó significativamente con la hiperprolactinemia, podemos inferir que estos autoanticuerpos se relacionan en algún modo con la producción y quizás con la acción biológica de la prolactina.

## CONCLUSIONES

Nuestro estudio demostró la presencia de autoanticuerpos antiprolactina del 6.8%, en forma de una macroprolactina la cual está formada por un complejo inmune PRL-IgG, en pacientes pediátricos con LES.

No encontramos asociación entre estos autoanticuerpos y la actividad de la enfermedad, pero si se observó una asociación positiva de los autoanticuerpos antiprolactina con los niveles séricos de prolactina, específicamente con hiperprolactinemia.

Encontramos una frecuencia de hiperprolactinemia del 31% (mayor a la reportada en pacientes adultos con LES) en adolescentes con LES.

Ningún paciente con hiperprolactinemia presentó manifestaciones clínicas de la misma (galactorrea, alteraciones menstruales).

FALTA PAGINA

No. 24

**Tabla No. 1**

**Características clínicas y demográficas de los pacientes con LES**

Total	103 pacientes
Edad (promedio y d.e.)	13.73 ± 1.92 años
Sexo (F:M)	88 mujeres, 15 hombres (6.4:1)
Tiempo evolución de LES (mediana)	20 meses
Tipo de LES	
MCA	50 (48.5%)
Renal	16 (15.5%)
Neurológico	15 (14.5%)
Hematológico	9 (8.8%)
Articular	5 (4.9%)
Discoide	2 (1.9%)
Hematológico/Renal	3 (3.9%)
Serositis	1 (1%)
Vasculitis	1 (1%)
Niveles séricos de PRL (promedio y d.e.)	19.41 ± 12.42 ng/ml
Pacientes con Hiperprolactinemia	32 (31%)
% unión (mediana)	25
Pacientes con actividad lúpica	64 (62%)
SLEDAI (mediana)	2
Pacientes con anticuerpos anti-PRL	7 (6.8%)
FUM (días de intervalo) (mediana)	17.5
Tx PDN mg/d (mediana)	15
Tx con cloroquina	70 (69.7%)

LES: Lupus Eritematoso Sistémico

MCA: Mucocutáneo y articular

PRL : Prolactina

Anti-PRL: Anticuerpos antiprolactina

Tx PDN: Tratamiento con Prednisona

d.e. : desviación estándar

Tabla No. 2

**Características clínicas y demográficas de los pacientes de LES con y sin actividad lúpica**

Características	Con Actividad	Sin Actividad	
Total (n)	64	39	
Edad (promedio y d.e.)	13.64 ± 2.01 años	13.87 ± 1.78 años	** p > .05
Sexo	58 mujeres (90.62%)	30 mujeres (76.9%)	* p > .05
Tiempo de evolución (mediana)	24 meses	18 meses	** p > .05
Tipo LES			
MCA	29 (45.3%)	21 (53.8%)	
Renal	13 (20.3%)	3 (7.7%)	
Hematológico	6 (9.4%)	3 (7.7%)	
Neurológico	7 (10.9%)	8 (20.5%)	
Articular	3 (4.7%)	2 (5.1%)	
Discoide	1 (1.6%)	1 (1.6%)	
Hematológico/Renal	4 (6.3%)	0	
Serositis	1 (1.6%)	0	
Vasculitis	0	1 (1.6%)	
FUM (días de intervalo)(mediana)	20	14	**p > .05
Niveles séricos de PRL (promedio y d.e.) (mediana)	17.71 ± 11.29 ng/ml 14 ng/ml	12.79 ± 6.92 ng/ml 11.57 ng/ml	** p = .01
Pacientes con hiperprolactinemia	18 (28.8%)	3 (7.8%)	* p = .04
% unión PRL - IgG (mediana)	22.45	21.65	** p > .05
Pacientes con Ac anti-PRL	5 (7.8%)	2 (5.1%)	* p > .05
SLEDAI (mediana)	4	0	
PDN mg/d (mediana)	25	15	** p < .01
Tx con cloroquina	49 (76.56%)	24 (61.53%)	* p > .05

LES - Lupus Eritematoso Sistémico

MCA: Mucocutáneo y articular

PRL: Prolactina

Ac anti-PRL: Anticuerpos antiprolactina

Tx con PDN. Tratamiento con prednisona

d e - Desviación estándar

\* Prueba de chi cuadrada con corrección de continuidad de Yates

\*\* U de Mann-Whitney

Tabla No. 3

Características clínicas y demográficas de los pacientes de LES con y sin hiperprolactinemia

Características	Con hiperprolactinemia	Sin hiperprolactinemia	
Total (n)	32	71	
Edad (promedio y d.e.)	13.91 ± 2.1 años	13.65 ± 1.88 años	**** p = 0.38
Sexo	30 mujeres (94%)	68 mujeres (82.9%)	** p = 0.19
Tiempo de evolución (mediana)	18.5 meses	20 meses	**** p = 0.91
Tipo de LES			
Renal	8 (25%)	8 (11.27%)	
MCA	9 (28%)	41 (59.15%)	
Neurológico	5 (15.62%)	10 (14.8%)	
Hematológico	3 (9.4%)	5 (7.04%)	
Articular	3 (9.4%)	3 (4.22%)	
Discoide	0	2 (2.8%)	
Vasculitis	1 (3.12%)	0	
Serositis	1 (3.12%)	0	
Hematológico/Renal	2 (6.25%)	2 (2.8%)	
FUM (días de intervalo)(mediana)	8	20	**** p = 0.06
Niveles séricos de PRL (promedio y d.e.)	32.91 ± 14.05 ng/ml	13.33 ± 4.06 ng/ml	**** p < .01
% unión (mediana)	37.35	17.11	* p < 0.01
Con actividad lúpica	25 (78.1%)	39 (54.9%)	** p = 0.04
SLEDAI (mediana)	5	2	**** p < .01
Ac anti-PRL	7 (21.56%)	0	** p < .01
PDN mg/d (mediana)	15	15	**** p > .05
Tx con cloroquina	28 (87.5%)	45 (63.4 %)	** p = .02

LES: Lupus Eritematoso Sistémico

MCA: Mucocutáneo y articular

PRL: Prolactina

Ac anti-PRL: Anticuerpos antiprolactina

Tx PDN: Tratamiento con prednisona

d.e.: Desviación estándar

- t de student para muestras independientes
- \*\* Prueba de chi cuadrada con corrección de continuidad de Yates
- \*\*\* Prueba exacta de Fisher
- \*\*\*\* U de Mann-Whitney

**Tabla No. 4**  
**Características clínicas y demográficas de los pacientes de LES**  
**con y sin autoanticuerpos antiprolactina**

Características	Con Ac anti-PRL	Sin Ac anti-PRL	
Total (n)	7	96	
Edad (promedio y d.e.)	14.57 + 2.51 años	13.67 + 1.87 años	*** p > .05
Sexo	7 mujeres (100%)	81 mujeres (84.4%)	* p > .05
Tiempo de evolución (mediana)	17 meses	20.5 meses	*** p > .05
Tipo de LES			
MCA	3 (43%)	47 (49%)	
Renal	1 (14.3%)	15 (15.6%)	
Hematológico	2 (28.6%)	7 (7.3%)	
Neurológico	0	15 (15.6%)	
Articular	0	5 (5.2%)	
Discoide	0	2 (2.1%)	
Hematológico/Renal	0	4 (4.2%)	
Serositis	1 (14.3%)	0	
Vasculitis	0	1 (1%)	
FUM (días de intervalo)(mediana)	6	20	*** p = .02
Niveles séricos de PRL (promedio y d.e.) (mediana)	41.85 ± 18.59 ng/ml 38.42 ng/ml	17.77 ± 10.19 ng/ml 16.48 ng/ml	*** p < .01
Pacientes c/hiperprolactinemia	7 (100%)	25 (26%)	** p < .01
% unión PRL-IgG (mediana)	46.7	21	*** p < .01
Pacientes con actividad lúpica	5 (71.4%)	59 (61.5%)	* p > .05
SLEDAI (mediana)	4	2	** p > .05
PDN mg/d (mediana)	5	15	*** p > .05
Tx con cloroquina	7 (100%)	63 (65.62%)	** p > .05

LES: Lupus Eritematoso Sistémico

Ac anti-PRL: Anticuerpos antiprolactina

MCA: Mucocutáneo y articular

PRL: Prolactina

Tx con PDN: Tratamiento con prednisona

d.e.: Desviación estándar

\* Prueba exacta de Fisher

\*\* Prueba de chi cuadrada con corrección de continuidad de Yates

\*\*\* U de Mann-Whitney

Tabla No. 5

Características clínicas y demográficas de los pacientes con LES y autoanticuerpos antiprolactina

No.	1	2	3	4	5	6	7
Edad	9	15	16	16	15	15	16
Sexo	F	F	F	F	F	F	F
Variedad de LES	MCA	Renal	MCA	MCA	MCA	Articular	Hemat/ Articular
Tiempo de evolución	6 meses	6 años	1.5 años	4 años	1 año	2 meses	4 años
PRL (ng/ml)	36	69.5	42.73	22.33	21	63	38.42
Actividad lúpica	Sí	Sí	No	Sí	No	Sí	Sí
SLEDAI	4	4	0	6	0	16	6
PDN mg/d	17.5	5	5	5	5	15	25
Tx cloroquina	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí	Sí
FUM (días de intervalo)	AP	4	2	28	9	1	8

LES: Lupus Eritematoso Sistémico  
PRL: Prolactina  
MCA: Mucocutánea y articular  
Hemat: Hematológica  
FUM: Fecha de última menstruación  
AP: Amenorrea primaria

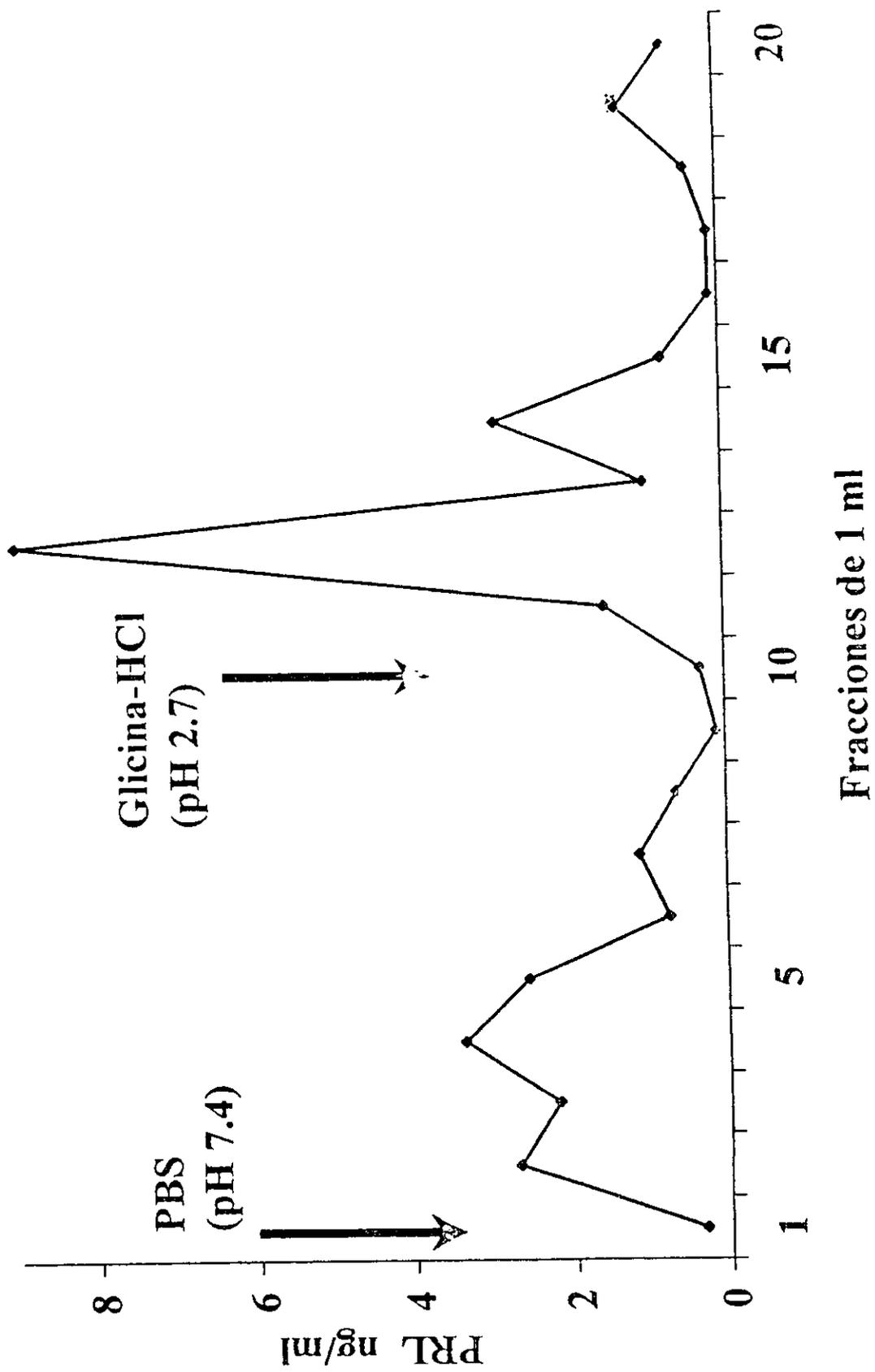


Figura 1: Cromatografía de afinidad con proteína G de prolactina inmunorreactiva en suero de un paciente de LES con hiperprolactinemia y autoanticuerpos anti-PRL

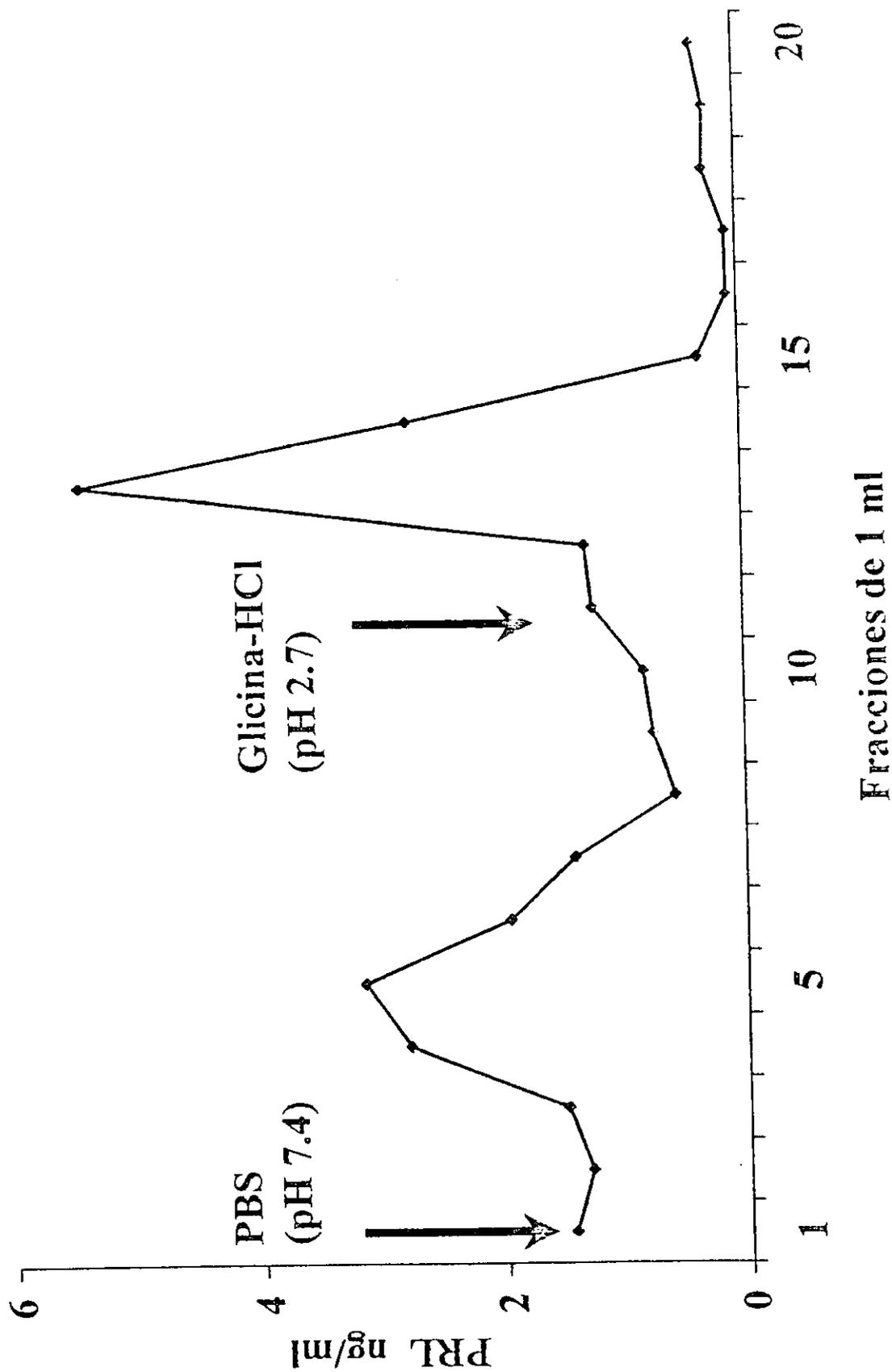
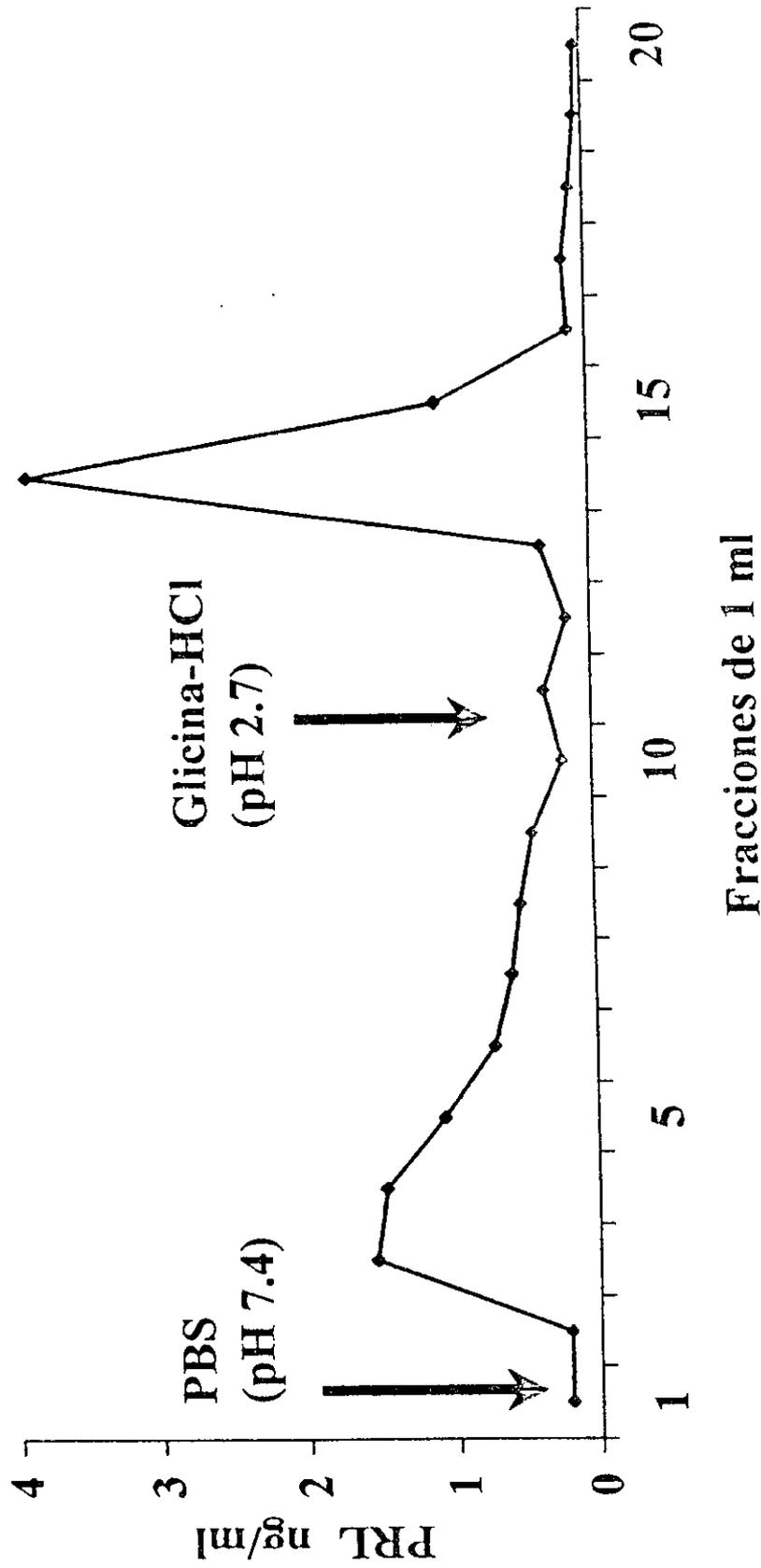


Figura 2 : Cromatografía de afinidad con proteína G de PRL inmunorreactiva en suero de un paciente de LES con hiperprolactinemia y autoanticuerpos anti-PRL



**Figura 3 : Cromatografía de afinidad con proteína G de PRL inmunorreactiva en suero de un paciente de LES con hiperprolactinemia y anticuerpos anti-PRL**

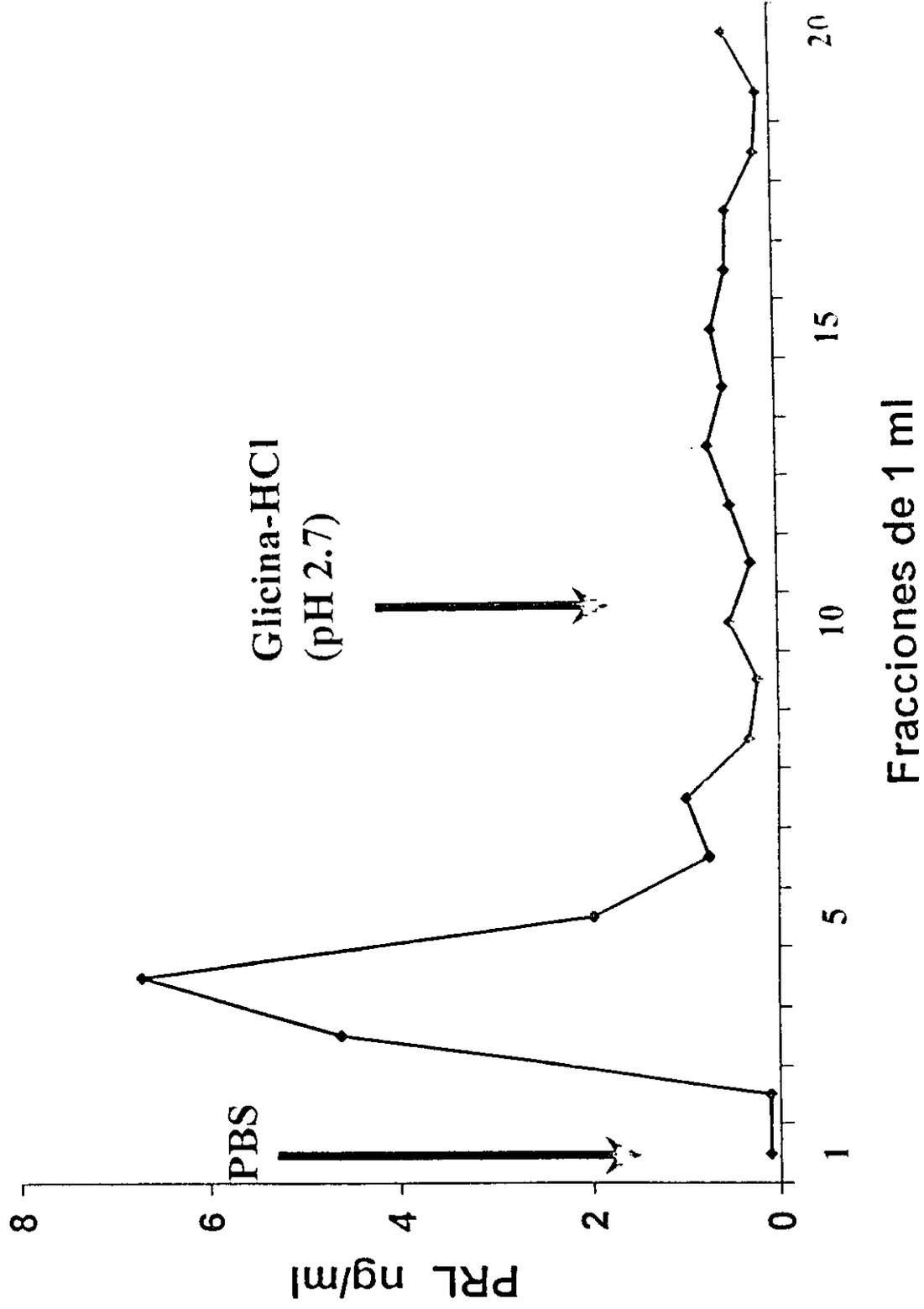


Figura 4 : Cromatografía de afinidad con proteína G de PRL inmunorreactiva en suero de paciente de LES con hiperprolactinemia sin anticuerpos anti-PRL

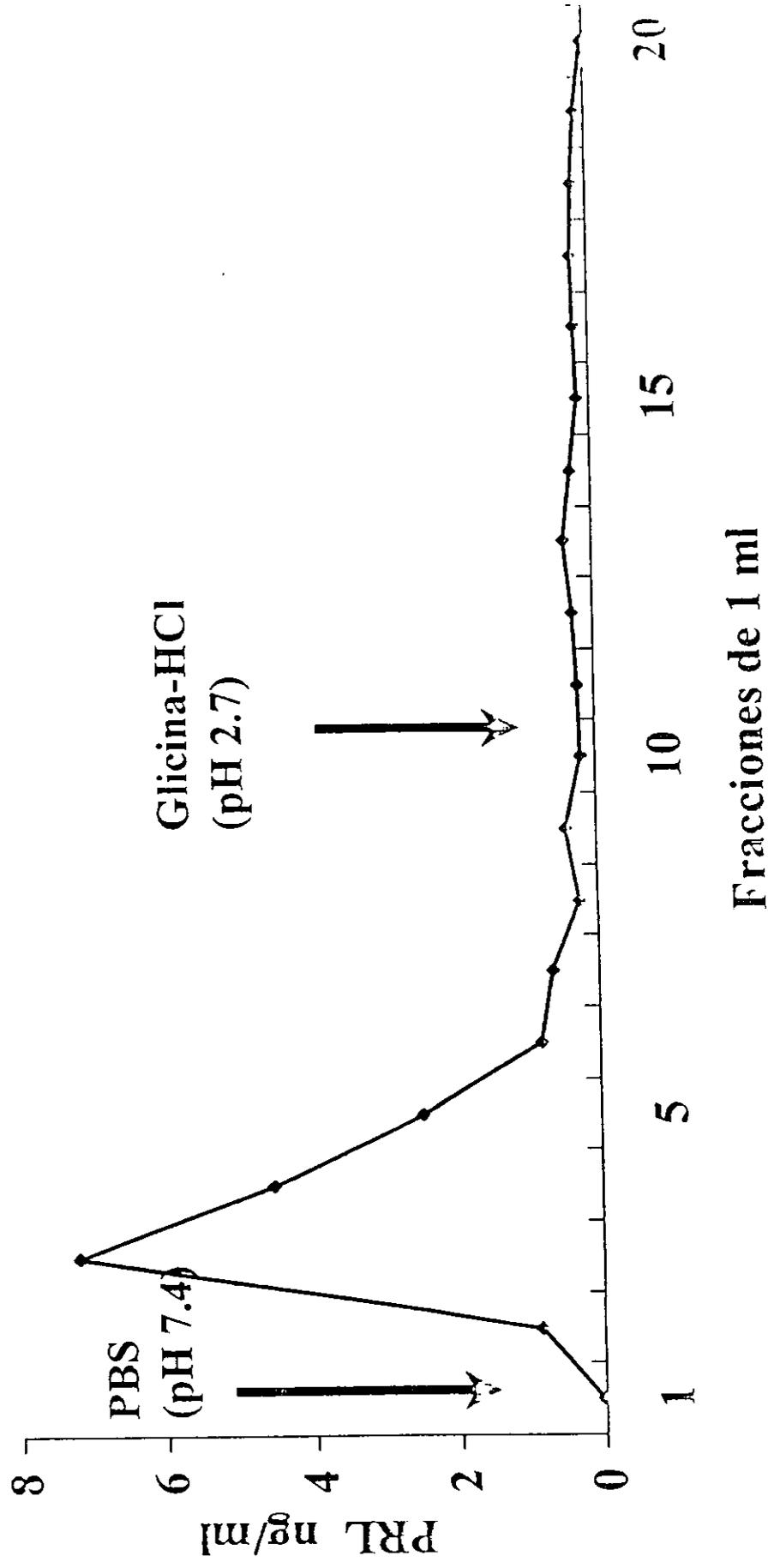


Figura 5: Cromatografía de afinidad con proteína G de PRL inmunorreactiva en suero de paciente de LES con hiperprolactinemia sin anticuerpos anti-PRL

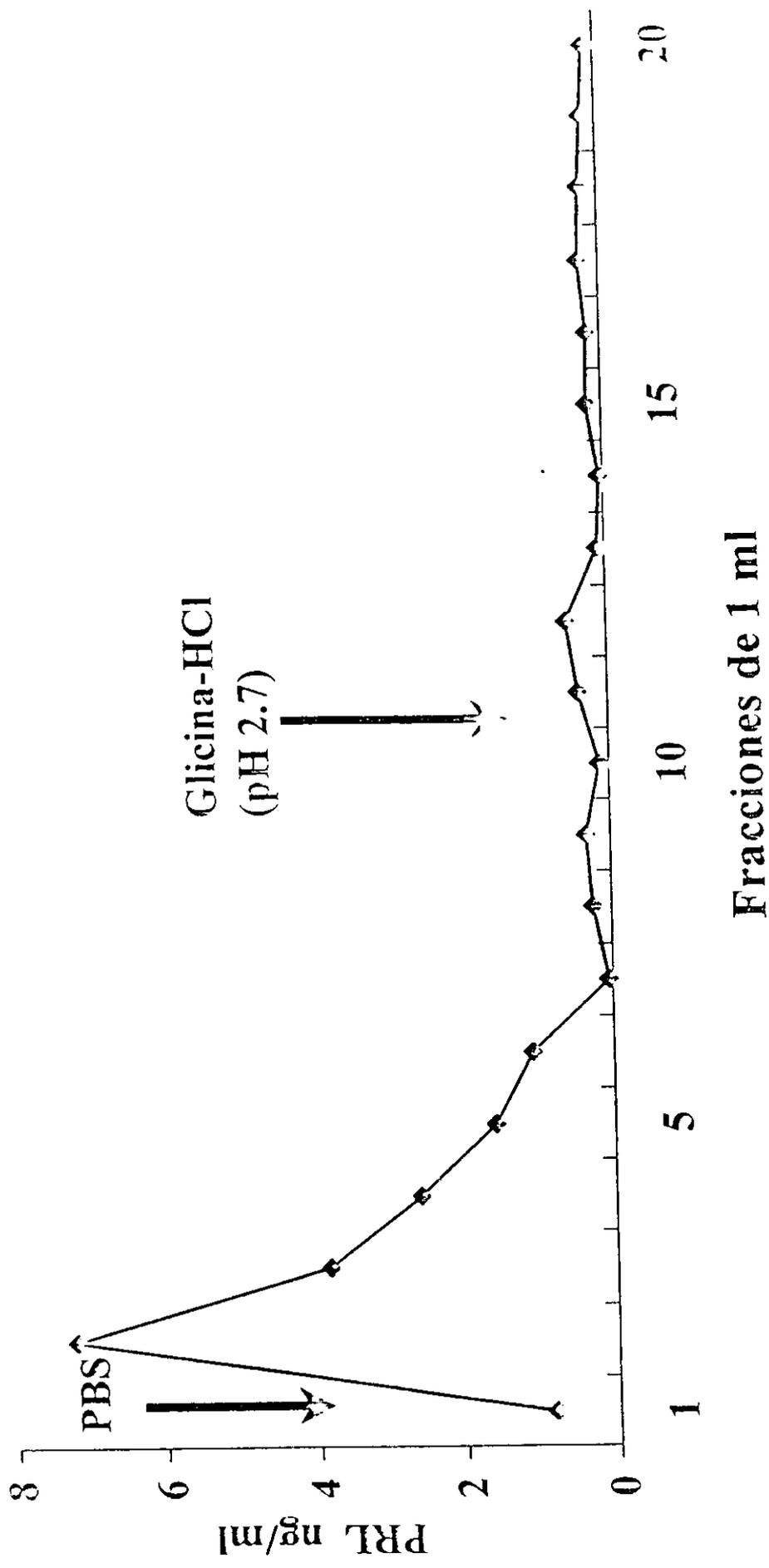


Figura 6 : Cromatografía de afinidad con proteína G de PRL inmunorreactiva en suero de paciente con LES con hiperprolactinemia sin anticuerpos anti-PRL

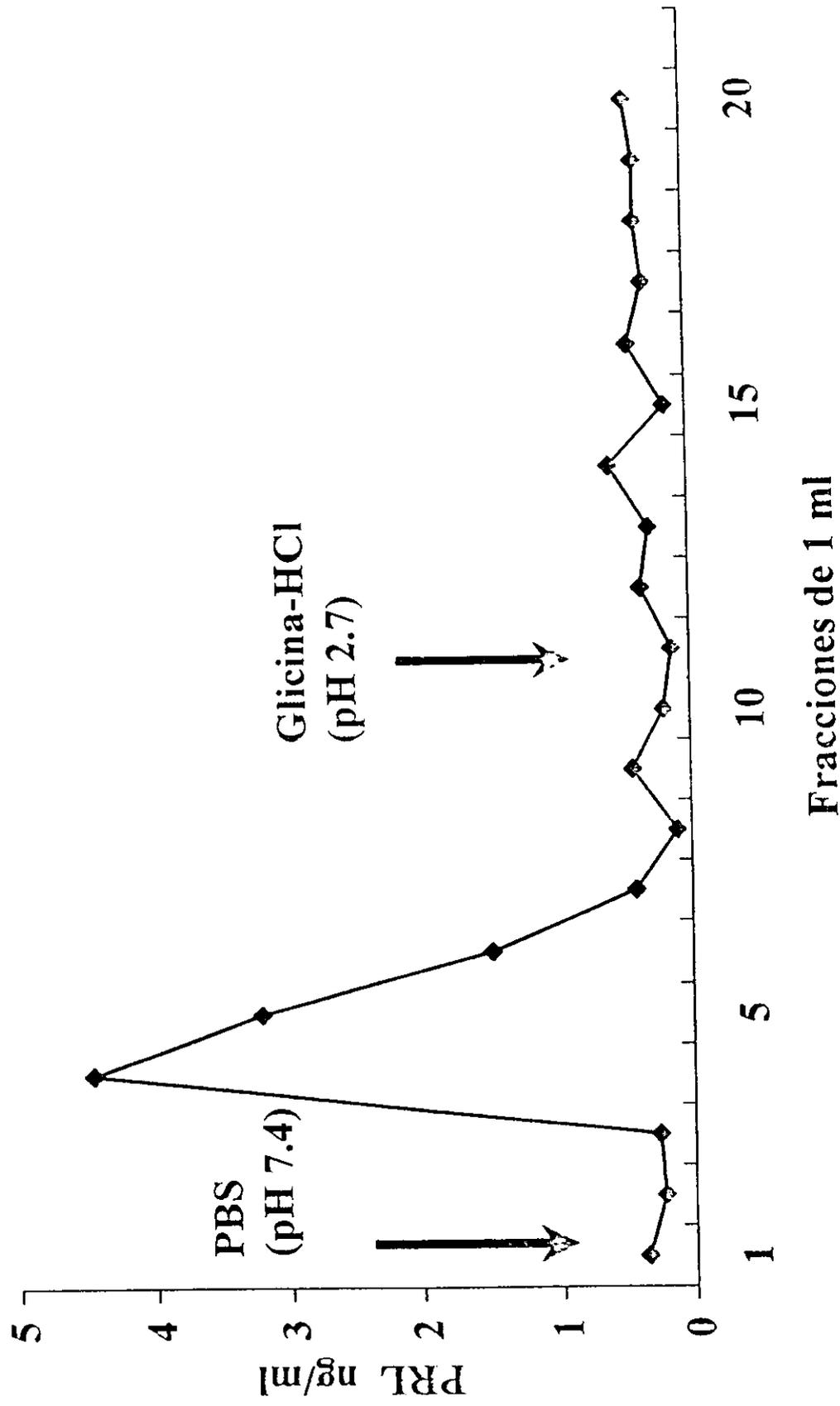
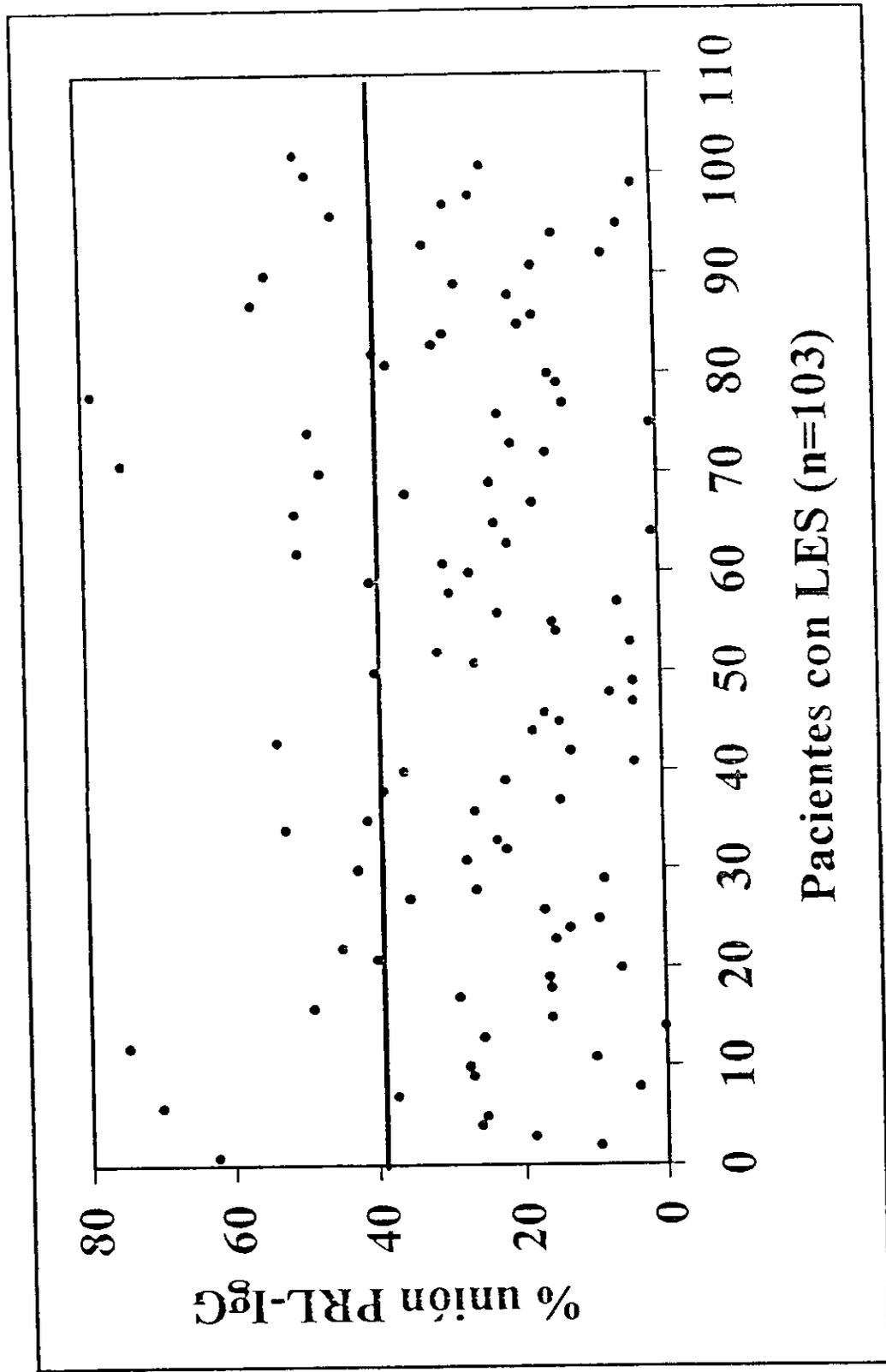


Figura 7: Cromatografía de afinidad con proteína G de PRL inmunorreactiva en suero de paciente de LES sin hiperprolactinemia y sin anticuerpos antiprolactina



Pacientes con LES (n=103)

Figura 8: Porcentaje de PRL unida a IgG en el suero de pacientes con LES utilizando proteína G unida a sepharosa CL-4B como inmunoprecipitante

## ANEXO 1

### INDICE DE LA ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD EN PACIENTES CON LUPUS (SLEDAI)

Anote la puntuación en la columna de calificación del SLEDAI si la descripción está presente al momento de la visita o en los 10 días previos a la misma.

Peso	Calificación (SLEDAI)	DESCRIPCION	DEFINICION
8		Convulsión	Inicio reciente. Excluir causa metabólica, infecciosa o por drogas
8		Psicosis	Capacidad alterada en las funciones de la actividad normal debido a severos disturbios en la percepción de la realidad. Incluye alucinaciones, incoherencia, pérdida marcada de las asociaciones, contenido del pensamiento empobrecido, pensamiento ilógico evidente, conducta grotesca, desorganizada o catatónica. Excluir presencia de síndrome urémico o ingesta de drogas.
8		Síndrome orgánico cerebral	Función mental alterada, deterioro en la orientación, memoria u otra función intelectual de inicio rápido, manifestaciones clínicas fluctuantes, como alguna de las siguientes: a) Alteración del estado de conciencia con reducción de capacidad de concentración e incapacidad de mantener atención al medio ambiente, mas por lo menos dos de las siguientes alteraciones: disturbio en la percepción, lenguaje incoherente, insomnio o somnolencia durante el día, incremento o disminución de actividad psicomotora. Excluir causa metabólica, infecciosa o por drogas.
8		Trastornos visuales	Cambios en retina de LES. Incluye cuerpos citoides, hemorragia retiniana, exudado seroso o hemorragia en coroides, neuritis óptica. Excluir HTA, causas infecciosas o drogas.
8		Trastornos en pares craneales	Inicio reciente de neuropatía sensorial o motora que incluya nervios craneales
8		Cefalea lúpica	Cefalea persistente y severa, puede ser migrañosa pero no responde a analgésicos narcóticos
8		E V C	Síndrome cerebrovascular nuevo. Excluir aterosclerosis
8		Vasculitis	Ulceración, gangrena, nódulos blandos digitales, infarto periungueal, hemorragias en astilla, biopsia o angiografía que apoye vasculitis
4		Artritis	Más de 2 articulaciones con dolor y signos de inflamación
4		Miositis	Debilidad muscular proximal, asociada a elevación de CPK o aldolasa, cambios electromiográficos o biopsia que demuestre miositis
4		Cilindros urinarios	Cilindros de hemoglobina, granulados o eritrocitos
4		Hematuria	Más de 5 eritrocitos por campo de alto poder, excluir litos, infección u otras causas
4		Proteinuria	Más de 0.5 g en 24 h. Inicio reciente o incremento de más de 0.5g/24h
4		Piuria	Más de 5 leucocitos por campo de alto poder, excluir infección
2		Eritema malar	Inicio reciente o recurrencia de eritema tipo inflamatorio
2		Alopecia	Inicio reciente o recurrencia de pérdida anormal del cabello, en placas o difuso
2		Úlceras en mucosas	Inicio reciente o recurrencia de ulceraciones orales o nasales
2		Pleuritis	Historia convincente de dolor pleurítico con frote, derrame o engrosamiento pleural
2		Pericarditis	Historia de dolor pericárdico con al menos uno de los siguientes: frote, derrame o confirmación electrocardiográfica o ecocardiográfica
2		Complemento bajo	Disminución de CH50, C3 o C4 a un valor menor al límite inferior de la prueba del laboratorio
2		Ae anti-DNA	Más de 25% unión por Farr o mayor al normal para la prueba del laboratorio
1		Fiebre	Mayor de 38°C después de excluir infección
1		Trombocitopenia	Menor de 100,000 plaquetas por mm <sup>3</sup> , no debido a drogas
1		Leucopenia	Menor de 3000 leucocitos por mm <sup>3</sup> , no debido a drogas

## ANEXO 2

### CRITERIOS REVISADOS PARA LA CLASIFICACION DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO

CRITERIO	DEFINICION
Eritema malar	Eritema fijo, plano o elevado sobre las eminencias malares, con tendencia a la diseminación a partir de los surcos nasolabiales
Eritema discoide	Placas eritematosas elevadas con cicatrización queratótica adherente y taponos foliculares, la cicatrización atrófica pueden ocurrir en lesiones viejas
Fotosensibilidad	Eritema cutáneo como resultado de una reacción inusual a la luz del sol, por historia del paciente u observación del médico
Ulceras orales	Ulceración oral o nasofaríngea, usualmente dolorosas y observadas por el médico
Artritis	Artritis no erosiva que involucra 2 o más articulaciones periféricas caracterizadas por tumefacción o sinovitis
Serositis	Pleuritis: Historia convincente de dolor pleurítico o frote escuchado por un médico o evidencia de derrame pleural, o Pericarditis: Documentada por ECG, frote o evidencia de derrame pericárdico
Alteración renal	a) Proteinuria persistente mayor de 0.5 g/día o mayor de 3+ si no se realiza cuantificación b) Cilindros celulares: Pueden ser eritrocitarios, de Hb, granulosos, tubulares o mixtos
Alteración neurológica	Convulsiones: En ausencia de drogas o alteraciones metabólicas conocidas (uremia, cetoacidosis, DHE, etc., ó Psicosis: En ausencia de drogas o alteraciones metabólicas conocidas
Alteración hematológica	Anemia hemolítica, con reticulocitosis, o Leucopenia menor de 4000/mm <sup>3</sup> en 2 o más ocasiones, o Linfopenia menor de 1500/mm <sup>3</sup> en 2 o mas ocasiones, o Trombocitopenia menor de 100,000/mm <sup>3</sup> en ausencia de causa secundarias a drogas
Alteración inmunológica	Células LE positivas, anticuerpos anti-DNA, anticuerpos anti-Sm, VDRL falso positivo
Anticuerpos antinucleares	Título anormal por inmunofluorescencia, en ausencia de drogas que se sabe se asocia al síndrome de lupus inducido por drogas

El diagnóstico de LES se establece si un paciente reúne 4 o mas criterios de los 11 aquí mencionados, en forma seriada o simultaneamente durante algún intervalo de observacion

## ANEXO 3

### DETERMINACIÓN SÉRICA DE PROLACTINA (PRL)

Para la determinación de los niveles séricos de prolactina por inmunoradiometría (IRMA) se utilizaron los kits comerciales de Cis bio Internacional.

#### PROLACTINA LIBRE:

- a) Se incuban 400  $\mu$ l del suero problema a 37°C por 2 horas
- b) Se añaden 400  $\mu$ l de polietilenglicol (PEG) al 25% para precipitar las fracciones de gamaglobulina mayores de 100 kDa.
- c) Se centrifuga la mezcla a 3000 rpm a 4°C por 30 minutos.
- d) En el sobrenadante obtenido se determina la prolactina por inmunoradiometría (IRMA).

#### PROLACTINA TOTAL:

- a) Incubar 250  $\mu$ l del suero problema con 30  $\mu$ l de 1N HCl durante 30 minutos a temperatura ambiente con el fin de disociar la unión PRL--anticuerpo anti-PRL.
- b) Agregar PEG al 25% agitándose vigorosamente (a esta mezcla se le adicionan 60  $\mu$ l de 2M Tris-HCl (pH 8.3) para neutralizarla)
- c) Centrifugar a 3000 rpm a 4°C por 30 minutos.
- d) En el sobrenadante se determina PRL total por IRMA.

## ANEXO 4

### DETERMINACIÓN DE AUTOANTICUERPOS ANTIPROLACTINA

Se utilizó proteína G unida a sepharosa CL-4B (SIGMA Chemical CO) para inmunoprecipitar los complejos inmunes PRL-IgG. Cada mililitro de sepharosa hidratada tiene capacidad de unión de aproximadamente 20 mg de IgG humana. Después de obtener los complejos inmunes se cuantificó el porcentaje de PRL unido a IgG.

Inmunoprecipitación de complejos PRL-IgG:

- a) Depositar 200  $\mu$ l de proteína G unida a sepharosa (previamente hidratada) en tubos de poliestireno de 12 x 75mm.
- b) Adicionar 100  $\mu$ l de amortiguador fosfato salino (PBS, pH 7.4) conteniendo 0.2% de azida de sodio.
- c) Agregar 100  $\mu$ l del suero problema e incubar a temperatura ambiente en agitación continua durante 5 minutos, centrifugar a 3000 rpm a 4°C durante un minuto y decantar el sobrenadante.
- d) El sedimento (IgG-proteína G unida a sepharosa) se lava con 1.5 ml de PBS y se centrifuga, se decanta el sobrenadante y se repite el proceso de lavado por segunda ocasión (esto es con el fin de eliminar las proteínas que no fueron retenidas por la proteína G, quedando solamente IgG).
- e) Se resuspende el sedimento con 200  $\mu$ l de 0.1 M glicina-HCl (pH 3.0) y se incuba a temperatura ambiente durante 5 minutos en agitación continua.
- f) Centrifugar nuevamente a 3000 rpm durante un minuto a 4°C.
- g) Tomar 100  $\mu$ l del sobrenadante y neutralizarlo con 2  $\mu$ l de 1M Tris-HCl (pH9.0).
- h) En el sobrenadante neutralizado determinar el porcentaje de unión de PRL a la IgG por IRMA

Determinación del porcentaje de PRL unida a la IgG:

- a) Se depositan 100 µl de sobrenadante neutralizado en tubos de poliestireno recubiertos con un anticuerpo monoclonal murino anti-PRL humana
- b) Se agregan 48 µl del diluyente comercial.
- c) Incubar a temperatura ambiente durante 30 minutos en agitación continua.
- d) Lavar el tubo con 1 ml del amortiguador comercial y decantar en papel absorbente, repetir este paso 2 veces.
- e) Agregar 100 µl de anticuerpos monoclonales murinos anti-PRL humana marcados con I<sub>125</sub> (85000 – 89000 cuentas por minuto (CPM)).
- f) Incubar a temperatura ambiente en agitación continua.
- g) Lavar nuevamente los tubos como en el inciso d.
- h) Medir en el tubo la radioactividad con un contador gamma durante un minuto.
- i) Calcular el porcentaje de PRL unida a IgG de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{CPM del suero problema} - \text{CPM de la unión inespecífica} / \text{CPM de cuentas totales} \times 100$$

Se consideró que el suero problema tenía autoanticuerpos antiPRL cuando el porcentaje de radioactividad excedió la media + 3 d.e. de 14 sujetos sanos sin hiperprolactinemia.

Cromatografía de afinidad con proteína G acoplada a sepharosa (high performance):

Este procedimiento es con el fin de confirmar la presencia de autoanticuerpos antiPRL en los sueros con resultados de porcentaje de PRL unida a IgG mayor al punto de corte antes mencionado.

En una columna de plástico se empacan 0.7 ml de proteína G acoplada a sepharosa hidratada (Pharmacia Biotech), y se instala en el cuarto frío a 4°C. Se corre por la columna 500 µl de suero problema diluido con 500 µl de PBS (pH 7.4) conteniendo 0.2% de azida de sodio y 0.1% de albúmina bovina. Se colectan 20 fracciones de 1 ml por minuto. En los tubos para las últimas 10 fracciones adicionar previamente 80 µl de 1M Tris-HCl (pH 9.0) para neutralizar. Las primeras 10 fracciones son eluidas con PBS y las últimas 10 con 0.1M glicina-HCl (pH 3.0) Posteriormente, se realiza la determinación de la concentración de PRL por IRMA en cada fracción. Las columnas son regeneradas con PBS dejando pasar 4 - 5 volúmenes de la columna. Cada columna se puede emplear para procesar un máximo de 10 sueros.

## ANEXO 5

### HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROYECTO DE INVESTIGACION SOBRE ANTICUERPOS ANTIPROLACTINA

**Título del proyecto:** Determinación de anticuerpos antiprolactina en pacientes adolescentes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES)

**Investigadores:** Dra. Guadalupe Quintal Alvarez, Dr. Francisco Blanco Favela

**Objetivo:** Determinar cual es la frecuencia de anticuerpos antiprolactina en el paciente adolescente con LES, correlacionarlo con actividad de la enfermedad y con los niveles séricos de prolactina.

**Procedimiento:** Se le realizará a mi hijo(a) una breve historia clínica durante la consulta además de una exploración física de rutina. Posteriormente se le extraerán 10 ml de sangre de una vena periférica. Como complicación de este procedimiento puede formarse un moretón o infectarse, pero la frecuencia de estas complicaciones es muy baja si se realiza el procedimiento en forma adecuada.

**Beneficios:** Es probable que mi hijo(a) no reciba ningún beneficio inmediato por la participación en el estudio.

**Riesgos:** Únicamente alguna de las complicaciones antes mencionadas por la extracción de la muestra de sangre

**Confidencialidad:** Los resultados de los análisis practicados a mi hijo(a) me serán dados a conocer cuando los solicite, solo bajo mi autorización se le proporcionarán al médico tratante.

Estoy consciente de que la participación de mi paciente en el estudio es completamente voluntaria, por lo que seremos libres de negarnos a tomar parte en el estudio o bien abandonarlo en cualquier momento, esto no afectará de ningún modo la atención médica prestada a mi paciente.

Los investigadores me han informado sobre este estudio y hemos discutido todas las dudas que pudieron haber surgido. He comprendido totalmente cuál es el objetivo y procedimiento de esta investigación, aún así estoy en libertad de solicitar mayor información cuando lo creamos necesario.

Consiento en que mi hijo(a) participe en este estudio, recibo copia de esta información la cual he tenido oportunidad de leer y comprender completamente

Nombre y firma del paciente: \_\_\_\_\_

Nombre y firma del padre o tutor: \_\_\_\_\_

Nombre y firma del testigo: \_\_\_\_\_

Nombre y firma del investigador: \_\_\_\_\_

Fecha

## BIBLIOGRAFIA

1. Inman RD. Immunologic sex differences and the female predominance in Systemic Lupus Erythematosus. *Arth Rheum* 1978; 21: 849-852
2. Grossman ChJ. Interactions between the gonadal steroids and the Immune System. *Science* 1985;227: 257 – 261
3. Lehman TJA. McCurdy DK, Bernstein B, King KK, Hanson V. Systemic Lupus Erythematosus in the first decade of life. *Pediatrics* 1989;83:235-239
4. Emery H. Aspectos clínicos del Lupus Eritematoso Generalizado en la infancia. *Clin Pediatr Nort Am* 1986; 5: 1231 – 1245
5. Pockenstedt LK. Gee RJ. Mamula MJ. Self-peptides in the initiation of Lupus Autoimmunity. *J Immunol* 1995; 154: 3516 – 3524
6. Tan EM. Cohen AS. Fries JF et al. The 1982 revised criteria for the classification of Systemic Lupus Erythematosus. *Arth Rheum* 1982; 25:1271 – 1277
7. Baeza MA. Alvarez C. Lupus Eritematoso Sistémico: Frecuencia de los criterios de clasificación de la Asociación Americana de Reumatismo (1982) en 42 niños. *Bol Med Hosp Infant Mex* 1986; 43:242-246
8. Vician L. Lieberman ME. Gorski J. Evidence that autoregulation of prolactin production does not occur at the pituitary level. *Endocrinology* 1982;110. 722 – 726
9. Sanchez-Escobar F. Fisiología de la prolactina. *Tribuna Medica* 1985; 2: 9 – 19
10. Frantz AG. Physiology in Medicine: Prolactin. *N Eng J Med* 1978; 298: 201 - 207
11. Leños-Miranda A, Quintal-Alvarez MG, Cervera-Castillo H y Blanco-Favela F. Prolactina como inmunomodulador. *Revista Alergia México* 1997;44:116-123
12. Epstein FH. Neuroendocrine-Immune interactions. *N Eng J Med* 1993; 329: 1246 – 1253
13. Mc Murray R. Keisler D. Kanuckel K. Izui S. Walker SE. Prolactin influences autoimmune disease activity in the female B/W mouse. *J Immunol* 1991;147: 3780 – 3787
14. Patton ML, Woolf PD. Hyperprolactinemia and delayed puberty. A report of three cases and their response to therapy. *Pediatrics* 1983;71:572-575
15. Lavalle C. Graef A. Baca V. Blanco-Favela F. Prolactin and gonadal hormones: A key relationship that may have clinical, monitoring and therapeutic implications in Systemic Lupus Erythematosus. *Lupus* 1993; 2: 71 - 75

16. Sabharwal P, Glaser R, Lafuse W, Varma S et al. Prolactin synthesized by human peripheral blood mononuclear cells: An autocrine growth factor for lymphoproliferation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 7713-7716
17. DiMattia GE, Gellersen B, Bohnet HG, Friesen HG. A human B-lymphoblastoid cell line produces prolactin. *Endocrinology* 1988;122: 2508-2517
18. Larrea F, Martinez-Castillo A, Cabrera U, Alcocer-Varela J et al. A bioactive 60-kilodalton Prolactin species is preferentially secreted in cultures of mitogen-stimulated and nonstimulated peripheral blood mononuclear cells from subjects with Systemic Lupus Erythematosus. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82: 3664-3669
19. O'Neal KD, Montgomery DW, Truong TM, Yu-Lee L. Prolactin gene expression in human tymphocytes. *Mol Cell Endocrin* 1992; 87: R 19 - 23
20. Walker SE, Allen SH, Hoffman RW, McMurray RM. Prolactin: A stimulator of disease activity in Systemic Lupus Erythematosus. *Lupus* 1995;4: 3-9
21. Gunes H, Mastro AM. Prolactin receptor gene expression in rat splenocytes and thymocytes from birth to adulthood. *Mol Cell Endocrinol* 1996; 117: 41-52
22. Turkington RW. Prolactin secretion in patients treated with various drugs. *Arch Intern Med* 1972; 130: 349 - 354
23. Vidaller A, Llorente L, Larrea F, Mende JP et al. T-cell dysregulation in patients with hyperprolactinemia: Effect of bromocriptine treatment. *Clin Immunol Immunopathol* 1986;38:337-343
24. McMurray RW, Weidensaul D, Allen SH, Walker SE. Efficacy of bromocriptine in an open label therapeutic trial for Systemic Lupus Erythematosus. *J Rheumatol* 1995;22:2084-2091
25. Oliveira MC, Moraes JT et al. Effect of estrogen and neuroleptics on prolactin secretion and immunoreactive prolactin cells. *Braz J Med Biol Res* 1996; 29: 521 - 525
26. Bongiovanni AM. Prolactin: A review with Pediatric Clinical Implications. *Year Book Medical* 1985: 349 - 368
27. Guyde HJ, Friesen HG. Serum prolactin levels in humans from birth to adult life. *Pediatric Res* 1973; 7: 534 - 540

28. Jara LJ, Gómez C, Silveira LH, Martínez P, Vasey FB, Espinoza LR. Hyperprolactinemia in Systemic Lupus Erythematosus: Association with disease activity. *Am J Med Sci* 1992; 303: 222 – 226
29. Peuzner R, urowitz MB, Gladman DD. Prolactin levels in Systemic Lupus Erythematosus (SLE). *Arth Rheum* 1992; 35: S 239
30. Buskila D, Lorber M, Newmann L et al. No correlation between prolactin levels and clinical activity in patients with Systemic Lupus Erythematosus. *J Rheumatol* 1996; 23: 629 – 32
31. Ostendorf B, Fischer R, Santen R et al. Hyperprolactinemia in Systemic Lupus Erythematosus? *Scand J Rheumatol* 1996;25: 97-102
32. Lavallo C, Loyo E, Paniagua R et al. Correlation study between prolactin and androgens in male patients with Systemic Lupus Erythematosus. *J Rheumatol* 1987; 14: 268-272
33. Jara L, Graef A, Lavallo C. Prolactin and gonadal hormones during pregnancy in Systemic Lupus Erythematosus. *J Rheumatol* 1991; 18: 349-353
34. Vankelecom H, Carmeliet P, Heremans H, Dammes JV et al. Interferón- $\alpha$  inhibits stimulated Adrenocorticotropin, Prolactin and Growth Hormone secretion in normal Rat Anterior Pituitary Cell Cultures. *Endocrinology* 1990;126:2919-2926.
35. Spangelo BL, Judd AM, Isakson PC and MacLeod RM. Interleukin-6 stimulates anterior pituitary hormone release in vitro. *Endocrinology* 1990;126:2919-2926
36. Arzt E, Buric R, Stelzer G, Stalla J et al. Interleukin involvement in anterior pituitary cell growth regulation: Effects of IL-2 and IL-6. *Endocrinology* 1993;132:459-467
37. Mc Murray RW, Allen SH, Braun AL, Rodriguez P, Walker SE. Longstanding Hyperprolactinemia associated with Systemic Lupus Erythematosus: Possible hormonal stimulation of an autoimmune disease. *J Rheumatol* 1994; 21: 843 – 850
38. Athreya BH, Rafferty JH, Sehgal GS, Lahita RG. Adenohypophyseal and sex hormones in pediatric rheumatic diseases. *J Rheumatol* 1993; 20: 725-730
39. Barile L, Jara LJ, Graef A, Lavallo C. Sex hormones and childhood SLE. *J Rheumatol* 1994; 21: 5
40. Garf AE, Salah S, Shaarawy M, Zaki S, Anwer S. Prolactin hormone in Juvenile Systemic Lupus Erythematosus: A possible relationship to disease activity and CNS manifestations. *J Rheumatol* 1996, 23: 374-377

41. Blanco F, Kalsi J & Isenberg DA. Analysis of antibodies to RNA in patients with systemic lupus erythematosus and other autoimmune rheumatic diseases. *Clin Exp Immunol* 1991; 86:66-70
42. Hietarinta M, Viander M, Toivanen A, Lassila O. Clinical significance of autoantibodies in Systemic Lupus Erythematosus. *Br J Rheum* 1994; 33:1202 - 1203
43. González M, López FJ, López JM, Jofre R et al. Cross-sectional and longitudinal study of antiribonucleoprotein antibodies in Lupus Nephropathy. *Br J Rheumatol* 1995; 34: 8
44. Cruz DD, Taub NA, Gianotta L et al. Anti-Sm antibodies: A potential risk factor for Lupus Nephritis. *Br J Rheumatol* 1995; 34: 9
45. López FJ, Escalona M, Sanchez E et al. Anti-Sa antibodies in patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Br J Rheumatol* 1995; 34: 9
46. Tang F, Stimmler MM, Quismorio P. Serum antibodies to sulphatide in Systemic Lupus Erythematosus. *Arth Rheum* 1992; 35: S 240
47. Gutierrez MA, Molina JF, Jara L et al. Prolactin-induced immunoglobulin and autoantibody production by peripheral blood mononuclear cells from systemic lupus erythematosus and normal individuals. *Int Arch Allergy Immunol* 1996; 109: 229-235
48. McMurray RW, Allen SH et al. Elevated serum prolactin levels in children with Juvenile Rheumatoid Arthritis and antinuclear antibody seropositivity. *J Rheumatol* 1995; 22: 1577 - 1580
49. Hattori N, Ishihara T, Ikekubo K et al. Autoantibody to human prolactin in patients with idiopathic hyperprolactinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75: 1226- 1229
50. Hattori N, Ikekubo K, Ishihara T et al. Effects of anti-prolactin autoantibodies on serum prolactin measurements. *Eur J Endocrinol* 1994; 130:434 - 437
51. Hattori N, Ikekubo K, Ishihara T et al. Correlation of the antibody titers with serum prolactin levels and their clinical course in patients with anti-prolactin autoantibody. *Eur J Endocrinol* 1994; 130: 438 - 445
52. Hattori N, Inagaki C. Anti-Prolactin (PRL) autoantibodies cause asymptomatic hyperprolactinemia: Bioassay and clearance studies of PRL-Immunoglobulin G Complex. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:3107-3110
53. Bombardier C, Gladman D et al. Derivation of the SLEDAI: A disease activity index for lupus patients. *Arth Rheum* 1992; 35: 630 - 640

54. Blanco F, Leños A, Quintal G. Analysis of the association between prolactin and the activity in SLE. One viewpoint of the power of the study. *J Rheumatol* (enviado)
55. Leños Miranda A. Autoanticuerpos Antiprolactina en Lupus Eritematoso sistémico: Frecuencia y correlación con la prolactinemia y actividad de la enfermedad. Tesis, MC, UNAM, 1998.
56. Maule S, Quadri R, Mirante R, Pellerito A, et al. Autonomic nervous dysfunction in systemic lupus erythematosus (SLE) and rheumatoid arthritis (RA): possible pathogenic role of autoantibodies to autonomic nervous structures. *Clin Exp Immunol* 1997;110:423-427