



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA
“DR. IGNACIO CHÁVEZ”**

**“CARACTERIZACIÓN DEL PERFIL DE CITOCINAS EN PACIENTES
CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO Y ARTRITIS
CON PATRÓN EROSIVO (RUPUS)”**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE:
ESPECIALISTA EN REUMATOLOGÍA**

**PRESENTA:
DRA. MÓNICA MACÍAS PALACIOS**

**ASESOR:
DR. LUIS MANUEL AMEZCUA GUERRA**



MÉXICO D.F.

2010.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

Dr. Luis Manuel Amezcua Guerra

Asesor de tesis

Médico Reumatólogo.

Investigador en Ciencias Médicas

Departamentos de Inmunología y Reumatología

Instituto Nacional de Cardiología “ Dr. Ignacio Chávez”

Dr. Manuel Martínez-Lavín García-Lascuráin

Médico Reumatólogo

Investigador en Ciencias Médicas

Jefe de Departamento

Departamento de Reumatología

Instituto Nacional de Reumatología

Instituto Nacional de Cardiología “ Dr. Ignacio Chávez”

DR. JOSE FERNANDO GUADALAJARA BOO

Director de enseñanza

Instituto Nacional de Cardiología “ Dr. Ignacio Chávez”

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por colmarme de bendiciones.

A mi esposo Rafael, por su apoyo, amor y comprensión.

A mis padres Miguel y Carmen, por formar la persona que ahora soy.

A mis hermanas Yesi y Sandy, por ser mis mejores amigas.

A mis Maestros por compartir sus conocimientos.

A mis pacientes por contribuir a mi enseñanza.

A mis amigos residentes por hacer la vida hospitalaria agradable.

INDICE

I. Título	2
II. Antecedentes.....	3
III. Justificación.....	5
IV. Objetivo.....	6
V. Marco teórico.....	7
VI. Tipo de estudio.....	12
VII. Material y métodos.....	13
VIII. Resultados.....	15
IX. Discusión.....	19
X. Conclusiones.....	20
XI. Apéndice.....	21
XII. Referencias.....	25

I. TÍTULO

Caracterización del perfil de citocinas en pacientes con lupus eritematoso sistémico y artritis con patrón erosivo (Rupus).

II. ANTECEDENTES

La coexistencia de diferentes enfermedades autoinmunes sistémicas en un mismo individuo es poco frecuente y una de las asociaciones más raras es la concurrencia de lupus eritematoso sistémico (LES) con artritis reumatoide (AR); esta imbricación también es denominada “rupus”, término acuñado por Schur en 1971.¹ Si bien es cierto que ambas enfermedades tienen como manifestación cardinal a la artritis y esta tiene distribución similar, afectando principalmente las pequeñas articulaciones de las manos, muñecas, y rodillas, la afectación articular en LES es claramente no erosiva.

El estudio de la superposición de las manifestaciones clínicas entre AR y LES no es reciente, aunque apenas ahora se están discriminando las características serológicas y patogénicas de manera exhaustiva. En 1960, Toone y colaboradores describieron la presencia de células LE (hasta entonces consideradas exclusivas de LES) en el suero de 15 pacientes con AR, de los cuales 8 presentaban manifestaciones sistémicas.² En 1969, Kantor reportó el caso de una mujer de 49 años con artritis erosiva, deformante, nódulos subcutáneos, títulos altos de factor reumatoide (FR), anticuerpos antinucleares (ANA), anticuerpos anti-ADN de doble cadena (anti-dsDNA), y nefropatía lúpica.³ En 1987, Cohen y colaboradores reportaron que el 3.6% (11 de 309) de los pacientes con LES cumplían los criterios de clasificación para AR, sugiriendo que ambas enfermedades están asociadas más frecuentemente a lo esperado por el azar.⁴ En contraste, en el estudio realizado por Panush y colaboradores en aproximadamente 7000 pacientes estudiados durante 11 años, sólo pudieron identificar a 6 individuos con rupus; concluyendo que la coexistencia de LES y AR no es frecuente, observando una prevalencia de 0.09%, más de diez veces inferior al 1.2% esperado por el azar.⁵ Recientemente, Icen y colaboradores exploraron la presencia de los criterios de clasificación de LES y su influencia en la mortalidad en una cohorte de 603 pacientes con AR seguidos a través del tiempo. Los autores encontraron que el 15.5 % de los pacientes con AR presentaban 4 o más criterios de clasificación de LES en un seguimiento de 25 años, y que su presencia se asocia a un riesgo de muerte 2 veces mayor que los individuos que no presentan estas manifestaciones.⁶

En México también ha existido interés por la discriminación de pacientes con rupus. Simón y colaboradores encontraron que pacientes mexicanos con rupus mostraron un inicio característico de AR, pero en un promedio de cuatro años presentaron signos y síntomas que permitieron el diagnóstico de LES, incluyendo alteraciones de laboratorio que sugerían la

coexistencia de ambas enfermedades en un mismo individuo.⁷ El mismo grupo posteriormente describió que la edad media al diagnóstico fue de 29 años y el tiempo promedio de aparición de LES desde la aparición de AR fue de 9.1 años, con un rango de 1 a 23 años.⁸

Además del estudio de las características clínicas, se han tratado de identificar diferentes biomarcadores que diferencien a los pacientes con LES de aquellos que además desarrollan artritis erosiva. Actualmente, hay evidencia que apoya la existencia del lupus como un verdadero síndrome de superposición. En 2001, Mediwake y colaboradores reportaron el seguimiento de 231 pacientes con LES evaluados por artritis; 10 pacientes presentaron enfermedad erosiva, seis de los cuales fueron positivos para RF, y seis fueron positivos para anticuerpos anti-RA33 (un anticuerpo de baja sensibilidad pero alta especificidad para AR), mientras que sólo dos fueron positivos para anticuerpos contra péptidos cíclicos citrulinados (anti-CCP, el anticuerpo con mayor sensibilidad y especificidad que existe actualmente para AR).⁹ Nuestro grupo fue el primero en realizar, de manera dirigida, la identificación de los anticuerpos anti-CCP en pacientes con lupus. En un análisis serológico que incluyó pacientes con diagnóstico inequívoco de lupus, la frecuencia de positividad para anticuerpos anti-CCP fue similar en pacientes con lupus y en pacientes con AR agresiva de larga evolución (57% vs. 86%, $p=ns$), mientras que ambos fueron significativamente mayores a lo encontrado en pacientes con LES y artritis no erosiva (0%, $p<0.05$ en ambas comparaciones).¹⁰ Esta asociación entre anticuerpos anti-CCP y lupus ha sido posteriormente confirmada por otros grupos.^{11,12} Más recientemente, demostramos que la presencia de anticuerpos anti-CCP en pacientes con LES confiere una razón de momios de 18.2 (IC95%, 0.66-495) para el desarrollo de artritis erosiva, mientras que las concentraciones elevadas de proteína C reactiva son buenos marcadores serológicos para un patrón erosivo en pacientes con LES.¹³ Esta expresión diferencial de anticuerpos anti-CCP y de proteína C reactiva en pacientes con LES y artritis erosiva ha sentado las primeras bases para sustentar un papel patogénico de ambos biomarcadores en lupus, apoyando que este padecimiento es un verdadero síndrome de superposición entre AR y LES.¹⁴

III. JUSTIFICACIÓN

Actualmente no existe ningún trabajo publicado informando sobre el perfil de citocinas en pacientes con LES y artritis erosiva. Es probable que el perfil de citocinas subyacente modifique la respuesta inflamatoria, dirigiéndola para facilitar el desarrollo de un patrón erosivo. Esto no es fútil por al menos dos razones: (A) el tratamiento de la artritis erosiva en lupus ha sido extrapolado de pacientes con artritis reumatoide, sin conocer siquiera si el sustrato inflamatorio subyacente es similar entre ambos padecimientos; (B) el grave daño y destrucción articular presente en pacientes con lupus puede impactar de manera profunda sobre su calidad de vida, en particular sobre los índices de discapacidad.

IV. OBJETIVO

Caracterizar el perfil de citocinas en suero (como un marcador sustituto del fenotipo linfocitario) en pacientes con lupus eritematoso sistémico, de acuerdo a la presencia o ausencia de artritis erosiva.

V. MARCO TEÓRICO

Las citocinas y otros mediadores de inflamación han sido involucrados en la patogénesis de diversas enfermedades inflamatorias reumatológicas. En LES, se han propuesto a diversas citocinas involucradas en la señalización celular responsable de la depuración anormal de las células que sufren apoptosis; por ejemplo, la depuración fisiológica del material apoptótico está asociada a liberación de citocinas anti-inflamatorias como el factor de crecimiento transformante β (TGF- β), el cual puede estar alterado bajo condiciones de fagocitosis tardía en LES.¹⁵ Una citocina que cumple una función central en la patogénesis del LES es el factor de necrosis tumoral (TNF), al estimular la cascada proinflamatoria que favorece la producción de otras citocinas y mediadores; aunque su papel como orquestador central en la inflamación de muchas de las enfermedades autoinmunes ha sido bien establecido, su relevancia en lupus aun sigue siendo discutida.¹⁶ Se ha demostrado que en los pacientes con LES los niveles de TNF están elevados (así como los del receptor soluble de TNF) en las muestras de biopsias renales de dichos pacientes. Estos hallazgos sugieren que el bloqueo de TNF podría ser útil en estos pacientes.¹⁵

En años recientes se ha puesto de manifiesto el papel de los interferones de tipo I en la patogénesis de la enfermedad. Los miembros de la familia de interferón (INF) tipo I, incluyen a IFN α , INF β , INF ω , INF κ e INF ϵ . La vía de señalización es por medio del mismo receptor para interferones de tipo I.¹⁷ El interferon de tipo I es producido principalmente por las células dendríticas plasmocitoides (pDC) y, en menor medida, por otras células como monocitos y linfocitos T, principalmente en respuesta a infecciones virales, radiación ultravioleta, DNA de doble cadena rico en motivos CpG no metilados y varias formas de RNA por vía de receptores de tipo Toll (TLRs), principalmente TLR7, TLR8 y TLR9. Los complejos inmunes en LES son ricos en DNA o RNA y puede inducir la producción de INF tipo I en células mononucleares de sangre periférica (PBMCs) o pDC normales.^{18,19} El principal efecto del INF tipo I es la regulación a la baja de la actividad antiviral, la diferenciación y maduración de las células dendríticas, la promoción de las células cooperadoras tipo I y ayuda en el cambio de isotipo de la inmunoglobulina en los anticuerpos maduros. Los casos de agudización de la actividad en LES pueden ser secundarios a la presencia de factores ambientales como infecciones virales; la infección puede desencadenar la producción constante de IFN α y por eso estos pacientes muestran títulos altos. Se induce y mantiene la generación de células dendríticas maduras que favorecen la presencia de linfocitos T autorreactivos que escaparon de la delección de la

tolerancia central. Estas células dendríticas (DC) maduras activan células T CD8 citotóxicas que generan nucleosomas, que pueden ser capturados y presentados por las DC en presencia de IFN. ^{17,18,20} El INF y la interleucina 6 (IL-6) promueven la diferenciación de las células B maduras a células plasmáticas. De esta manera, el efecto de INF α en la DC, células B y células T podría explicar la ruptura de la tolerancia a los antígenos nucleares, la secreción de autoanticuerpos y la formación de complejos inmunes característicos del LES.²¹ Se ha descubierto una alta expresión de genes inducibles de INF (IFIG) en PBMC en un grupo de pacientes con esta enfermedad. El INF α expresado por pDC es bajo en la sangre periférica de pacientes con LES, quizás porque es recluido en sitios de tejidos periféricos como la piel. La alta expresión de IFIG ha sido documentada en el riñón de pacientes con LES. ¹⁶ Se ha publicado que los fragmentos pequeños de RNA de cadena sencilla denominados microRNA (miRNA) regulan la expresión vía RNA mensajero (mRNA), la represión transcripcional y su degradación. El miRNA miR-146a es un regulador negativo de la vía de INF. La baja expresión de miR-146a contribuye a las alteraciones de la vía del INF tipo I en pacientes con LES. Este nuevo hallazgo propone nuevas estrategias de intervención terapéutica. ²² El INF γ es el único INF de tipo II, se encuentra involucrado principalmente en las respuestas adaptativas. Es posible que esta citocina sea expresada en tejidos periféricos y órganos que son blanco de la respuesta autoinmune y ayude a mediar la inflamación local y daño. ¹⁶

La interleucina 1 (IL-1) y su inhibidor fisiológico, el antagonista del receptor (IL-1ra), han sido asociados con LES activo y correlacionan con los niveles de PCR. IL-1ra correlaciona con actividad renal de la enfermedad. La IL-6 es una citocina pleiotrópica que es sintetizada principalmente por monocitos, fibroblastos y células endoteliales, pero también puede sintetizarse por células B, células T y otras. Esta es inducida por señales inflamatorias (polisacáridos) y citocinas (TNF, IL-1 e IL-2), también por anticuerpos contra DNAdc y su producción se puede inhibir por IL-4, IL-10 e IL-13. Uno de sus efectos es inducir la maduración de linfocitos B en células plasmáticas para que secreten inmunoglobulinas (Ig). Otras acciones incluyen sobre-regulación de IL-2, la expresión de su receptor, la estimulación de megacariocitos para la producción de plaquetas, la diferenciación de macrófagos a osteoclastos y la producción de reactantes de fase aguda. Aunque la IL-6 es principalmente una citocina proinflamatoria, puede inhibir la síntesis de TNF e IL-1. En los pacientes con lupus, los niveles de IL-6 son elevados y correlacionan con la actividad de la enfermedad y con los niveles de anti DNAdc. En contraste a lo encontrado en individuos

sanos, los linfocitos B de los pacientes con lupus generan espontáneamente cantidades elevadas de inmunoglobulinas. El bloqueo de IL-6 disminuye la producción espontánea de inmunoglobulinas. La IL-6 ha mostrado una relación estrecha con las manifestaciones renales del lupus eritematoso sistémico. Varios estudios han demostrado una excreción elevada de IL-6 en la orina de pacientes con nefritis lúpica activa, quienes también tienen altos títulos de anticuerpos contra DNAdc. Los niveles de IL-6 fueron más altos en los pacientes con nefritis lúpica que en los pacientes con nefritis no activa.^{16,23} Además de la afección renal, las manifestaciones neuropsiquiátricas del LES se han asociado a niveles altos de IL-6 en el líquido cefalorraquídeo.²⁴ La IL-6 y sus receptores pueden ser biomarcadores útiles para monitorizar la actividad de la enfermedad y la respuesta al tratamiento. El éxito del antagonismo de esta citocina en modelos murinos ha propuesto el inicio de la terapéutica en humanos.²⁵

En contraste con el TNF, existe un mayor consenso sobre el papel de la interleucina 10 (IL-10) en lupus eritematoso sistémico.¹⁵ La IL-10 es producida por monocitos y linfocitos, es considerada una citocina anti-inflamatoria porque inhibe la activación de los macrófagos y la capacidad de las células para presentar antígenos que puedan activar a las células T y producir la secreción de TNF; sin embargo, en presencia de TNF puede adquirir actividad pro-inflamatoria.¹⁶ Por lo tanto, las propiedades de activación de las células B podrían promover la enfermedad en LES. La producción de IL-10 es inducida por complejos inmunes por vía del ligando del receptor Fc γ RII o CD32 y anticuerpos contra DNA dc. Se ha detectado IL-10 en tinciones de las células renales de los pacientes con lupus.¹⁶ La tasa INF α /IL-10 es elevada en nefritis lúpica clase IV mientras que en la nefritis clase V puede estar disminuida esta relación.²⁶ Datos preliminares han mostrado que el uso de un anticuerpo monoclonal dirigido contra IL-10 mejora las lesiones cutáneas, articulares y el índice SLEDAI en estos pacientes.²⁷ Al parecer es importante el equilibrio entre la IL-10 y la IL-12. Los niveles de la forma biológica activa de IL-12 están disminuidos en el suero de pacientes con LES posiblemente por la producción de anticuerpos inhibidores de IL-12.²⁸ Sin embargo también se han reportado niveles altos de IL-12,18 y 16 en el suero de pacientes con LES activo.¹⁶

La interleucina 17 (IL-17) es una proteína transmembrana aislada inicialmente en células T CD4+ de roedores. Esta es una potente citocina pro-inflamatoria producida por varios tipos celulares incluyendo subtipos de T (CD4+ CD8+, TCR- $\alpha\beta$ CD4- CD8- y TCR- $\gamma\delta$), células NK y neutrófilos.²² La IL-17 juega un papel importante en la respuesta inmune contra

bacterias y hongos. Tiene una gran potencia para reclutar monocitos y neutrófilos, facilita la infiltración de las células T, regula la expresión de las moléculas de adherencia (ICAM-1) y amplifica la respuesta inmune al inducir la producción de IL-6, prostangladina E2 y factor estimulante de colonias de macrófagos (GM-CSF). La IL-17 actúa sinérgicamente con otras citocinas como IL-1 β , TNF e IFN α . Se han encontrado niveles elevados de IL-17 e IL-23 en pacientes con enfermedad activa por LES, por lo tanto se asumió que el LES favorece la generación de células Th17. Recientes descubrimientos han sugerido una proporción significativa de IL-17 de linfocitos TCR- $\alpha\beta$ ⁺CD4⁺CD8⁻. Estas células TCR- $\alpha\beta$ CD4⁺CD8⁻ y las células Th17 también se han encontrado en biopsias renales de pacientes con nefritis lúpica, sugiriendo su papel patogénico a nivel renal. La IL-17 puede participar en la activación de las células B en los pacientes con LES.^{29,30} Los factores ambientales son los principales generadores de IL-17 en pacientes con LES, lo que contribuye a la activación y reclutamiento de células inmunes (neutrófilos y células T) hacia los órganos blanco, amplificando la respuesta inmune.³⁰

Por otro lado, en la artritis reumatoide se ha demostrado que la actividad inflamatoria se puede transformar en destructiva por acciones que incluyen al sistema inmune innato y, en particular, a una pérdida del balance en la regulación de citocinas y de otros mediadores inflamatorios. En la red de citocinas es crucial el papel del TNF en la inflamación de la articulación como también IL-6 e IL1.³² El TNF es un potente inductor paracrino de otras citocinas inflamatorias, incluyendo IL-1, IL-6, IL-8 y GM-CSF. También estimula a los fibroblastos para expresar moléculas de adhesión, ICAM-1. Estas moléculas de adhesión interactúan con sus respectivos ligandos en la superficie de los leucocitos, produciendo un incremento del transporte de leucocitos a los sitios de inflamación, incluyendo a las articulaciones de los pacientes con artritis reumatoide. El bloqueo con anticuerpos anti-TNF reduce significativamente la producción de IL-1, IL-6, IL-8 y factores de crecimiento.³³

La IL-1 puede causar daño al estimular la liberación de metaloproteinasas por los fibroblastos y condrocitos. Las concentraciones del antagonista del receptor de IL-1 son elevadas en el líquido sinovial de pacientes con artritis reumatoide pero no es suficientemente alta para suprimir la inflamación.^{34, 35} La IL-6 se relaciona con diversos procesos biológicos como activación de las células T, la inducción de reactantes de fase aguda, la estimulación para la diferenciación y crecimiento de células precursoras hematopoyéticas, y la proliferación de fibroblastos sinoviales.³³

Las dos principales citocinas antiinflamatorias son IL-10 e IL-4. La IL-10 es capaz de inhibir la producción de IL-1 y TNF. IL-10 puede ser capaz de revertir la degradación de cartílago mediada por antígenos estimulantes de células mononucleares en los pacientes con artritis reumatoide. Aunque la IL-10 se encontró en el líquido sinovial de pacientes con AR, es insuficiente para suprimir la inflamación. La interleucina 4 (IL-4) es producida por células T cooperadoras CD4⁺ Th2 y participa en la diferenciación y crecimiento de las células B. In vitro, la IL-4 inhibe la activación de las células T cooperadoras tipo 1, con esto disminuye la producción de IL-1 y TNF e inhibe el daño articular. La IL-4 también inhibe la producción de IL-6 e IL-8. En muestras de cultivo de líquido sinovial de pacientes con AR, la IL-4 inhibe la producción de IL-1 e incrementa la expresión del receptor antagonista de IL-1, ambas acciones favorecen la disminución de la inflamación.^{33,36} En la interfaz entre pannus y el cartílago, se pueden observar macrófagos activos y fibroblastos sinoviales que expresan metaloproteinasas y catepsinas de matriz.

La IL-1 y el TNF estimulan la expresión de moléculas de adhesión sobre el endotelio y elevan el reclutamiento de neutrófilos en las articulaciones. Los neutrófilos liberan elastasa y proteasa, que degradan los proteoglucanos en la capa superficial del cartílago. La depleción de proteoglucanos favorece que los complejos inmunes se precipiten en la capa superficial del colágeno y condrocitos expuestos. Los condrocitos y los fibroblastos sinoviales liberan metaloproteinasas de matriz cuando son estimulados por la IL-1, TNF o células T CD4⁺ activadas. Las metaloproteinasas de matriz, en particular la estromelina y colagenasa, son enzimas que degradan la matriz del tejido conectivo y estos son los principales mediadores de daño articular en la artritis reumatoide.

En animales, las células T CD4⁺ activas estimulan la osteoclastogénesis; son la principal causa de daño articular independientemente de la producción de IL1 y TNF en pacientes con AR.³³

La información de la producción de citocinas relacionadas a Lupus es mínima. Al momento actual, solo existe un trabajo realizado en nuestro Instituto en el que se reportaron concentraciones similares de INF γ , IL-6, IL-4 e IL-10 a los pacientes con LES. En este estudio se encontró una correlación negativa de IL-6 con niveles de PCR entre los pacientes con LES y artritis no erosiva, en donde se ha reportado que si existe dicha correlación.¹³

VI. TIPO DE ESTUDIO

Estudio observacional, descriptivo y de corte transversal.

VII. MATERIAL Y MÉTODOS

Población objetivo:

Pacientes consecutivos a la consulta externa de Reumatología de nuestro Instituto, que satisfagan los criterios revisados de clasificación para lupus eritematoso sistémico del Colegio Americano de Reumatología¹. Para ser considerados como portadores de lupus, los pacientes además tendrán que cumplir con los siguientes criterios: (1) erosiones marginales en las pequeñas o medianas articulaciones de manos o pies, evidenciadas por radiología convencional; (2) presencia en suero de anticuerpos antinucleares por inmunofluorescencia indirecta; (3) seropositividad para factor reumatoide, anticuerpos contra péptidos cíclicos citrulinados, o ambos; y (4) cumplir los criterios de clasificación de la artritis reumatoide del Colegio Americano de Reumatología (previamente Asociación Americana del Reumatismo).

Adicionalmente, se incluirá un grupo de pacientes que también satisfagan los criterios de clasificación para lupus eritematoso sistémico sin artritis erosiva mediante radiografía convencional. Finalmente, se incluirá otro grupo de pacientes con artritis reumatoide, sin datos clínicos que sugieran LES.

Criterios de inclusión:

- a) Pacientes mayores de 18 años
- b) Diagnóstico establecido de lupus eritematoso sistémico y/o artritis reumatoide.
- c) Aceptar participar en el estudio

Criterios de exclusión:

- a) Presencia de un proceso infeccioso activo
- b) Diagnóstico previo o actual de neoplasia, independientemente de estirpe histológica

Criterios de eliminación:

- a) Retiro de consentimiento
- b) Pérdida significativa de muestras o de datos

TAMAÑO MUESTRAL.

No aplica. El presente es un estudio exploratorio, sobre un padecimiento del que hay descritos en la literatura internacional unos doscientos casos. Se utilizarán dos grupos de

comparación; un grupo de pacientes con LES y otro grupo de pacientes con artritis reumatoide.

Las variables clínicas y de laboratorio que se tomaron en cuenta para el estudio fueron: número de registro, edad, género, tiempo de evolución de la enfermedad, determinación de anticuerpos antinucleares (inmunofluorescencia indirecta sobre células HEp-2), especificidad para anticuerpos extraíbles del núcleo (anti-Ro/SSA, anti-La/SSB, anti-RNP y anti-Sm) determinados por inmunoensayo enzimático (ELISA), anticuerpos contra ADN de doble cadena (inmunofluorescencia indirecta sobre *Crithidia luciliae*), cuantificación de factor reumatoide y proteína C reactiva por nefelometría, velocidad de sedimentación globular, química sanguínea, biometría hemática completa.

Se obtuvieron 10 cc de sangre venosa por punción periférica en vena basílica y 4 ml de orina; las muestras fueron centrifugadas a 3000 rpm durante 15 minutos a 4°C. El suero y la orina se almacenó en alícuotas y se mantuvo en congelación a -70°C hasta su utilización.

La cuantificación de las citocinas IL-1, IL-6, IL-8, IL-17, TNF, TNF-RI se realizó mediante inmunoensayo enzimático (R&D Systems).

Estadística:

Las variables dicotómicas se describieron mediante porcentajes y el contraste entre grupos se realizó mediante la prueba chi cuadrada. Las variables ordinales y dimensionales se describen mediante mediana e intervalos mínimo y máximo, mientras que los contrastes entre grupos se realizaron mediante prueba de Kruskal-Wallis (análisis *post hoc* con prueba de Mann-Whitney).

Todos los análisis se realizaron a dos colas y se asignó un valor de significancia estadística con $p < 0.05$. Todos los análisis se procesaron mediante el programa estadístico GraphPad Prism versión 4.02

VIII. RESULTADOS

Se incluyeron un total de 36 pacientes; 7 pacientes con diagnóstico de Rupus, 14 pacientes con artritis reumatoide, 15 pacientes con lupus eritematoso sistémico.

Las características generales de los pacientes se presentan en la Tabla 1.

El 94% de los pacientes que se incluyeron pertenecían al género femenino, en el grupo de AR hubo una frecuencia de 13 de 14, en el grupo de Rupus 7 de 7 y en el grupo de LES 14 de 15 pacientes.

El grupo de edad de 41 a 60 años fue el que predominó en los grupos de AR y Rhupus, no siendo así para el grupo de LES en quienes predominó el grupo de edad de 18 a 40 años. La mediana de edad en los pacientes con AR fue de 56.5 años (mínima de 29 años y máxima de 75 años), en Rupus la mediana de edad fue de 45 años (38- 63 años) y en LES la mediana de edad fue de 33 años (20- 49 años). Se encontró significancia estadística con $p=0.001$ al realizar el análisis entre el grupo de AR vs LES y Rupus vs LES.

En cuanto al tiempo de evolución de las enfermedades la mediana para AR fue de 15 años (5-38 años), en Rupus, las manifestaciones tipo artritis reumatoide fueron de 20 años (2- 40 años), para las manifestaciones tipo lupus eritematoso la mediana fue de 7 años (3- 27 años). La mediana en LES fue de 7 años (5-18 años).

Dentro del esquema de tratamiento con Fármacos Modificadores de Enfermedad (FARME) utilizados, en AR la mediana fue doble terapia (2- 3), en Rupus la mediana fue doble terapia (1- 3), en LES la mediana fue de 1.5 (1- 3). Se presentó significancia estadística ($p=0.02$) cuando se comparó el grupo de AR con LES. Es importante mencionar que la terapia de FARME más usada en el grupo de AR y Rupus fue la combinación de Metotrexato e hidroxicloroquina y en el grupo LES la terapia de FARME más usada fue la monoterapia con hidroxicloroquina.

La administración de glucocorticoides (Prednisona) durante el estudio no presentó diferencia estadísticamente significativa, sin embargo el antecedente de la administración de glucocorticoides se presentó con una frecuencia en el grupo de AR de 8 de 14 pacientes, en Rupus en 6 de 7 pacientes y en el grupo de LES se administró en todos los pacientes. Se presentó significancia estadística ($p=0.01$) cuando se analizó el grupo de AR contra LES.

De acuerdo a los criterios de clasificación de AR del ACR, los pacientes del grupo de AR los cumplieron con una mediana de 6 criterios (5-7 criterios), los pacientes con Rupus cumplieron los criterios con una mediana de 6 (5- 6 criterios) y en los pacientes con LES la mediana fue de 0 (0-5 criterios). Se presentó significancia estadística ($P < 0.0001$) al analizar los grupos de AR contra LES y Rupus contra LES.

En cuanto a los criterios de clasificación para LES del ACR, en los pacientes con AR la mediana fue de 0 criterios (0- 2 criterios), en los pacientes con Rupus la mediana fue de 7 criterios (6-8 criterios) y en los pacientes con LES la mediana fue de 6 criterios (4-9 criterios). Se presentó significancia estadística ($P < 0.0001$) al analizar los grupos de AR contra Rupus y AR contra LES.

Se cuantificó la actividad por medio de SLEDAI, reportándose en 0 puntos en los pacientes con AR, en los pacientes con Rupus la mediana fue de 4 puntos (0-12 puntos) y en los pacientes con LES la mediana fue de 2 puntos (0-10 puntos). Se alcanzó una significancia estadística ($P = 0.002$) al analizar el grupo de AR contra el de LES.

En la escala de cronicidad SLICC/ACR, se encontró un puntaje de 0 para los pacientes con AR, en los pacientes con Rupus la mediana fue de 2 puntos (0-7 puntos) y en LES la mediana fue de 0 puntos (0- 5 puntos). Se reportó una P estadísticamente significativa ($P = 0.01$) al analizar el grupo de AR contra Rupus.

En el DAS-28 en los pacientes con AR se presentó una mediana de 4.48 puntos (0- 6.695 puntos), en los pacientes con Rupus la mediana fue de 0 (0- 0.455 puntos) y en los pacientes con lupus la mediana fue de 0 (0- 4.1 puntos). Se reportó una P estadísticamente significativa ($p < 0.0001$) al analizar los grupos de AR contra Rupus y AR contra LES.

Los resultados de los exámenes de laboratorio generales de los pacientes se presentan en la Tabla 2:

En los valores de PCR, en el grupo de AR la mediana fue de 11.7 mg/L (0.38 mg/L- 26.6 mg/L), en los pacientes con Rupus la mediana fue de 5.3 mg/L (0.757- 12.9 mg/L) y en los pacientes con LES la mediana fue de 5.38 mg/L (0.619- 28.7 mg/L). Se reportó significancia estadística ($P = 0.02$) al analizar los grupos de AR contra Rupus y AR contra LES.

En cuanto a los valores de leucocitos, linfocitos, neutrófilos, Hb, creatinina, BUN, depuración de creatinina y proteinuria en orina de 24 hrs, no se encontró significancia estadística.

La mediana de las cifras de plaquetas en los pacientes con AR fue de 282, 500 (120, 000-368,000), la mediana en los pacientes con Rupus fue de 181,000 (79,000-279,000) y en los pacientes con LES la mediana fue de 248,000 (146,000-431,000). Se reportó una P significativa ($P= 0.03$) al analizar el grupo de AR contra Rupus.

Los resultados de los estudios inmunológicos se reportan en la Tabla 3.

No se conto con determinaciones de C3 en los pacientes con AR, en los pacientes con Rupus la mediana fue de 75.3 mg/dL (35.1- 85.8 mg/dL) y en los pacientes con LES la mediana fue de 68.4 mg/dL (16-133 mg/dL).

No se contó con determinaciones de C4 en los pacientes con AR, en los pacientes con Rupus la mediana fue de 11.6 mg/dL (3.63-27 mg/dL) y en los pacientes con LES la mediana fue de 10.1 mg/dL (2.72- 17.5 mg/dL).

El factor reumatoide (FR) se reportó en todos los grupos estudiados, la mediana en los pacientes con AR fue de 400 UI (85- 2720 UI), en los pacientes con Rupus la mediana fue de 244 UI (0-2790 UI) y en los pacientes con LES la mediana fue de 28.3 UI(0-78 UI). Con significancia estadística ($P= 0.01$) al analizar el grupo de AR contra LES.

Los anticuerpos anti-CCP positivos, se presentaron con una frecuencia en 5 de 5 pacientes con AR, 3 de 6 en Rupus y 1 de 4 con LES. Se presentó significancia estadística al analizar el grupo de AR vs LES ($P= 0.04$).

Los anticuerpos antinucleares (ANA) positivos se presentaron en el 100% de los pacientes con Rupus y LES. No se contó con ANA en los pacientes con AR.

Los anticuerpos contra Sm (anti- Sm) positivos, se presentaron con una frecuencia de 0 de 6 pacientes en el grupo de Rupus y en 8 de 14 en el grupo de LES. Se reportó una P estadísticamente significativa ($P= 0.04$) al analizar el grupo de Rupus contra LES.

No se presentó significancia estadística en los títulos de ANA, anti-DNA dc, anti-Ro, anti-La y anti-RNP.

Los resultados de los valores de las citocinas se encuentran en la Tabla 4.

En los valores de IL-1, IL-6, IL-8, IL-17, TNF en suero y orina, no se presentó significancia estadística.

En el receptor soluble de TNF en suero se reportó una mediana de 220 pg/mL (0- 390 pg/mL) en el grupo de AR, una mediana de 325 pg/mL (156- 394 pg/mL) en los pacientes con Rupus y una mediana de 229 pg/mL (100- 483 pg/mL) en los pacientes con LES.

El receptor soluble de TNF en orina, se reportó una mediana de 295 pg/mL (79- 437 pg/mL), una mediana de 291 pg/mL(158- 366 pg/mL) en los pacientes con Rupus y una mediana de 289 pg/mL (51-500 pg/mL) en los pacientes con LES.

IX. DISCUSIÓN

1. Nuestro estudio es uno de los primeros en los que se estudia las diferentes concentraciones de las citocinas en lupus, AR y LES.
2. Como se ha reportado previamente y como se muestra en nuestro estudio, la enfermedad llamada Lupus comparte características clínicas y serológicas tanto de AR como de LES.
3. El papel de los anticuerpos anti-Smith en lupus está muy bien sustentado, incluso se le ha relacionado con enfermedad renal tipo membranosa, en nuestro estudio no se encontró ningún paciente con Lupus portador de anticuerpos anti Smith. Probablemente el Lupus no comparta todos los marcadores bioquímicos que se han encontrado en lupus y probablemente la fisiopatología renal en Lupus se pueda explicar por otras causas no dependientes de este anticuerpo.
4. En este estudio no encontramos diferencia en las concentraciones de citocinas (IL-1, IL-6, IL-8, IL-17 y TNF en sangre y orina) en los tres grupos estudiados; esto se podría explicar por el nivel de actividad de la enfermedad, ya que la mayoría de los pacientes tenía una enfermedad controlada. Por lo tanto no se encontró un perfil específico de citocinas para Lupus.
5. En nuestro estudio se reportó un hallazgo inesperado pero relevante; encontramos niveles elevados del receptor inhibitor del factor de necrosis tumoral (TNF-RI) en los 3 grupos tanto en sangre como en orina. Existen pocos reportes en donde se ha relacionado este receptor como un inductor directo o indirecto de la proliferación celular, además de la expresión de moléculas de adhesión (ICAM), que se expresan en los queratinocitos expuestos a la radiación solar en LES.³⁸ Esta elevación del TNF-RI podría representar otro biomarcador en las enfermedades reumatológicas; debido a las medianas en las determinaciones séricas y la orina fueron muy similares, para los pacientes las determinaciones en las muestras de orina podría ser una opción adecuada porque se evitaría el dolor de la punción para las determinaciones séricas y podría mostrar cambios mas representativos de lo que sucede a nivel renal. Debido a que en nuestro estudio se incluyeron pocos pacientes (principalmente por la escasa cantidad de pacientes con diagnóstico de Lupus), se deberán realizar estudios con una mayor cantidad de pacientes, así como incluir pacientes con índices de actividad moderados a altos para determinar cambios en el nivel de las citocinas, principalmente en TNF-RI y de acuerdo a esto se determinará la posibilidad de que sea otro biomarcador de las enfermedades reumatológicas.

X. CONCLUSIONES

1. No se encontró un perfil específico de citocinas en Lupus.
2. Nuestros resultados sugieren que TNF-RI puede ser un biomarcador sérico o en orina de interés en enfermedades reumatológicas.

XI. APÉNDICE

TABLA 1. Características Generales de los pacientes.

	AR (n=14)	Rhupus (n=7)	LES (n=15)	P
Género				
Femenino	13/14	7/7	14/15	NS
Edad				
18 a 40 años	3	1	10	
41 - 60 años	6	5	5	
Más de 61 años	5	1	0	
Mediana (min-max)	56.5 (29-75)	45 (38-63)	33 (20-49)	0.001 ^{bc}
Evolución		AR/LES		
Menos 10 años	6	2/5	13	
De 11 a 20 años	5	2/0	2	
Más de 21 años	3	3/2	0	
Mediana (min-max)	15 (5-38)	20 (2-40) / 7 (3-27)	7 (0.5-18)	NS
FARME				
Monoterapia	0	2	7	
Doble terapia	9	4	6	
Triple terapia	5	1	2	
Mediana (min-max)	2 (2-3)	2 (1-3)	1.5(1-3)	0.02 ^b
Glucocorticoides durante el estudio				
Si	6	4	12	NS
Glucocorticoides previos				
Si	8	6	15	0.01 ^b
Criterios de ACR para AR				
≤ 4 criterios			3	
5 criterios	2	3	1	
6 criterios	9	4	0	
> 7 criterios	3	0	0	
Mediana (min-max)	6 (5-7)	6 (5-6)	0 (0-5)	<0.0001 ^{bc}
Criterios de ACR para LES				
≤ 2 criterios	1			
De 4 a 5 criterios	0		5	
De 6 a 7 criterios	0	6	7	
> 8 criterios	0	1	3	
Mediana (min-max)	0(0-2)	7 (6-8)	6 (4-9)	<0.0001 ^{a,b}
SLEDAI				
< 3 puntos	0	0	8	
De 4 a 10 puntos	0	3	7	
> 11 puntos	0	1	0	
Mediana (min-max)	0	4 (0-12)	2 (0-10)	0.002 ^b
SLICC/ACR				
0	0	0	9	
1-2 puntos	0	3	3	
3-5 puntos	0	1	3	
Más de 6 puntos	0	1	0	
Mediana min-max)	0	2 (0-7)	0 (0-5)	0.01 ^a
DAS-28				
< 4 puntos	3	0	0	
De 4.1 a 6 puntos	10	1	1	
Más > 6.1 puntos	1	0	0	
Mediana (min-max)	4.48 (0- 6.95)	0 (0-0.455)	0 (0-4.13)	<0.0001 ^{a,b}

^a AR vsRupus <0.05

^b AR vs LES <0.05

^c Rupus vs LES <0.05

NS= no significativo.

TABLA 2. Resultados de los exámenes de laboratorio generales de los pacientes.

	AR (n=14)	Rhupus (n=7)	LES (n=15)	P
PCR mg/L				
< 9	4	6	10	
De 9.1 a 20	6	1	4	
Mas > 21	4	0	1	
Mediana (min-max)	11.7 (0.38-26.6)	5.3 (0.757-12.9)	5.38 (0.619-28.7)	0.02
Leucocitos				
< 3000	0	1	0	
De 3000 a 5000	6	2	6	
> 5100	8	4	9	
Mediana (min-max)	5300 (4100-12700)	5500 (2200-7300)	5500 (3000-11300)	NS
Linfocitos				
≤ 600	1	0	4	
De 601 a 1500	9	6	8	
> 1600	4	1	3	
Mediana (min-max)	1250 (600-3200)	1200 (700-1600)	1300 (400-2700)	NS
Neutrófilos				
< 1500	0	1		
De 1500 a 3000	7	2	5	
> 3100	7	4	10	
Mediana (min-max)	3500 (2000-6000)	3400 (900-5000)	4000 (2000-10000)	NS
Hemoglobina				
< 12	4	1	7	
De 12.1 a 14	7	3	5	
> 14.1	3	3	3	
Mediana (min-max)	13.2 (9.6-14.6)	13.1 (10.2-15.2)	12.7 (8.6-15.7)	NS
Plaquetas				
< 150,000	1	3	1	
De 15,000 a 350,000	10	3	11	
> 351,000	3	1	3	
Mediana (min-max)	282 500 (120000-368000)	181000 (79000-279000)	248000 (146000-431000)	0.03 ^a
Creatinina mg/dL				
≤ 0.99	13	5	10	
De 1 a 3	1	2	4	
> 4	0	0	1	
Mediana (min-max)	0.655 (0.53-1.01)	0.74 (0.51-1.43)	0.76 (0.49-4.64)	NS
BUN mg/dL				
≤ 10	2	1	4	
De 10.1 a 20	9	4	7	
> 21	3	2	4	
Mediana (min-max)	16.475 (9.1-24.6)	16.47 (9.1-36.02)	11.93 (8.1-62.98)	NS
Dep. creatinina				
> 90 ml/min	7	1	9	
De 89 a 60	6	4	4	
De 59 a 30	1	2	1	
< 29	0	0	1	
Mediana (min-max)	96 (58-145)	83 (33-125)	106(17-168)	NS
Proteinuria en orina de 24 hrs g/día				
< 0.5		5	10	
De 0.51 a 1.9		2	2	
> 2		0	3	
Mediana (min-max)	ND	0.186 (0.054-0.586)	0.274 (0-130)	NS

^a AR vsRupus <0.05 ^b AR vs LES <0.05 ^c Rupus vs LES <0.05 ND=No disponible. NS= no significativo.

TABLA 3. Resultados de los estudios inmunológicos en los diferentes grupos de estudio.

	AR (n=14)	Rhupus (n=7)	LES (n=15)	P
C3 mg/dL	ND	75.3 (35.1-85.8)	68.4 (16-133)	NS
C4 mg/dL	ND	11.6 (3.63-27)	10.1 (2.72-17.5)	NS
FR UI	400 (85-2720)	244 (0-2790)	28.3 (0-78)	0.01 ^b
CCP +	5/5	3/6	1 de 4	0.04 b
ANA +	ND	7/7	15/15	NS
ANA titulación	ND	1280 (160-5120)	1920 (40-5120)	NS
dsDNA +	ND	4/7	12/14	NS
Ro/SSA +	ND	2/7	3/13	NS
La/SSB +	ND	2/6	1/13	NS
Sm +	ND	0/6	8/14	0.04 ^c
RNP +	ND	2/7	10/15	NS

^a AR vsRupus <0.05 ^b AR vs LES <0.05 ^c Rupus vs LES <0.05 ND=No disponible. NS= no significativo.

TABLA 4. Resultados de citocinas en los diversos grupos.

	AR (n=14)	Rhupus (n=7)	LES (n=15)	P
IL-1s pg/mL	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	NS
IL-6s pg/mL	0 (0-54)	0 (0-0)	0 (0-0)	NS
IL-8s pg/mL	0 (0-36)	0 (0-33)	0 (0-32)	NS
IL-17s pg/mL	0 (0-77)	0 (0-21)	0 (0-0)	NS
TNFs pg/mL	0 (0-92)	0 (0-0)	0 (0-0)	NS
TNF RIs pg/mL	220 (0-390)	325 (156-394)	229 (100-483)	NS
IL-1orina pg/mL	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	NS
IL-6 orina pg/mL	0 (0-1)	0 (0-329)	0 (0-212)	NS
IL-8 orina pg/mL	0 (0-60)	0 (0-177)	0 (0-603)	NS
IL-17orina pg/mL	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	NS
TNF orina pg/mL	0 (0-22)	0 (0-32)	0 (0-24)	NS
TNFRI orina pg/mL	295 (79-437)	291 (158-366)	289 (51-500)	NS

NS= no significativo.

XII. REFERENCIAS

1. Schur PH. Systemic lupus erythematosus. En: Beeson PB, McDermott W (Ed): Cecil-Loeb Textbook of Medicine, ed. 13. Philadelphia, WB Saunders Co., 1971, p 821.
2. Toone EC Jr, Irby R, Pierce EL. The LE cell in rheumatoid arthritis. *Am J Med Sci* 1960; 240:599-608.
3. Kantor GL, Bickel YB, Barnett EV. Coexistence of systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis: Report of a case and review of the literature, with clinical, pathological and serological observations. *Am J Med* 1969; 47:433-44.
4. Cohen MG, Webb J. Concurrence of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus: report of 11 cases. *Ann Rheum Dis* 1987; 46:853-8.
5. Panush RS, Edwards NL, Longley S, Webster E. "Rhupus syndrome". *Arch Intern Med* 1988;148:1633-6.
6. Icen M, Nicola PJ, Maradit-Kremers H, et al. Systemic lupus erythematosus features in rheumatoid arthritis and their effect on overall mortality *J Rheumatol* 2009;36:50-7.
7. Simon JA, Granados J, Cabiedes J, et al. Clinical and immunogenetic characterization of Mexican patients with 'rhupus'. *Lupus* 2002;11:287-92.
8. Rodríguez-Reyna TS, Alarcón-Segovia D. Overlap syndromes in the context of shared autoimmunity. *Autoimmunity* 2005;38:219-23.
9. Mediawake R, Isenberg DA, Schellekens GA, et al. Use of anti-citrullinated peptide and anti-RA33 antibodies in distinguishing erosive arthritis in patients with systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2001;60:67-8.
10. Amezcua-Guerra LM, Springall R, Marquez-Velasco R, et al. Presence of antibodies against cyclic citrullinated peptides in patients with "rhupus": a cross sectional study. *Arthritis Res Ther* 2006;8:R144.
11. Martínez JB, Valero JS, Bautista AJ, et al. Erosive arthropathy: clinical variance in lupus erythematosus and association with anti-CCP case series and review of the literature. *Clin Exp Rheumatol* 2007;25:47-53.
12. Damián-Abrego GN, Cabiedes J, Cabral AR. Anti-citrullinated peptide antibodies in lupus patients with or without deforming arthropathy. *Lupus* 2008;17:300-4.
13. Amezcua-Guerra LM, Marquez-Velasco R, Bojalil R. Erosive arthritis in systemic lupus erythematosus is associated with high serum C-reactive protein and anti-cyclic citrullinated peptide antibodies. *Inflamm Res* 2008;57:555-7.

14. Amezcua-Guerra LM. Overlap between systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis: Is it real or just an illusion?. *J Rheumatol* 2009;36:4-6.
15. Rahman A: Cytokines in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Research & Therapy*.2003;5(4):160-4.
16. Kirou KA, Salmon JE, Crow MK: Soluble mediators as therapeutic targets in systemic lupus erythematosus: cytokines, immunoglobulin receptors, and the complement system. *Rheum Dis clin Am*. 2006;32:103-119.
17. Pascual V, Farkas L, Banchereau J: systemic lupus erythematosus: all roads lead to type I interferons. *Current Opinion in immunology*.2006;18:676-82.
18. Kyttaris VC, Yuang-Taung J, Tsokos GC: Immune cell and cytokines in systemic lupus erythematosus: an update. *Current Opinion in Rheumatology*.2005;17:518-22.
19. Means TK, Latz E, Hayashi F, et al: Human lupus autoantibody-DNA complexes activate DCs through cooperation of CD32 and TLR9.*J Clin Invest*. 2005; 115:407-17.
20. Blanco P, Pitard V, Viallard JF, Et al: Increase in activated CD8+ T lymphocytes expressing perforin and granzyme B correlates with disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2005;52:201-11.
21. Jegou G, Pascual V, Palucka AK, Banchereau J: Dendritic cells control B cell growth and differentiation. *Curr Dir Autoimmun*.2005; 8:124-39.
22. Hin YDY, Lai N. Cytokines and their roles in their pathogenesis of systemic lupus erythematosus: from basics to recent advances. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*.2010;36:1-10.
23. Hirohata S, Kanai Y, Mitsuo A, et al: Accuracy of cerebrospinal fluid IL-6 testing for diagnosis of lupus psychosis. A multicenter retrospective study. *Clinical Rheumatology*, 2009; 28(11): 1319–23.
24. Tang Y, Lou X, Cui H, Ni X, et al: Micro RNA-146 contribute to abnormal activation of the type I interferon pathway in human lupus by targeting the key signaling proteins. *Arthritis & Rheumatism*.2009;60(4):1065-75.
25. Illei G, Yarboro G, Shirota Y, et al: Tocilizumab (humanized anti-IL6 Receptor Monoclonal Antibody) in patients with systemic lupus erythematosus (SLE): safety, tolerability and preliminary efficacy. *Arthritis & Rheumatism*.2006;54 (12): 4043-50.
26. Uhm WS, Na K, Song GW, et al: "Cytokine balance in kidney tissue from lupus nephritis patients. *Rheumatology*.2003;42 (8): 935-8.

27. Llorente L, Richaud-Patin Y, García-Padilla G, et al. Clinical and biological effects of anti-interleukin-10 monoclonal antibody administration in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.*2000;43:1790-1800.
28. Tyrrell PJ, Lydyard PM, Isenberg DA: The effect of interleukin-10 and interleukin-12 on the in-vitro production of anti-double-stranded DNA antibodies from patients with systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol.* 2001; 124:125-30.
29. Nalbandian A, Crispin JC, Tsokos GC: Interleukin- 17 and systemic lupus erythematosus: current concepts. *Clinical and Experimental Immunology.* 2009;157 (2): 209–15.
30. Crispín JC, Tsokos GC. IL-17 in Systemic lupus Erythematosus. *Journal of Biomedicine and Biotechnology.*2010;94:1-4.
31. Leandro MJ, Edwards JC, Cambridge G, et al: An open study of B cell depletion in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2002; 46:2673-7.
32. Klareskog L, Catrina AI, Paget S. Rheumatoid arthritis. *The Lancet.* 2009;373:659-72.
33. Choy EHS, Panayi GS. Cytokine pathways and joint inflammation in Rheumatoid Arthritis. *N Engl J Med.*2001;344(12):907-16.
34. Miossec P. An update on the cytokine network in rheumatoid arthritis. *Current Opinion in Rheumatology.*204;16:218-22.
35. Lee DM, Weinblatt ME. Rheumatoid arthritis. *The Lancet.*2001;358:903-11.
36. Isomäki P, Punnonen J. Pro- and anti-inflammatory cytokines in rheumatoid arthritis. *Ann Med* 1997;29:499-507.
37. Trefzer U, Brockhaus M, Lötscher H, et al. The 55-KD tumor necrosis receptors on human keratinocytes is regulated by tumor necrosis factor alpha and by ultraviolet B radiation. *J Clin Invest.*1993;92-46270.