



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**MAESTRIA EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
FACULTAD DE MEDICINA  
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y  
NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN  
DEPARTAMENTO DE INMUNOLOGÍA Y REUMATOLOGÍA**

**FACTORES CLÍNICOS E INMUNOLÓGICOS ASOCIADOS A LA  
PRESENTACIÓN DE MANIFESTACIONES NEURO-PSIQUIÁTRICAS  
EN PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO GENERALIZADO**

**TESIS**

**QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:  
MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS  
PRESENTA**

**DRA. HILDA ESTHER FRAGOSO**

**TUTOR**

**DR. LUIS LLORENTE PETERS**

**MAESTRIA EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS  
Y DE LA SALUD**

**MÉXICO, D.F. AGOSTO DE 2014.**



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.

## INDICE

TABLA DE CONTENIDO	PÁGINAS
Resumen	3-5
1.1 Marco Teórico	6-16
1.2 Justificación	16
1.3 Hipótesis	16
1.4 Objetivos	17
1.5 Pacientes y Métodos	18-23
1.6 Resultados	24-31
1.7 Discusión	31-38
1.8 Conclusiones	39-40
1.9 Limitaciones	40-42
1.10 Fortalezas	42-43
1.11 Perspectivas	43
1.12 Referencias Bibliográficas	44-55
1.13 Producción Científica	56
Apéndice 1. Resultados tablas y figuras	57-67
Apéndice 2. Definiciones operacionales	68-78

## RESUMEN

El lupus eritematoso generalizado (LEG) es una enfermedad crónica, autoinmune, de etiología desconocida que presenta manifestaciones clínicas heterogéneas incluidas las neuro-psiquiátricas. La prevalencia de éstas oscila entre 14 y 75%, de acuerdo a la metodología utilizada para clasificarlas. Se ha descrito una amplia gama de manifestaciones neuro-psiquiátricas (NP) en pacientes con LEG sin embargo, la atribución de las manifestaciones neuro-psiquiátricas en estos pacientes es muy compleja debido a la coexistencia de factores relacionados y no relacionados a la enfermedad. Se desconoce el mecanismo patogénico de las manifestaciones neuro-psiquiátricas en pacientes con LEG y hasta ahora, no se han identificado marcadores específicos de afección al sistema nervioso central atribuidos a LEG. El **objetivo** del estudio fue identificar las variables clínicas e inmunológicas asociadas a manifestaciones NP graves en pacientes con LEG. **Diseño:** casos y controles. **Casos:** Se incluyeron pacientes con diagnóstico de LEG que presentaron manifestaciones NP graves y que requirieron hospitalización para su abordaje diagnóstico y tratamiento (**LEG-NP**). **Controles:** 4 grupos: **Grupo I. LEG-no-NP:** Pacientes con diagnóstico de LEG que fueron hospitalizados por actividad no NP del LEG. **Grupo II. LEG quirúrgico (LEG-qx):** Pacientes con LEG que fueron sometidos a cirugía electiva, requirieron bloqueo espinal y consintieron donar muestra de líquido cefalorraquídeo (LCR). **Grupo III. LEG-ms:** Pacientes con LEG que presentaron un episodio de meningitis infecciosa confirmado mediante cultivo de LCR. **Grupo IV. (No- AU):** Sujetos sin enfermedad autoinmune o neuro-psiquiátrica que fueron sometidos a cirugía electiva, requirieron bloqueo espinal y consintieron donar muestra de LCR. Los pacientes fueron evaluados por un reumatólogo, un neurólogo y/o psiquiatra según se requirió durante su hospitalización de acuerdo con un protocolo estandarizado. Los diagnósticos neuro-psiquiátricos se establecieron con base a la historia clínica, examen físico, estudios de laboratorio y de gabinete indicados por los médicos tratantes

y se clasificaron de acuerdo a la nomenclatura utilizada por el Colegio Americano de Reumatología. **Variables estudiadas:** se analizaron las características demográficas y clínicas asociadas al LEG, se midieron niveles de autoanticuerpos en suero y LCR (anti-DNA<sub>ds</sub>, anti P ribosomal, anti-NMDA, anti-cardiolipina del isotipo IgG y anti-beta 2 glicoproteína I del isotipo IgG) por medio de ensayo inmunoenzimático (ELISA) y anticuerpos anti-nucleares por inmunofluorescencia al momento de la hospitalización y seis meses después en los casos y en los grupos control I y II. En el resto de los controles únicamente al momento de la hospitalización. Para el análisis de autoanticuerpos Los pacientes del grupo I se clasificaron en 2 grupos: 1. **LEG-NP central:** Pacientes con manifestaciones NP focales o difusas que involucraron el SNC. 2. **LEG-NP periférico:** Pacientes que presentaron manifestaciones neurológicas extracraneales o a nivel periférico. En LCR se midieron además, las citocinas Th1/Th2 (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  e IFN- $\alpha$ ) y las quimiocinas (CCL-2/MCP1, CCL5/RANTES, CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10). Estas últimas fueron analizadas por medio de citometría de flujo al momento de la hospitalización y seis meses después en los casos y en los grupos control II, III y en el grupo IV, únicamente al momento de la hospitalización. Se realizó la correlación entre los anticuerpos en suero y LCR. **Resultados:** Incluimos a 47 pacientes en el grupo LEG-NP, 42 con manifestaciones a nivel de SNC (LEG-NP<sub>c</sub>) y 5 con manifestaciones a nivel periférico (LEG-NP<sub>p</sub>); 49 pacientes conformaron el grupo LEGAc-no-NP, 16 pacientes en el grupo LEG-qx, 6 pacientes en el grupo LEG-ms y 25 pacientes en el grupo No-AU. No se encontraron diferencias significativas en la edad entre los grupos de pacientes estudiados. Todos los pacientes con LEG, excepto el grupo LEG-qx, tuvieron actividad de la enfermedad de moderada a grave y se encontraban bajo tratamiento con dosis altas de esteroides. Las manifestaciones NP se clasificaron: a) LEG-NP central (n = 42): 16 crisis convulsivas, 9 cefaleas refractarias, 8 estados confusionales agudos, 7 eventos vasculares cerebrales, 1 psicosis y 1 pseudotumor cerebri y b)

LEG-NP periférico (n = 5): 3 mononeuritis múltiple, 1 mielitis transversa y 1 polineuropatía.

**Anticuerpos:** El comportamiento de los auto-anticuerpos es diferente en el suero y el LCR. En el suero no hay asociación entre la presencia de autoanticuerpos y manifestaciones neuro-psiquiátricas. En LCR, los anticuerpos anti-NMDAR identifican a pacientes con manifestaciones neuro-psiquiátricas difusas a nivel central, sin embargo, su presencia en el grupo LEG-ms así como en pacientes con LEGNP con manifestaciones a nivel central seis meses después del episodio agudo, cuestiona sobre las circunstancias en las que dichos auto-anticuerpos pueden ser patogénicos.

Observamos correlación positiva, significativa de los anticuerpos anti-DNA<sub>dc</sub> y anti-NMDA en los pacientes con LEG estudiados, incluyendo aquellos sin manifestaciones NP, lo que sugiere que dicha correlación es inespecífica.

**Citocinas y quimiocinas:** El hallazgo más importante fue que al comparar los casos vs el grupo LEG-ms los niveles de las moléculas estudiadas excepto TNF- $\alpha$  se encontraron significativamente más elevados en los pacientes infectados en comparación con los casos. En la evaluación 6 meses después cuando la manifestación estaba clínicamente en remisión, observamos que en los casos todas las moléculas con excepción de RANTES se encontraron significativamente disminuidas por lo que concluimos que en la patogénesis de las manifestaciones NP en pacientes con LEG interviene una respuesta inflamatoria mediada por IL-6 y quimiocinas.

**Conclusiones:** La cuantificación de IL-6 y quimiocinas en LCR parecen ser indicadores de compromiso del SNC en LEG, y podrían ser útiles en el seguimiento y en la valoración de la respuesta al tratamiento en este grupo de pacientes. Nuestros resultados no apoyan la cuantificación de los auto-anticuerpos estudiados como una herramienta diagnóstica de manifestaciones NP en pacientes con LEG.

## 1.1 MARCO TEÓRICO

El lupus eritematoso generalizado (LEG) es una enfermedad crónica, autoinmune, de etiología desconocida que presenta manifestaciones clínicas heterogéneas incluidas las neuro-psiquiátricas (1). La prevalencia de éstas oscila entre 14 y 75%, de acuerdo a la metodología utilizada para clasificarlas (2).

Se ha descrito una amplia gama de manifestaciones neuro-psiquiátricas (NP) en pacientes con LEG que van desde manifestaciones comunes como cefalea, deterioro cognitivo y trastornos del comportamiento, hasta episodios menos frecuentes, pero de importante gravedad, como crisis convulsivas, estado confusional agudo, mielopatía y psicosis entre otros. Sin embargo, la atribución de las manifestaciones neuro-psiquiátricas en estos pacientes es muy compleja debido a la coexistencia de factores relacionados y no relacionados a la enfermedad (3).

Otras condiciones médicas como la hipertensión arterial grave, alteraciones metabólicas o el tratamiento con esteroides, son capaces de causar las mismas manifestaciones NP y no es raro que coexistan en pacientes con LEG, dificultando aún más el diagnóstico (3).

En diversas series, se ha reportado que las manifestaciones neuro-psiquiátricas son una de las principales causas de daño irreversible en este grupo de pacientes (4-8).

En la patogénesis de las manifestaciones NP en LEG se han implicado diversos mecanismos (9):

- **Vasculares (isquemia, hemorragia)**
- **Daño a nivel de sustancia blanca (síndromes desmielinizantes)**
- **Disfunción neuronal (mediada por autoanticuerpos y moléculas inflamatorias).**

### **Vasculares**

El papel que juega la isquemia en la génesis de las alteraciones neuro-psiquiátricas en los pacientes con lupus es generalmente aceptado como el principal. La reperfusión de un área isquémica conlleva el riesgo de edema y hemorragia.

Los factores que contribuyen al desarrollo de isquemia son principalmente:

**i ) Anticuerpos anti-fosfolípidos (AFL).** Son los que más se han estudiado en el contexto de manifestaciones NP en pacientes con LEG. Los dos clásicos componentes de los AFL son los anticuerpos anti-cardiolipina (AFL) y el anticoagulante lúpico (ACL). Algunos reportes se enfocan directamente con su participación en los mecanismos patogénicos, otros con su asociación con manifestaciones NP específicas y otros, evalúan su asociación con estudios de imagen (10-16). Existe evidencia de la relación que tienen con la generación de trombosis y la activación plaquetaria (17). Además, aparentemente contribuyen al desarrollo de placas de ateroma (18-19). Se ha reportado la asociación entre enfermedad vascular cerebral (infarto cerebral) con la presencia del anticoagulante lúpico (ACL) como se demostró en un estudio prospectivo en el que 37 pacientes con ACL positivo desarrollaron mas frecuentemente y de manera tardía, infarto cerebral en comparación con 37 pacientes con ACL negativo pareados por edad y sexo. (20). Sin embargo en otros estudios no se corrobora dicha asociación (21-23). Los anticuerpos AFL y el ACL se han asociado significativamente con el desarrollo de trombosis arterial a nivel miocárdico y cerebral así como trombosis venosa en pacientes con LEG. En otro estudio (24) con 175 pacientes, el anticoagulante lúpico fue el factor de riesgo más importante para el desarrollo de trombosis arterial (OR 9.77, IC 95% 1.74-31.159 y venosa (OR 6.6, IC 95% 2.36- 18.17).

**ii) Vasculopatía de pequeño vaso (microangiopatía) y vasculitis.** En estudios de autopsia se ha observado que el compromiso del SNC en pacientes con LEG se debe primariamente a enfermedad vascular afectando vasos de pequeño calibre produciendo microinfartos, hemorragias o necrosis de sustancia blanca. (25-27). La presencia de vasculitis *per se*



(infiltración de células inflamatorias dentro de la pared vascular) es infrecuente, sin embargo, se han observados células inflamatorias a nivel perivascular (27).

De estos estudios se puede concluir que no existe una lesión patognomónica que distinga a la manifestación neuropsiquiátrica causada por LEG; que los cambios degenerativos y proliferativos en vasos de pequeño calibre no son diferentes de los cambios observados en encefalopatía hipertensiva; y que la manifestación neuropsiquiátrica no puede ser explicada por los hallazgos en estudios de histopatología.

**iii) Aterosclerosis prematura:** Existe evidencia importante de que el LEG condiciona aterosclerosis acelerada a nivel intra y extracraneal. En tres estudios retrospectivos (4,28-29) que incluyen a 521 pacientes, se observó el desarrollo de EVC secundario a infarto en 28 de 34 pacientes con LEG. Otro estudio (30) que evaluó a 498 pacientes con LEG, reveló una incidencia 50 veces mayor de infarto del miocardio en la categoría de 35-44 años, en comparación con mujeres sin LEG. Manzi y colaboradores encontraron una asociación independiente entre episodios de enfermedad coronaria con la presencia de placas carotídeas focales y un incremento en el grosor a nivel de la íntima y la media de la pared de la arteria carótida (31). Los factores de riesgo descritos para aterosclerosis prematura en LEG incluyen el proceso inflamatorio crónico y los factores inmunológicos propios de la enfermedad (31-32); dislipoproteinemia (33), enfermedad renal (34), tratamiento con esteroides (18) y otros factores semejantes descritos para la población general (18).

### **Daño a nivel de sustancia blanca (síndromes desmielinizantes)**

Se han descrito por lo menos 4 tipos diferentes de daño a sustancia blanca:

1. Lesiones puntiformes: Se deben principalmente a microangiopatía.
2. Placas desmielinizantes a nivel de SNC y médula espinal: Tienen un curso clínico recurrente y reversible que semeja al de la esclerosis múltiple recurrente y se manifiestan clínicamente como

encefalopatía y/o mielopatía (35). En los estudios de imagen, se observan cambios a nivel de sustancia blanca generalmente secundarios a infartos y edema (36). A nivel histopatológico se ha reportado la presencia de áreas de vacuolización de mielina con diversos grados de daño axonal o necrosis de la sustancia blanca alrededor de la lesión principalmente a nivel de cerebro, tallo cerebral, ganglios basales y médula espinal (37-38).

3. Lesiones en sustancia blanca a nivel de nervio óptico y mielitis transversa. Los dos procesos se presentan en forma independiente en el 1% de los pacientes con lupus. Sin embargo, pueden presentarse de manera consecutiva o simultánea (Síndrome de Devic). La evidencia clínica y de imagen así como la histopatología se basa en reportes de caso (39-40).

4. Leucoencefalopatía. En la mayoría de los casos no se encuentra una causa definitiva, se desarrolla a nivel de cerebro y tallo cerebral en días, semanas o periodos largos. Cuando es reversible se asocia a emergencia hipertensiva, púrpura trombocitopénica trombótica o uso de fármacos (ciclosporina, tacrolimus, eritropoyetina, interferon alfa) (41-42).

### **Disfunción neuronal (mediada por autoanticuerpos)**

En este contexto, se han intentado establecer asociaciones entre algunos auto-anticuerpos (anti-neuronales, anti-receptor-N-metil-D-aspartato, anti-P ribosomal, antilinfocitotóxicos, anti-gangliosido, además de los anticuerpos anti-fosfolípidos ) con manifestaciones neuropsiquiátricas en pacientes con LEG, debido a que éstos anticuerpos usualmente acompañan a las manifestaciones NP.

Algunos reportes han evaluado el papel que tiene la detección de anticuerpos en el diagnóstico de LEG-NP (43-47) y otros los han involucrado en la patogénesis de dichas manifestaciones (9-11,16,48-53). De estos, los que han mostrado asociación con manifestaciones NP difusas son principalmente los anticuerpos anti-P ribosomal, anti-neuronales y recientemente los anticuerpos anti-NMDAR (anti-receptor N-Metil-D-Aspartato); y con manifestaciones focales, los anticuerpos

anti-fosfolípidos. Sin embargo, hasta la fecha no existen estudios que evalúen cada una de las manifestaciones NP descritas en estos pacientes con el panel de autoanticuerpos que se han descrito.

### **Anticuerpos anti-neuronales**

Representan un grupo de autoanticuerpos que tienen reactividad contra componentes neuronales aún no definidos completamente. Su prevalencia en suero se ha descrito entre el 43 y 95% y en LCR en el 74%(43, 45,48). Los anticuerpos anti-neuronales se detectan principalmente en pacientes con LEG que desarrollan manifestaciones NP particularmente de tipo difuso (e.g. estado confusional agudo, psicosis, CCTCG, disfunción cognitiva) en comparación con pacientes con LEG que no presentan manifestaciones NP o en aquellos con otras enfermedades autoinmunes. En un estudio (54) se detectó la presencia de anticuerpos antinucleares en el suero de pacientes con LEG-NP que reaccionaba con un antígeno de 50K en la membrana de las terminales sinápticas del cerebro. En el 95% de los sueros de los pacientes con LEG-NP se observó inmunorreactividad de moderada a intensa con la proteína de 50Kd en ensayos de Western blot . Así mismo, se observó inmunorreactividad en el LCR de estos pacientes en comparación con el 3% observado en pacientes con otras enfermedades autoinmunes. Se ha descrito desde 1987 (55) la asociación entre la presencia de anticuerpos anti-neuronales y manifestaciones difusas (e.g. deterioro cognitivo,). Mas aún, en un estudio (56) que evaluó a 20 pacientes con LEG-NP que presentaron manifestaciones difusas seguidos durante 2.1 años, se observaron fluctuaciones en los títulos de anticuerpos anti-neuronales en el suero, que frecuentemente se asociaron con variaciones en los títulos de anticuerpos anti-DNA<sub>dc</sub> y con la actividad de la enfermedad cuando las manifestaciones NP estaban presentes.

Otro estudio (48) que evaluó la reactividad de anticuerpos anti-neuronales en el LCR de 27 pacientes con LEG-NP y 18 pacientes con LEG sin manifestaciones NP, reportó reactividad en el 74% de las muestras de LCR de los pacientes con LEG-NP mientras que, en los pacientes con LEG sin manifestaciones NP se observó en solo un 11%. De los pacientes con LEG-NP que presentaron manifestaciones difusas (ej. psicosis, síndrome confusional agudo, CCTCG), el 90% mostró incremento en la reactividad del anticuerpo anti-neuronal; mientras que en los pacientes con manifestaciones focales (e.g. evento vascular cerebral, corea) solo en el 25% se observó reactividad del anticuerpo.

### **Anticuerpos anti-P ribosomal**

Los anticuerpos anti-P ribosomal se encuentran presentes entre el 6 y 46% de los pacientes con LEG (60). El punto de mayor interés sobre estos anticuerpos deriva de su alta especificidad en el LEG (61-62). Se han detectado títulos elevados de anticuerpos anti-P ribosomal en pacientes con LEG principalmente durante la enfermedad activa y se han asociado con algunas manifestaciones clínicas particularmente: nefritis, hepatitis (63-65) y compromiso a nivel de SNC (44-45,60,66-68). Existe un considerable número de reportes que evalúan a los anticuerpos anti-P ribosomal en suero y en LCR en el LEG-NP sin embargo, algunos son contradictorios.

La primera descripción de asociación de manifestaciones NP con títulos elevados de anticuerpos anti-P ribosomal en suero, fue realizada por Bonfa y colaboradores (49). A partir de este estudio, se han reportado más de una decena de trabajos que describen la asociación de estos anticuerpos en suero con manifestaciones NP principalmente con psicosis y depresión (49,69), mientras que otros grupos no la han encontrado (70-72).

La importancia de los anticuerpos anti-P ribosomal en el LCR es aún mas contradictoria. En un estudio (69), se midieron los niveles de anticuerpos anti-P ribosomal en suero y en el LCR por medio de Western blot, a 70 pacientes con LEG quienes fueron divididos en 3 grupos de

acuerdo al tipo de manifestaciones NP que presentaron, (síndromes neurológicos, síndromes neuro-psiquiátricos y manifestaciones complejas) y un grupo control sin manifestaciones NP. En el LCR, se detectó la presencia del anticuerpo en el 29% de los pacientes y en suero en el 46% y por medio del ensayo ELISA, se encontró asociación significativa del anticuerpo en el LCR.

La frecuencia de los anticuerpos anti-P ribosomal en el LCR fue significativamente mas elevada en los pacientes con manifestaciones NP que en aquellos sin manifestaciones NP. Asimismo, la frecuencia del anti-P ribosomal fue significativamente más alta en los pacientes con manifestaciones NP complejas que en los otros 3 grupos.

La frecuencia de los anticuerpos anti-P ribosomal en el suero no fue significativamente mas elevada en los pacientes con manifestaciones NP que en los pacientes sin manifestaciones NP, lo que sugiere que la determinación de los anticuerpos anti-P ribosomal es más útil en el LCR que en el suero.

De acuerdo con un meta-análisis (73) que evaluó a los anticuerpos anti-P ribosomal como herramienta diagnóstica en pacientes con LEG-NP en el cual incluyeron 14 estudios y un total de 1,537 pacientes, los resultados reportan una sensibilidad del 26% y especificidad del 80% de los anticuerpos anti-P ribosomal para el diagnóstico de LEG-NP. Para manifestaciones neuro-psiquiátricas en particular psicosis y trastornos del comportamiento, se calculó la sensibilidad en 27% y especificidad en 80% y para otras manifestaciones difusas, la sensibilidad y especificidad fueron del 24 y 80% respectivamente. Por lo que los autores concluyen que los anticuerpos anti P-ribosomal tienen un valor diagnóstico limitado para manifestaciones NP en pacientes con lupus eritematoso generalizado.

### **Anticuerpos anti-NMDAR (receptor N-Metil-D-Aspartato)**

Los receptores NMDA están presentes en las neuronas y en otras células como las plaquetas. En el SNC, los receptores NMDA que se unen al neurotransmisor glutamato, juegan un papel

importante en muchas funciones neurológicas incluyendo la memoria y el aprendizaje. En 1997 se demostró que el pentapéptido con la secuencia (Asp/Glu-Trp-Asp/Glu-Try-Ser/Gly) tiene mimetismo molecular con el DNA de doble cadena y se encuentra presente en el dominio extracelular de las sub-unidades NR2a y NR2b del receptor NMDA (74). La sub-unidad NR2 es reconocida por los anticuerpos anti-DNA tanto en modelos murinos como en humanos.

Posteriormente, se reportó en pacientes con LEG que los anticuerpos anti-DNA tienen reacción cruzada con la sub-unidad NR2 de los receptores NMDA y que intervienen en la muerte neuronal mediada por apoptosis (75). Además, se evidenció la presencia de estos anticuerpos en el LCR de un paciente con LEG que presentó deterioro cognitivo progresivo y su capacidad de provocar muerte neuronal vía apoptosis. Estas observaciones sugieren que los anticuerpos que tienen reacción cruzada con el DNA de doble cadena y con los receptores NMDA ingresan al SNC produciendo alteraciones no vasculíticas ni trombóticas (75). Estos hallazgos son la primera evidencia del papel que juegan los anticuerpos anti-receptor NMDA en la patogénesis en el LEG-NP.

Posteriormente, el mismo grupo reportó (53) que se requiere obligatoriamente, la ruptura de la BHE para que los anticuerpos anti-receptor NMDA ingresen al SNC y produzcan daño neuronal preferentemente a neuronas del hipocampo, lo que resulta en muerte neuronal y deterioro cognitivo.

Se han reportado resultados contradictorios sobre la asociación del anticuerpo anti-receptor NMDA con el LEG. Omdal R. y su grupo (76), reportaron la asociación de niveles elevados de anticuerpos anti-NR2 en el plasma de pacientes con LEG que desarrollaron deterioro cognitivo. Sin embargo, en otros dos estudios clínicos (77,78), no se encontró correlación entre estos anticuerpos medidos en suero con manifestaciones NP en pacientes con LEG. El primer estudio (77) incluyó pacientes con psicosis y crisis convulsivas focales y el segundo (78) incluyó

pacientes con depresión y deterioro cognitivo evidenciando asociación únicamente con depresión. Tampoco se observó correlación entre los anticuerpos anti-NR2 con los anticuerpos anti-DNA<sub>dc</sub>, con la actividad de la enfermedad medida con la escala SLEDAI o con ninguna otra manifestación clínica relacionada al LEG (77).

Recientemente se reportó la asociación de los anticuerpos anti-NMDAR en LCR en pacientes con LEG que presentaron manifestaciones NP complejas (nerológicas, psiquiátricas y neuropsicológicas) en comparación con pacientes con LEG-NP que presentaron manifestaciones nerológicas únicamente, manifestaciones NP difusas o pacientes con LEG con manifestaciones NP no atribuibles al lupus. En el estudio, el anti-NMDA también fue medido en suero y no se observó asociación con ninguno de los grupos estudiados. Los autores concluyen que la determinación de anticuerpos anti-NMDA en LCR para el diagnóstico de manifestaciones NP en pacientes con LEG es más útil que medirlo en suero. Además, muestran que los niveles del anti-NMDA en LCR correlacionan positivamente con los niveles en el suero de los pacientes con LEG-NP (46).

El estudio de la gran cantidad de anticuerpos que se han relacionado con manifestaciones NP en los pacientes con LEG muestra efectos en la excitabilidad neuronal, de lo anterior surge la gran interrogante: cómo es que estos anticuerpos que se producen en la periferia son capaces de ingresar al SNC a través de defectos en la BHE o tal vez, son producidos de manera intratecal por células B residentes en el SNC. Poco se ha estudiado sobre el papel que tiene el daño de la BHE en los pacientes con LEG y en los que desarrollan manifestaciones NP principalmente, por lo inaccesible que se encuentra el SNC. El método estándar para evaluar la integridad de la BHE es la determinación del cociente Q-albúmina sin embargo, no es capaz de detectar rupturas pequeñas que subsecuentemente son reparadas. Existe poca información sobre el papel de la BHE en LEG-NP sin embargo, las revisiones concluyen que el daño a la BHE está involucrado en

muchos casos en manifestaciones NP difusas y la producción intratecal de anticuerpos se encontró en 25 a 60% de los casos (79). La mayoría de los pacientes con lupus que presentan manifestaciones NP son tratados con dosis variables de esteroides lo cual reduce la ruptura de la BHE lo que en general, hace que el daño a la BHE en estos pacientes sea subestimado.

Se ha demostrado que los niveles de algunas citocinas y quimiocinas se encuentran elevados en los pacientes con LEG que presentan manifestaciones NP y disminuyen después con el tratamiento (80-84). La estimulación proinflamatoria de las células de la glía y de los astrocitos desencadena una cascada de producción de citocinas y quimiocinas que juegan un papel muy importante en la función fisiológica y fisiopatológica en el SNC.

Enfermedades como la esclerosis múltiple y probablemente el mismo LEG-NP se asocian a daño a nivel de células endoteliales cerebrales que alteran la expresión de moléculas de adhesión, secreción de citocinas y quimiocinas, cambios en la organización de las proteínas de unión en la BBH y extravasación de linfocitos hacia el SNC. Los astrocitos y macrófagos activados contribuyen a la respuesta inmune innata en el SNC, produciendo una gran variedad de mediadores incluyendo a las citocinas y quimiocinas, las cuales, forman un puente entre la inmunidad innata y la adquirida por medio del procesamiento y presentación de antígenos a linfocitos T y son además, mediadores de la migración de leucocitos dentro del SNC.

### **Citocinas y Quimiocinas:**

Algunos estudios han mostrado que las citocinas como interleucina (IL)-6 y las quimiocinas como la IL-8 son útiles para el diagnóstico del LEG-NP (80-84). Otros estudios han descrito niveles elevados de IL-1, IL-10, factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) en LCR de pacientes con LEG-NP (80,82-83). Recientemente las quimiocinas, (MCP-1/CCL2), (IP-10/CXCL10) y fractalcina se han detectado en este grupo de pacientes lo que sugiere una reacción inflamatoria mediada por estas moléculas a nivel del SNC (85-88). En suma, los efectos



directos e indirectos de varios mediadores inflamatorios se han considerado como preponderantes en la patogénesis del LEG-NP.

## **1.2 JUSTIFICACION:**

A pesar de tratarse de manifestaciones clínicas frecuentes, se desconoce el mecanismo patogénico de las manifestaciones neuro-psiquiátricas en pacientes con LEG.

Hasta ahora, no se han identificado marcadores específicos de afección al sistema nervioso central atribuidos a LEG, si bien existe una gran variedad de hallazgos clínicos, de laboratorio y de imagen que se han estudiado como potenciales marcadores. La búsqueda de indicadores específicos, autoanticuerpos o moléculas inflamatorias útiles como herramienta diagnóstica sigue siendo de gran importancia.

## **1.3 HIPOTESIS:**

Las manifestaciones neuro-psiquiátricas (NP) graves en LEG se asocian a alteraciones inmunológicas específicas y su identificación tendría un impacto directo en el diagnóstico y tratamiento.

H1. Los anticuerpos anti-NMDAR en suero y LCR, se asocian a manifestaciones del sistema nervioso central en pacientes con LEG.

H2. Los anticuerpos contra proteínas ribosomales (anti-P-ribosomal) en suero y LCR, se asocian a manifestaciones del sistema nervioso central en pacientes con LEG.

H3. Niveles elevados de citocinas (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  e IFN- $\gamma$ ) y quimiocinas (CCL-2/MCP1, CCL5/RANTES, CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10) en LCR se asocian a manifestaciones neuropsiquiátricas en LEG.

#### **1.4 OBJETIVO GENERAL:**

Identificar las variables inmunológicas asociadas a manifestaciones NP graves en pacientes con LEG.

##### **1.4.1 OBJETIVOS PARTICULARES:**

1. Identificar las variables inmunológicas en suero y LCR asociadas a manifestaciones NP graves del Sistema Nervioso Central y Periférico en pacientes con LEG.
2. Definir la evolución de las variables inmunológicas, en suero y LCR, asociadas a manifestaciones NP graves del Sistema Nervioso Central y Periférico, en pacientes con LEG durante la fase activa y 6 meses después.
3. Evaluar si existe correlación entre los niveles de los anticuerpos estudiados, en suero y LCR en los pacientes con LEG-NP.

## **1.5 PACIENTES Y METODOS**

### **DISEÑO:**

Estudio de casos y controles.

### **Criterios de inclusión:**

#### **Casos:**

Se seleccionaron pacientes con diagnóstico de LEG que cumplieran  $\geq 4$  criterios de clasificación del Colegio Americano de Reumatología (89), que presentaron manifestaciones NP graves (LEG-NP) del sistema nervioso definidas como aquellas que requirieron hospitalización para su abordaje diagnóstico y tratamiento y que se hospitalizaron en el INCMNSZ entre el 1 de marzo de 2003 y el 28 de febrero de 2005.

#### **Controles.**

Los pacientes se clasificaron en 4 grupos:

#### **Para la determinación de variables inmunológicas en suero:**

**Grupo I. LEG-no-NP:** Pacientes con diagnóstico de LEG, pareados por edad ( $\pm 5$  años) y sexo a los casos, sin antecedentes de manifestaciones neuro-psiquiátricas de cualquier etiología, que se hospitalizaron por actividad del lupus en la fecha más próxima al caso.

#### **Para la determinación de variables inmunológicas en suero y LCR:**

**Grupo II. LEG quirúrgico (LEG-qx):** Pacientes con diagnóstico de LEG pareados por edad ( $\pm 5$  años) y sexo a los casos, sin antecedentes de manifestaciones neuro-psiquiátricas de cualquier etiología, que fueron intervenidos quirúrgicamente en forma electiva, que requirieron bloqueo espinal como método anestésico y manifestaron por escrito donar una muestra de LCR para estudios del protocolo.

**Grupo III. LEG-ms:** Pacientes con diagnóstico de LEG pareados por edad ( $\pm$  5 años) y sexo a los casos, sin antecedentes de manifestaciones neuro-psiquiátricas de cualquier etiología, que presentaron un episodio de meningitis infecciosa confirmado mediante cultivo de LCR.

**Grupo IV. (No- AU):** Sujetos sin enfermedad autoinmune pareados por edad ( $\pm$  5 años) y sexo a los casos, sin antecedentes de manifestaciones neuro-psiquiátricas de cualquier etiología, que fueron intervenidos quirúrgicamente en forma electiva, que requirieron bloqueo espinal como método anestésico y que manifestaron por escrito donar una muestra de LCR para estudios del protocolo.

Todos los pacientes firmaron la carta de consentimiento para participar en el estudio. En aquellos pacientes quienes por motivos de la enfermedad o por las manifestaciones neuro-psiquiátricas no fue posible obtener dicho consentimiento, se obtuvo de la persona que firmó como responsable de la hospitalización.

**Criterios de exclusión:**

1. Pacientes con neoplasias malignas.
2. En el caso de los controles, pacientes con infección activa, excepto el grupo III.
3. Pacientes que no aceptaron participar en el estudio.

**Criterio de eliminación:**

1. Pacientes que no fueron evaluados en forma satisfactoria durante la hospitalización.

**VARIABLES A EVALUAR**

Al momento de la hospitalización se recolectó la siguiente información del expediente clínico:

- Socio-demográficas: edad y género.
- Características de la enfermedad:
  1. **Edad al diagnóstico del LEG** definida como la fecha de presentación del 4º criterio de clasificación.
  2. **Duración de la enfermedad** definida como el número de criterios para LEG acumulados.
  3. **Actividad de la enfermedad** evaluada al momento de la hospitalización y 6 meses después mediante el índice SLEDAI-2K (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000) (90).
  4. **Daño acumulado de la enfermedad**, evaluada al momento de la hospitalización y 6 meses después mediante la escala SLICC/ACR DI (Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index) (91).

Los pacientes fueron evaluados por un reumatólogo, un neurólogo y/o psiquiatra según se requirió durante su hospitalización de acuerdo con un protocolo estandarizado.

Los diagnósticos neuro-psiquiátricos se establecieron con base a la historia clínica, examen físico, estudios de laboratorio y de gabinete indicados por el neurólogo y/o psiquiatra, así como la opinión de los médicos tratantes y se clasificaron de acuerdo a la nomenclatura utilizada por el Colegio Americano de Reumatología (ACR Ad Hoc Committee on Neuropsychiatric Lupus Nomenclature (92).

### **Detección de autoanticuerpos**

El perfil de autoanticuerpos se determinó en suero en todos los grupos estudiados. En LCR se hizo en todos los grupos, excepto en pacientes con LEG-no-NP. Las determinaciones en suero se hicieron al momento de la hospitalización en todos los grupos y 6 meses después únicamente en

los grupos LEG-NP y LEG-no-NP. En LCR, las determinaciones se hicieron al momento de la hospitalización en todos los grupos indicados y 6 meses después sólo en pacientes con LEG-NP.

Los pacientes del grupo LEG-NP se clasificaron en 2 grupos:

1. **LEG-NP central:** Pacientes que presentaron manifestaciones NP focales o difusas que involucraban el SNC.
2. **LEG-NP periférico:** Pacientes que presentaron manifestaciones neurológicas extracraneales o a nivel periférico.

### **Metodología para la detección de autoanticuerpos**

Los anticuerpos anti-DNA<sub>dc</sub>, anti-cardiolipina del isotipo IgG y anti-β 2 glicoproteína I del isotipo IgG se detectarán por ensayo inmunoenzimático (ELISA) de acuerdo con las especificaciones del productor (The Binding Site, Birmingham, UK). De la misma forma, los anticuerpos anti-P ribosomal del isotipo IgG se detectarán por ELISA (Orgentec Diagnostika, Germany). Finalmente, los anticuerpos anti-NMDAR se detectarán por ELISA de acuerdo al método reportado (75). En todos los casos, las muestras de suero fueron diluidas 1:100 y las de LCR se analizaron sin diluir. Los anticuerpos antinucleares (ANA) del isotipo IgG fueron detectados por inmunofluorescencia indirecta de acuerdo con las especificaciones del productor (The Binding Site). La detección fue leída por tres expertos cegados a los diagnósticos NP y los resultados se discutieron y registraron por consenso. Los valores de corte de los anticuerpos en suero se establecieron por arriba del percentil 90 de un grupo control de 100 individuos sanos (ANA mayor 1:40, anti-DNA<sub>dc</sub> <9.6 IU/mL, anti-P ribosomal <10.0 U/mL, anti-cardiolipina IgG <11.5 UGPL, anti-β 2 glicoproteína-I IgG < 2.5 U/mL, anti-NMDAR >19.0 UA/mL).

Las muestras de LCR fueron centrifugadas a 12,000g y el sobrenadante, así como las muestras de suero, se congelaron a -86°C (en todos los casos en menos de 30 minutos de la toma de la muestra) hasta que fueron procesadas para la detección de los autoanticuerpos.

Los valores de corte de los anticuerpos en LCR se establecieron por arriba del percentil 90 del grupo de los pacientes sin enfermedad autoinmune (anti-DNAc  $\leq 9.62$  IU/mL, anti-P ribosomal  $\leq 9.96$  U/mL, anti-cardiolipina IgG  $\leq 4.5$  UGPL, anti- $\beta 2$  glicoproteína I IgG  $\leq 2.5$  U/mL, anti-NMDAR  $\leq 40.0$  UA/mL).

### **Detección de citocinas y quimiocinas en LCR**

La determinación de citocinas y quimiocinas se realizó solo en LCR al momento de la hospitalización en todos los grupos, excepto pacientes con LEG-no-NP. En los pacientes con LEG-NP, la determinación también se hizo 6 meses después. Los pacientes con LEG-NP se analizaron de manera global sin clasificarlos en central y periférico debido a que no existen valores de referencia para estas moléculas.

### **Metodología para la detección de Citocinas Y Quimiocinas**

Las moléculas solubles se cuantificaron mediante un kit citométrico con diferentes esferas (BD Biosciencias, San Diego, CA) de acuerdo a las especificaciones del productor. El Kit incluía citocinas Th1/Th2 (IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF- $\alpha$  e IFN- $\alpha$ ) y quimiocinas (CCL-2/MCP1, CCL5/RANTES, CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10).

La citometría de flujo permite la cuantificación simultánea de varias proteínas en la misma prueba. Se utilizan esferas del mismo tamaño que se pueden distinguir por sus diferentes intensidades de fluorescencia. Cada acúmulo de esferas de la misma intensidad de fluorescencia está recubierta con un anticuerpo contra la molécula blanco. La reacción es revelada con un

anticuerpo secundario correspondiente conjugado con un fluorocromo diferente. Se emplearon 50µL de LCR por muestra. Cada una se analizó por citometría de flujo FACscan (Becton Dickinson, San Jose, CA) con el software BDCBA (BD Biosciences) en un citómetro. Los resultados fueron expresados en pg/mL.

### **Tamaño de muestra**

Desde 1995, se han hospitalizado anualmente en el INCMNSZ, un promedio de 25 pacientes con LEG y manifestaciones NP. Durante un periodo de 24 meses, consideramos que podríamos estudiar alrededor de 50 pacientes con LEG-NP. Este se consideró el tamaño de la muestra a estudiar.

### **Análisis Estadístico**

Las variables categóricas fueron comparadas utilizando la prueba chi-cuadrada o exacta de Fisher. Las variables continuas se analizaron con la prueba t de Student, t de Student pareada, U de Mann-Withney, Wilcoxon y ANOVA de una vía. Para calcular la correlación entre los anticuerpos en suero y LCR, se utilizó la prueba Rho de Spearman.

Los valores de citocinas y quimiocinas se resumen como medianas y rangos intercuartilares. Un valor de P menor a 0.05 de dos colas se consideró estadísticamente significativo. El análisis se realizó utilizando los paquetes estadísticos SPSS 12.0 y STATA 10.



## 1.6 RESULTADOS

### Características de los pacientes estudiados (Tabla 1)

Incluimos en el estudio a 47 pacientes en el grupo LEG-NP, 42 con manifestaciones a nivel de SNC (LEG-NPc) y 5 con manifestaciones a nivel periférico (LEG-NPp); 49 pacientes conformaron el grupo LEG-no-NP, 16 en el grupo LEG-qx, 6 pacientes en el grupo LEG-ms y 25 pacientes sin enfermedad autoinmune (No-AU).

Al ingreso, el promedio de edad de los grupos con LEG-NP central y periférico fue de  $31.5 \pm 11.6$  y  $23.8 \pm 6.1$  años, respectivamente y no se encontraron diferencias significativas en la edad entre los grupos de pacientes estudiados ( $P = 0.22$ ). Todos los pacientes con LEG, excepto el grupo de pacientes quirúrgicos, tuvieron actividad de la enfermedad de moderada a grave y se encontraban bajo tratamiento con dosis altas de esteroides. En comparación con el grupo LEG-NP, los pacientes de los grupos LEG no-NP y LEG quirúrgico tuvieron una duración de la enfermedad más larga y requirieron más frecuentemente tratamiento con inmunosupresores. El resto de las variables demográficas y otras características de la enfermedad fueron similares entre los grupos estudiados.

Las manifestaciones neuro-psiquiátricas se clasificaron de acuerdo al glosario del Colegio Americano de Reumatología (92) y se atribuyeron al lupus, dado que en ninguna se identificaron factores de exclusión (92). No se incluyeron manifestaciones neuro-psiquiátricas leves eg., depresión leve, que previamente han sido reportadas con una frecuencia comparable a la de la población general (93).

De acuerdo al glosario del Colegio Americano de Reumatología (92), se identificaron factores asociados a las manifestaciones NP en 26 (55%) pacientes (e.g., alteraciones metabólicas, hipertensión) y en 21 (45%) pacientes no se identificaron dichos factores asociados.

Las manifestaciones NP que se presentaron de acuerdo con la clasificación establecida fueron: a) LEG-NP central (n = 42): 16 crisis convulsivas, 9 cefaleas refractarias, 8 estados confusionales agudos, 7 eventos vasculares cerebrales, 1 psicosis y 1 pseudotumor cerebri y b) LEG-NP periférico (n = 5): 3 mononeuritis múltiple, 1 mielitis transversa y 1 polineuropatía.

Las causas de hospitalización de los pacientes incluidos en el grupo LEG-no-NP (n = 49) fueron: actividad de la enfermedad en 43 pacientes (diagnóstico de LEG, renal, hematológica, serositis, neumonitis, hepatitis, fiebre); tromboembolia pulmonar en 2 y misceláneas en 4.

Las bacterias aisladas en el grupo de pacientes con meningitis séptica fueron: *Streptococcus pneumoniae* en 2, *Listeria monocytogenes* en 1, *Cryptococcus neoformans* en 1, *Mycobacterium tuberculosis* en 1, y *Staphylococcus sp.* en 1.

Las indicaciones de cirugía electiva en el grupo de pacientes sin enfermedad autoinmune fueron: donación de médula ósea (n = 7), histerectomía (n = 8), colocación de catéter de Tenckhoff (n = 3), amputación de miembros inferiores (n = 2), safenectomía (n = 2), hidrocele (n = 1), circuncisión (n = 1) y hernioplastía inguinal (n = 1).

### **Autoanticuerpos en suero (Tabla 2)**

Se obtuvieron las muestras de 47 pacientes del grupo LEG-NP al momento de la hospitalización y en 39 pacientes seis meses después. En el grupo LEG-no-NP se obtuvieron muestras de los 49 pacientes durante la hospitalización y en 40 de ellos, seis meses después. Se obtuvieron 16 muestras del grupo LEG-qx, 6 muestras del grupo LEG-ms y 25 muestras del grupo No- AU únicamente al momento de la evaluación.

La prevalencia de todos los auto-anticuerpos fue mayor en los grupos de pacientes con LEG en comparación con el grupo de pacientes No-AU.

Los anticuerpos anti- P ribosomal se detectaron en la mayoría de los pacientes con LEG-NP central y periférico así como en los pacientes con meningitis séptica. Más aún, en una tercera

parte de los pacientes de los grupos con LEG- no-NP y LEG-quirúrgico, también se encontraron positivos.

Los anticuerpos anti-NMDAR se detectaron en todos los pacientes con LEG, excepto en aquellos con LEG-NP periférico; sin embargo, la prevalencia fue mayor en los grupos con LEG-NP central, LEG-no-NP y LEG-ms en comparación con el grupo LEG-quirúrgico, sin alcanzar diferencia estadística. El resto de los autoanticuerpos cuantificados no mostraron diferencias claras entre los grupos de pacientes con LEG.

No se observaron diferencias en los niveles de los auto-anticuerpos medidos entre los grupos de pacientes con LEG. .

### **Autoanticuerpos en suero al momento de la hospitalización y seis meses después (Tabla 3)**

Seis meses después de la hospitalización, cuando las manifestaciones NP se encontraban clínicamente inactivas en los dos grupos de pacientes con LEG-NP y la actividad de la enfermedad había disminuido significativamente en el grupo con LEG-no-NP (Tabla 1) sólo observamos una disminución no significativa de los anticuerpos anti-DNA<sub>dc</sub> en el grupo de pacientes con LEG-NP central, mientras que el resto de los autoanticuerpos permanecieron sin cambios entre los grupos con LEG-NP central y periférico. En el grupo con LEG-no-NP se observó únicamente disminución en la prevalencia de los anticuerpos antinucleares (Tabla 3). En los pacientes del grupo LEG-NP central que en el momento de la hospitalización fueron positivos para los anticuerpos estudiados, a los seis meses se observó una disminución en los niveles de los autoanticuerpos anti-NMDAR, anti-DNA<sub>dc</sub>, anti-P ribosomal y anti-β<sub>2</sub> glicoproteína I en los pacientes del grupo LEG-NP central; dicha disminución fue significativa únicamente para anti-NMDAR y anti-β<sub>2</sub> glicoproteína I.

Entre los pacientes del grupo LEG-NP periférico que tuvieron los anticuerpos positivos al momento de la hospitalización, los niveles de los anticuerpos anti-DNA<sub>dc</sub> y anti-P ribosomal mostraron una disminución no significativa seis meses después, mientras que los anticuerpos anti-cardiolipina y anti- $\beta_2$  glicoproteína I, permanecieron sin cambio. En los pacientes del grupo LEG-no-NP que tuvieron los anticuerpos positivos en la determinación basal, únicamente se observó una disminución significativa en los niveles de los anticuerpos anti-DNA<sub>dc</sub> seis meses después mientras que, en los anticuerpos restantes, no se observaron cambios, excepto en los niveles del anti-NMDAR que paradójicamente mostró tendencia al incremento (Tabla 3).

#### **Autanticuerpos en LCR (Tabla 4)**

Los anticuerpos anti-nucleares, anti-DNA<sub>dc</sub>, anticardiolipina y anti- $\beta_2$  glicoproteína I no mostraron un patrón distintivo entre los grupos de pacientes con LEG. En general, el grupo con meningitis séptica tuvo la prevalencia más alta para la mayoría de los anticuerpos

Los anticuerpos anti-P ribosomal tampoco mostraron una distribución característica entre los grupos de pacientes con LEG, excepto en los pacientes con meningitis séptica en la que se observó una prevalencia significativamente más alta que en el grupo LEG-NP central. Sin embargo, en los niveles de los anticuerpos anti-P ribosomal, se observó una tendencia a ser mayor en el grupo LEG-NP central en comparación con el grupo LEG-NP periférico y los grupos quirúrgicos. Los niveles más elevados se encontraron en el grupo de pacientes con LEG-ms, alcanzando una diferencia estadísticamente significativa en comparación con los pacientes del grupo LEG-NP central.

Los anticuerpos anti-NMDAR fueron los únicos que mostraron una distribución diferente entre los grupos de pacientes con LEG. Con excepción de un paciente del grupo LEG-quirúrgico, LEG NP-

periférico y en un paciente del grupo no-AU, se detectaron únicamente en el grupo LEG-NP central y en el grupo LEG-ms.

Los niveles de los anticuerpos anti-NMDAR se encontraron significativamente más altos en los pacientes del grupo LEG-NP central que en los otros grupos de pacientes con LEG, excepto en los pacientes con meningitis séptica, en quienes se detectaron los niveles más altos (Tabla 4).

### **Autoanticuerpos en LCR al momento de la hospitalización y seis meses después (Tabla 5)**

Seis meses después del inicio de las manifestaciones NP centrales y periféricas, la prevalencia de la mayoría de los auto-anticuerpos estudiados permaneció igual a la basal. Únicamente los anticuerpos anti-cardiolipina (IgG) disminuyeron significativamente en el grupo LEG-NP central. Entre los pacientes del grupo LEG-NP central que fueron positivos en la determinación de los anticuerpos al momento de la hospitalización, se observó una disminución en los niveles de los anticuerpos anti-DNAc, anti-P ribosomal y anti-NMDAR en 14 de 17, 9 de 10, y 7 de 9 pacientes, respectivamente. A los seis meses, se observó una disminución significativa en los niveles de los anticuerpos anti-DNAc y anti-P ribosomal. Sin embargo, los niveles de anti-NMDAR permanecieron sin cambio debido a que en un paciente se incrementó el nivel del anticuerpo 3.6 veces en comparación con la determinación basal. Cuando este paciente fue excluido del análisis, se observó también, una disminución significativa en los niveles del anticuerpo ( $82.3 \pm 33.0$  vs.  $46.4 \pm 26.7$ ,  $P = 0.04$ ).

Entre los pacientes del grupo LEG-NP periférico, se detectó una disminución no significativa en los niveles de anticuerpos anti-DNAc y anti-P ribosomal (Tabla 5).

### **Correlación de anticuerpos en suero y LCR**

Se realizó la correlación en suero y LCR de los anticuerpos estudiados (anti-DNAc, anti-P ribosomal, anti-NMDA, anti-cardiolipina y anti- $\beta$  2 glicoproteína I) encontrando una correlación

positiva, significativa de los anticuerpos anti-DNA<sub>dc</sub> ( $r = 0.44$ ,  $p = 0.001$ ) y anti-NMDA ( $r = 0.47$ ,  $P = 0.001$ ) en todos los grupos de pacientes con LEG, incluyendo aquellos con manifestaciones NP centrales y periféricas; así como en los pacientes con LEGNPc y LEG-ms (anti-DNA:  $r = 0.46$ ,  $P = 0.001$ , anti-NMDA: ( $r = 0.41$ ,  $P = 0.01$ ). En los pacientes sin manifestaciones NP (LEG-qx) también se observaron correlaciones positivas, significativas (anti-DNA:  $r = 0.49$ ,  $P = 0.05$ , anti-NMDA: ( $r = 0.59$ ,  $P = 0.04$ ), lo que sugiere que dicha correlación es inespecífica. Los títulos del anticuerpo anti-P ribosomal en LCR y suero mostraron una correlación positiva, significativa en los grupos de pacientes con LEG-NP central y periférico ( $r = 0.42$ ,  $P = 0.004$ ) y en los pacientes con LEG-NP central y meningitis ( $r = 0.38$ ,  $p = 0.01$ ), mientras que en el grupo LEG-qx, la correlación fue negativa ( $r = -0.20$ ,  $p = 0.43$ ) (Tabla 6). En el resto de los anticuerpos estudiados no se observaron correlaciones significativas.

### **Citocinas y Quimiocinas en LCR (Tabla 7 y 8)**

#### **Pacientes con LEG-NP vs Pacientes sin enfermedad autoinmune**

Dado que no existen valores de referencia para las moléculas estudiadas, en primer lugar comparamos a los pacientes con LEG-NP con los pacientes sin enfermedad autoinmune. Entre los pacientes con LEG, de todas las citocinas medidas, sólo la IL-6 mostró diferencia significativa en el grupo LEG-NP ( $p = 0.0001$ ). Los niveles de IL-2, IL-4, IL-10, TNF- $\alpha$  e IFN- $\alpha$  se encontraron muy bajos o indetectables en la mayoría de los pacientes (Tabla 7). En contraste con esto, todas las quimiocinas analizadas se encontraron significativamente más elevadas en el grupo LEG-NP siendo la IP-10/CXCL10, la IL-8/CXCL8 y la MIG/CXCL9 las que mostraron la mayor diferencia ( $p = 0.0001$ ) seguidas de RANTES/CCL5 ( $p = 0.0004$ ) y de MCP-1/CCL2 ( $p = 0.0014$ ) (Tabla 8).

### **Pacientes con LEG-NP vs pacientes con LEG sin manifestación neuro-psiquiátrica**

Para establecer si los valores de las moléculas medidas son atribuibles a la actividad neuro-psiquiátrica, comparamos el grupo de LEG-NP contra el grupo LEG-qx. Los resultados mostraron diferencia significativa entre los pacientes con LEG NP y los demás grupos en la citocina IL-6 ( $p=0.0016$ ) y en las quimiocinas IL-8/CXCL8 ( $p=0.001$ ), MIG/CXCL9 ( $p=0.04$ ) y RANTES/CCL5 ( $p=0.0006$ ) y observamos tendencia estadística en IP-10/CXCL10 ( $p=0.064$ ) e IFN- $\gamma$  ( $p=0.057$ ).

### **Pacientes con LEG-NP vs pacientes con LEG y meningitis séptica**

Finalmente, comparamos los niveles de las moléculas entre el grupo de LEG-NP contra el grupo de pacientes con LEG-ms como control positivo por la presencia de un proceso inflamatorio evidente en SNC. Encontramos que todas las citocinas y las quimiocinas, con excepción del TNF- $\alpha$ , fueron significativamente más elevadas entre los pacientes con meningitis infecciosa en comparación con el grupo de LEG-NP: IL-2 ( $p = 0.01$ ), IL-4 ( $p = 0.002$ ), IL-6 ( $p = 0.099$ ), IL-10 ( $p = 0.04$ ), IFN- $\gamma$  ( $p = 0.018$ ), IP-10/CXCL10 ( $p = 0.005$ ), MCP-1/CCL2 ( $p = 0.058$ ), MIG/CXCL9 ( $p = 0.03$ ), RANTES/CCL5 ( $p = 0.015$ ) e IL-8 ( $p = 0.0158$ ).

Los resultados de IL-6 y las quimiocinas más representativas en los diferentes grupos de pacientes estudiados se muestran en la figura 1.

### **Citocinas y Quimiocinas en pacientes LEG-NP al momento de la hospitalización y seis meses después (Tabla 9, figura 2)**

Seis meses después de la hospitalización, obtuvimos muestras de LCR de 30 de los 40 pacientes estudiados. Las manifestaciones neuro-psiquiátricas que presentaron estos pacientes fueron: crisis convulsivas (11), cefalea refractaria (5), estado confusional agudo (5), mononeuritis múltiple (3), enfermedad cerebrovascular (2), psicosis (1), mielitis transversa (1), polineuropatía (1) y

pseudotumor cerebri (1). Veintiocho de los treinta pacientes recibieron prednisona o su equivalente a dosis de 0.5mg/kg o más incluyendo a siete pacientes que recibieron pulsos de metilprednisolona y a 5 pacientes que recibieron bolos de ciclofosfamida. En esta valoración, las manifestaciones neuro-psiquiátricas se habían resuelto en todos los pacientes.

Nuevamente los niveles de INF- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ , IL-2, IL-4 e IL-10 se observaron muy bajos o indetectables y no hubo diferencia entre las dos mediciones.

En prácticamente todas las otras moléculas medidas, observamos una disminución significativa (figura 3). Un resultado de gran relevancia fue que en la segunda muestra, los niveles de IL-6 y las quimiocinas en el grupo LEG-NP fueron similares a los observados en el grupo de pacientes con LEG-qx. Sin embargo, estos niveles no alcanzaron los niveles de los pacientes sin enfermedad autoinmune, en particular con, IL-8 ( $p < 0.001$ ), MIG ( $p < 0.0001$ ), MCP-1 ( $p < 0.0001$ ) e IP-10 ( $p < 0.0001$ ).

## **1.7 DISCUSION**

Los mecanismos patogénicos de las manifestaciones neuro-psiquiátricas y el daño al SNC que se presenta en los pacientes con lupus no se han identificado.

La detección de auto-anticuerpos en suero o en LCR en pacientes con LEG que presentan manifestaciones NP se ha estudiado durante décadas (16). Desafortunadamente, la asociación entre autoanticuerpos y compromiso del SNC en LEG permanece inconclusa. Más aún, los mecanismos por los cuales los anticuerpos en suero y en LCR reaccionan con el tejido neural son un enigma (9).

En este estudio, encontramos un comportamiento diferente de los autoanticuerpos en suero y en LCR al inicio de las manifestaciones NP y seis meses después cuando clínicamente, las manifestaciones estaban controladas.



En suero, los anticuerpos anti-P ribosomal y anti-NMDAR, se detectaron en la mayoría de los grupos de pacientes con LEG, sin hallar diferencias entre ellos. Los otros anticuerpos tampoco mostraron diferencias claras entre los grupos de pacientes con LEG y los niveles de todos los autoanticuerpos no difirieron entre ellos. Seis meses después de la hospitalización, la prevalencia de la mayoría de los anticuerpos permaneció sin modificación y el decremento en los niveles de algunos, pudiera reflejar una disminución en la actividad global de la enfermedad, más que mostrarse como marcadores específico de LEG-NP.

En LCR, el comportamiento de los anticuerpos anti-nucleares, anti-DNA<sub>dc</sub>, anti-cardiolipina, anti- $\beta_2$  glicoproteína I y anti-P ribosomal, no mostró un patrón distintivo entre los grupos de pacientes con LEG. Contrariamente, los anticuerpos anti-NMDAR se encontraron casi exclusivamente en los pacientes del grupo LEG-NP central y en los pacientes con meningitis séptica. Más aún, los niveles de los anticuerpos anti-NMDAR se encontraron significativamente más altos en los pacientes del grupo LEG-NP central que en los otros grupos de pacientes con LEG excepto en los pacientes con meningitis séptica. Seis meses después del inicio de las manifestaciones centrales y periféricas, la prevalencia de la mayoría de los anticuerpos estudiados permaneció semejante a la determinación basal. La mayoría de los pacientes con manifestaciones centrales y periféricas que tuvieron positivos los anticuerpos anti-DNA<sub>dc</sub>, anti-P ribosomal y anti-NMDAR en la determinación basal, tuvieron una disminución en los niveles de éstos seis meses después. Notoriamente los pacientes con lupus y meningitis séptica mostraron una prevalencia similar o mayor y los niveles de todos los autoanticuerpos en LCR fueron más altos en comparación con los pacientes de los grupos LEG-NP central y periférico. Además, en el LCR, la prevalencia y los niveles de los anticuerpos anti-P ribosomal y anti-NMDAR más elevados, se observaron también en este grupo de pacientes.

El contraste que observamos en los resultados en suero y en LCR expone la incongruencia de evaluar el compromiso del SNC en los pacientes con LEG por medio de la medición en suero de los autoanticuerpos.

El LCR se utiliza como un evaluador indirecto de lo que puede estar ocurriendo en el SNC debido a que el acceso directo a una muestra de tejido cerebral rara vez se justifica.

La presencia de anticuerpos en LCR tiene una doble explicación: i) la producción in situ en el SNC, lo cual se ha relacionado a ciertas enfermedades como esclerosis múltiple (94) y ii) una ruptura en la BHE, lo que permitiría su acceso a un compartimiento normalmente restringido (79). Esto pudiera explicar la presencia y los niveles elevados de todos los tipos de autoanticuerpos en los pacientes con LEG y meningitis séptica, ya que en esta condición, existe una clara disrupción de la BHE.

La medición de los anticuerpos en el LCR, muestra al anticuerpo anti-NMDAR como un importante protagonista que virtualmente no se detecta en suero, así mismo muestra una diferencia radical en el comportamiento de los otros anticuerpos estudiados. Es el único anticuerpo que diferencia entre los pacientes con manifestaciones NP centrales y periféricas, y el único que también marca la diferencia entre los pacientes con LEG-NP central de los pacientes sin manifestaciones NP. Más aún, los niveles elevados del anticuerpo anti-NMDAR se asociaron significativamente con el grupo de pacientes LEG-NP central.

Es importante hacer notar sin embargo, que en los otros pacientes con LEG detectamos la presencia de todos los anticuerpos medidos, excepto el anticuerpo anti-NMDAR. Lo que explica que estos pacientes han tenido durante el curso de su enfermedad, una ruptura de la BHE que permite el acceso de anticuerpos al SNC. Otras condiciones como infección, estrés, hipertensión o exposición a nicotina pueden provocar disrupción de la BHE (95-98), es posible que en las recaídas del lupus, las innumerables alteraciones inflamatorias e inmunológicas pudieran causar

la ruptura de la BHE y permitir el paso de los anticuerpos séricos hacia el SNC. Otra posible explicación puede ser que la disrupción de la BHE, pueda ser un fenómeno esporádico pero recurrente en los pacientes con LEG. Ciertamente, los estudios histopatológicos de pacientes con LEG que fallecieron por manifestaciones NP, han demostrado que la verdadera vasculitis de pequeño vaso, el sello de la histopatología del lupus, generalmente no está presente (27). Se han observado microinfartos dispersos y la presencia de vasculopatía no inflamatoria caracterizada por proliferación intimal y gliosis perivascular (26). Esta forma de vasculopatía generalmente no correlaciona con los hallazgos clínicos y puede estar presente en pacientes sin alteraciones NP. Por lo tanto, los anticuerpos pueden ingresar al SNC a través una alteración de la BHE, tal vez como resultado de daño visto como vasculopatía no inflamatoria.

Cuando las manifestaciones NP estaban clínicamente controladas, no observamos una disminución en la prevalencia de los anticuerpos estudiados en el LCR de los pacientes con LEG-NP central y periférico. No obstante, entre los pacientes con LEG-NP central que tuvieron los anticuerpos positivos en la determinación basal, se observó una disminución en los niveles de los anticuerpos anti-DNA<sub>dc</sub>, anti-P ribosomal y anti-NMDAR, más no su normalización. Con estas observaciones, es posible sugerir que su presencia puede condicionar un tipo de daño no detectable clínica o radiológicamente y que alcanzan un rango de valores que se pudiera definir como un nivel basal en el LEG, ya que fueron similares a los niveles encontrados en los pacientes con LEG sin manifestaciones NP. Esto es de lo más importante, porque los pacientes con LEG presentan daño neurológico de larga evolución, el cual se manifiesta por sí mismo como una disminución en el volumen cerebral que se observa en resonancia magnética nuclear (36) y deterioro de la función cognitiva (7,99). Sin embargo, este deterioro es mayor en los pacientes con antecedentes de manifestaciones NP, pero también se observa en pacientes sin historia de dichas manifestaciones (100).

Previamente, Yoshio T. y colaboradores (46) en un estudio en el que miden los niveles del anti-NMDA en suero y LCR de pacientes con LEG que presentaron manifestaciones NP diversas y los comparan con pacientes con diferentes manifestaciones NP sin lupus, demuestran en los pacientes con LEG una correlación positiva, significativa ( $r = 0.502$ ,  $P = 0.007$ ) de los títulos de anti-NMDA en LCR con los títulos del anticuerpo en el suero.

Con relación a la determinación de citocinas y quimiocinas estudiadas, los resultados de nuestro estudio muestran que, a pesar de la naturaleza heterogénea de las manifestaciones neuro-psiquiátricas en los pacientes con LEG, los niveles de la mayoría de las moléculas estudiadas se encontraron aumentados en el LCR de la mayoría de los pacientes durante el episodio agudo.

Así, los niveles de IL-6 y las quimiocinas IL-8/CXCL8, MIG/CXCL9, IP-10/CXCL10, MCP-1/CCL2 y RANTES/CCL5 se encontraron consistentemente elevados en los pacientes con LEG-NP.

La presencia de IL-6 e IL-8/CXCL8 en LCR de pacientes con LEG-NP es uno de los hallazgos que con mayor frecuencia se ha reportado (80-85). Recientemente se ha descrito la presencia de las quimiocinas MCP-1/CCL2 e IP-10/CXCL10 en LCR de pacientes con LEG-NP (86-87). Sin embargo, hasta donde sabemos, no se ha reportado la presencia de otras quimiocinas como MIG/CXCL9 y RANTES/CCL5. Con relación a la función de estas moléculas, es importante hacer notar que a pesar de que la IP-10/CXCL10 y MIG/CXCL9 son predominantemente quimiotácticas para las células Th1, la MCP-1/CCL2 para células Th2 y RANTES/CCL5 para ambas subpoblaciones celulares (101), no encontramos producción de las citocinas características de éstas en los pacientes con LEG-NP. La producción de citocinas Th1/Th2 únicamente fue detectada en los pacientes con LEG-ms en donde existe un claro y evidente proceso inflamatorio con disrupción de la BHE.

El que la IL-6 y las quimiocinas se hayan detectado únicamente durante el episodio de actividad neuro-psiquiátrica refleja claramente un escenario completamente diferente a lo que sucede con

estas moléculas en la periferia, en donde, a diferencia de las quimiocinas, las citocinas son conspicuas (102-103). Esta diferencia sugiere que la producción de estas moléculas ocurre in situ y que el daño al SNC que observamos en estos pacientes no requiere la participación de factores derivados de la sangre periférica. De hecho, hay evidencia que sugiere que las neuronas y las células de la microglia y astrogliá actúan tanto como blanco o como fuente de las quimiocinas (104-105), lo que parece representar una respuesta inmune innata. Mas aún, hay reportes que sugieren que el incremento en la expresión de citocinas pro-inflamatorias como la IL-6, IL-1 $\beta$  y el TNF- $\alpha$  no se requieren para promover respuestas neuronales y gliales ante lesiones y que las quimiocinas, particularmente la MCP-1/CCL2, pudieran tener otras funciones en el daño al SNC diferentes al papel que presentan en los procesos inflamatorios (106). Estos resultados, a la par de los nuestros, hacen posible especular que el incremento en los niveles de quimiocinas que pudieran estar actuando tanto en forma autocrina como paracrina estén involucrados en el daño al SNC en los pacientes con LEG-NP ya sea por medio de activación y señalización o por otras funciones que hasta el momento desconocemos. En este contexto, algunos estudios recientes indican que, además de la actividad quimiotáctica para los leucocitos, la MCP-1/CCL2 juega un papel en la angiogénesis y metástasis tumoral, desarrollo del SNC, sistemas vascular e inmunológico, así como en la maduración y proliferación celular, apoptosis y síntesis de proteínas (107-111). Si bien la MCP-1 ha sido la quimiocina mejor caracterizada, no es ajeno a la razón suponer que las otras quimiocinas analizadas posean también otras funciones, no solo en procesos inflamatorios y de reclutamiento celular. Lo anterior hace pensar que la inflamación no es un componente obligatorio en los procesos que dan inicio o que son secundarios a las manifestaciones neuro-psiquiátricas en los pacientes con LEG.

En el 70% de los pacientes estudiados fue posible obtener una segunda muestra de LCR cuando las manifestaciones neuro-psiquiátricas habían sido ya resueltas. Así, logramos demostrar que

los niveles de prácticamente todas las moléculas que originalmente se encontraban elevadas, disminuyeron significativamente sin alcanzar, cabe aclarar, los niveles que se encontraron en los pacientes sin enfermedad autoinmune. En este contexto cabe destacar que estas moléculas tienen un comportamiento similar al observado en los autanticuerpos ya que los pacientes con LEG-NP muestran daño neurológico a largo plazo. No se ha reconocido una etiología que explique estas alteraciones, sin embargo, es posible que este escaso, pero persistente incremento en los niveles de quimiocinas y autanticuerpos en el LCR de los pacientes con LEG, promueva el daño, manteniendo un estado crónico y subclínico de inflamación.

En este contexto, se ha reportado que en los pacientes con deterioro cognitivo existe un incremento en IP-10/CXCL10, MCP-1/CXCL2 e IL-8/CXCL8 (112) y si bien con el conocimiento actual no es posible establecer una relación causa efecto entre el aumento de quimiocinas y el daño neurológico, la conexión entre estos sugiere ampliamente que ésta hipótesis podría ser una de las explicaciones más plausibles. Sobre esto último, se ha reportado que la presencia intratecal de IL-6 e IL-8 promueve la síntesis de metaloproteinasa-9, molécula que potencialmente participa en el desarrollo de daño cerebral con la resultante liberación de productos de degradación neuronales y astrocitarios que clínicamente se traduce como deterioro neurológico que puede observarse en estudios de resonancia magnética nuclear (84). Nuestros resultados confirman hipótesis previas acerca de la presencia intratecal de citocinas y quimiocinas en LCR de pacientes con LEG-NP.

En general, nuestros resultados proponen más preguntas que respuestas en el complejo escenario que representa el compromiso del SNC en el LEG.

- i) ¿Qué desencadena la respuesta observada en los pacientes con LEG-NP?
- ii) ¿Por qué esta respuesta no se perpetúa como la que encontramos a nivel de otros órganos e.g., riñón?

- iii) ¿Por qué los pacientes con lupus sin manifestaciones neuro-psiquiátricas presentan niveles elevados de anticuerpos y quimiocinas?
- iv) ¿Por qué los anticuerpos anti-P ribosomal y anti-NMDAR no inducen signos y síntomas de LEG-NP en los pacientes con LEG y meningitis séptica? Otras moléculas necesariamente tendrían que estar involucradas en el desarrollo de las manifestaciones NP además de quimiocinas y anticuerpos. Alternativamente, las manifestaciones clínicas del proceso séptico pudieran enmascarar los síntomas NP.
- v) ¿Por qué el exquisito tropismo del anticuerpo anti-NMDAR hacia el SNC y no de los otros anticuerpos estudiados? Qué características posee que lo hace tan específico? Tal vez refleja la presencia ubicua del antígeno en el SNC.
- vi) ¿Por qué el anticuerpo anti-NMDAR persiste en el LCR por tanto tiempo a niveles elevados? O alternativamente, por qué este anticuerpo cruza persistentemente y de manera selectiva la BHE en los pacientes con LEG-NP central.

## 1.8 CONCLUSIONES

### Autoanticuerpos

- i) Los anticuerpos anti- P ribosomal tanto en suero como en LCR no diferencian entre los pacientes con afección neurológica lúpica central o periférica, ni en aquellos con meningitis séptica.
- ii) En suero, los anticuerpos anti-NMDA diferencian entre los pacientes con afección neurológica lúpica central y periférica, pero no infecciosa. Sin embargo, en LCR identifican a los pacientes con afección neurológica lúpica central de los pacientes con afección periférica, pero no los distingue de aquellos con meningitis séptica.
- iii) Al menos, durante los primeros seis meses de remisión de las manifestaciones neurológicas centrales y periféricas, la prevalencia en suero de ambos anticuerpos no se modifica, aunque los niveles del anti-P ribosomal y anti-NMDAR tienden a disminuir. En el LCR, tanto la prevalencia como los niveles de ambos anticuerpos no se modifica y únicamente los niveles de anti-P ribosomal tienden a disminuir.
- vi) En los pacientes con lupus y meningitis séptica, la prevalencia de ambos anticuerpos tanto en suero como en LCR fue mayor que en pacientes con lupus neuro-psiquiátrico.
- vii) En suero y en LCR, la prevalencia de los anticuerpos anti-DNA<sub>dc</sub> no se modifica a los seis meses de la presentación de las manifestaciones NP, aunque los niveles tienden a disminuir, probablemente como reflejo de la disminución en la actividad de la enfermedad.
- viii) Nuestros resultados no apoyan la cuantificación en suero de los autoanticuerpos estudiados como una herramienta diagnóstica; sin embargo, no podemos descartar la posibilidad de que juegan un papel importante en la patogénesis del LEG-NP, particularmente el anticuerpo anti-NMDAR a nivel del SNC pero no a nivel del periférico.



- ix) Observamos correlación significativa positiva de los anticuerpos anti-DNAc y anti-NMDA en los pacientes con LEG estudiados, incluyendo aquellos sin manifestaciones NP, lo que sugiere que dicha correlación es inespecífica.

### **Citocinas**

- i) Solo la citocina IL-6 y todas las quimiocinas estuvieron significativamente más elevadas entre los pacientes con lupus NP en comparación con los pacientes con lupus sin manifestaciones NP o sin enfermedad autoinmune.
- ii) En los pacientes con lupus y meningitis séptica, todas las citocinas y quimiocinas se encontraron significativamente elevadas.
- iii) Seis meses después de la manifestación neuropsiquiátrica, los niveles de IL-6 y las quimiocinas disminuyeron, alcanzando los niveles de los pacientes con lupus sin manifestaciones NP. Sin embargo, no alcanzaron los niveles de los pacientes sin enfermedad autoinmune
- iv) La cuantificación de IL-6 y quimiocinas en LCR parecen ser indicadores de compromiso del SNC en LEG, y podrían ser útiles en el seguimiento y en la valoración de la respuesta al tratamiento en este grupo de pacientes.

### **1.9 LIMITACIONES**

- i) A pesar de que incluimos un gran número de pacientes con manifestaciones neuropsiquiátricas, solo pudimos estudiar la asociación de los anticuerpos y el perfil de citocinas y quimiocinas para éstas en general, pero no tuvimos el poder suficiente para estudiarlo de manera específica con relación a cada manifestación neurológica. Esto requiere el esfuerzo de un estudio multicéntrico.

- ii) Sólo se incluyó un número limitado de pacientes con manifestaciones NP periféricas, lo cuál podría despertar duda sobre la generalización de nuestros resultados. Sin embargo, el mecanismo patogénico de estas manifestaciones es diferente del de las manifestaciones centrales, por lo que consideramos que los resultados obtenidos ilustran, con suficiente claridad, el comportamiento de los anticuerpos estudiados en las manifestaciones NP centrales y periféricas.
- iii) Si bien, a los seis meses desde la presentación de las manifestaciones NP, los pacientes se encontraban clínicamente sin actividad de las mismas, no podemos excluir la presencia de cierta actividad sub-clínica que explique parcialmente la presencia y los niveles de los anticuerpos estudiados en el LCR y por ende, estaríamos en imposibilidad de valorar con precisión la asociación de dichos anticuerpos con la actividad de las manifestaciones NP. De ser real esta limitación, no podemos resolverla debido al estado del arte en que se encuentra el estudio de la actividad clínica en las manifestaciones NP.
- iv) Debido a que no incluimos un grupo control con manifestaciones neurológicas primarias en pacientes sin enfermedad autoinmune, no podemos concluir si la elevación de IL-6 y quimiocinas son específicas de los pacientes con lupus neuro-psiquiátrico o reflejan la presencia de la manifestación neuro psiquiátrica por sí misma independientemente de la etiología.
- iv) Aunque tratamos de incluir únicamente a pacientes con manifestaciones neuro-psiquiátricas atribuibles a lupus, excluyendo a los pacientes que tuvieron algún criterio de exclusión para la atribución de la manifestación de acuerdo al Colegio Americano de Reumatología (20), así como, manifestaciones neuro-psiquiátricas de menor gravedad que tienen una frecuencia comparable con la de la población general (21); en el 48% de los nuestros pacientes, identificamos factores concomitantes no relacionados con lupus y

de los cuales no fue posible evaluar su contribución al desarrollo de la manifestación.

Tomando en cuenta lo anterior, es probable que exista algún grado de mala clasificación.

- v) Nuestros resultados son aplicables a pacientes LEG-NP que presentan manifestaciones graves que requieren hospitalización para su diagnóstico y tratamiento, no así para aquellos con manifestaciones leves que no requieren hospitalización o para aquellos con manifestaciones graves crónicas o recurrentes, e.g., crisis convulsivas. Debido a que el estudio se llevó a cabo en un solo centro con variación étnica limitada entre los pacientes, es necesario ser cauteloso al intentar extrapolar estos resultados a todos los pacientes con LEG.

#### **1.10 FORTALEZAS**

- i) Es el primer estudio en el que se determina simultáneamente los niveles de diversos anticuerpos, tanto el suero como en LCR así como citocinas y quimiocinas en LCR en diversos grupos de pacientes con LEG y en sujetos sin enfermedades autoinmunes, los cuales funcionan como controles negativos, pero más importante, el primero en el que se incluye un grupo control positivo (LEG-ms) en el cuál hay un proceso inflamatorio global en las meninges. Este grupo permite determinar la especificidad de dichos anticuerpos como marcadores de actividad NP debida al lupus, al tratarse de pacientes con LEG y manifestaciones NP de origen infeccioso, no atribuidas a actividad lúpica.
- ii) Es el primer estudio que valora el comportamiento de los anticuerpos en el suero y en LCR así como citocinas y quimiocinas durante el episodio agudo y seis meses después, cuando clínicamente las manifestaciones NP se encontraban inactivas.

- iii) Todos los pacientes fueron valorados de manera prospectiva, siguiendo una evaluación estandarizada, y la determinación de los anticuerpos se hizo de manera ciega al diagnóstico de base y grupo de estudio y en forma simultánea, para disminuir la variabilidad intra-ensayo.

### **1.11 PERSPECTIVAS**

Evidentemente queda mucho por conocer con relación a los mecanismos patogénicos que promueven el desarrollo de las manifestaciones neuro-psiquiátricas en los pacientes con LEG. La ausencia de modelos experimentales y el difícil acceso al SNC son obstáculos que a la postre tendrán, necesariamente, que superarse.

Es de gran importancia continuar el estudio de estas manifestaciones con la finalidad de poder prevenirlas, ya que siguen siendo una de las causas más importantes de morbilidad y daño irreversible en los pacientes con LEG.

Se requiere la cuantificación concomitante de las moléculas que potencialmente están involucradas, para precisar cuáles participan en cada manifestación NP, cuantificándolas únicamente en el LCR.

El daño a la BHE tanto en pacientes con LEG-NP como en pacientes sin manifestaciones NP se ha subestimado. Por lo que es necesario canalizar nuestros esfuerzos en tratar de establecer los mecanismos responsables que alteran la integridad de la BHE y reducir el proceso que lleva al compromiso del SNC en los pacientes con LEG.

## 1.12 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Ruiz-Irastorza G, Khamashta MA, Castellino G, Hughes GR. (2001) Systemic lupus erythematosus. *Lancet* 2001;357: 1027-32.
2. Brey RL, Holliday SL, Saklad AR, Navarrete MG, Hermosillo-Romo D, et al. Neuropsychiatric syndromes in lupus: Prevalence using standardized definitions. *Neurology* 2002;58: 1214-20.
3. Hanly JG, McCurdy G, Fougere L, Douglas JA, Thompson K. Neuropsychiatric Events in Systemic Lupus Erythematosus: Attribution and Clinical Significance. *J Rheumatol* 2004;31: 2156-62.
4. Sibley JT, Wojciech P, Olszynski W, Decoteau E, Sundaram MB. The Incidence and Prognosis of Central Nervous System Disease in Systemic Lupus Erythematosus. *J Rheumatol* 1992;19:47-52.
5. Karassa FB, Ioannidis JP, Boki K, Touloumi G, Argyropoulou MI, Strigaris KA, et al. Predictors of Clinical Outcome and Radiologic Progression in patients with Neuropsychiatric Manifestations of Systemic Lupus Erythematosus. *Am J Med* 2000;109:628-634.
6. Jönsen A, Bengtsson O, Nived B, Ryberg B, Sturfelt G. Outcome of neuropsychiatric systemic lupus erythematosus within a defined Swedish population: increased morbidity but low mortality. *Rheumatology* 2002;41:1308-1312-
7. Mikdashi J, and Handwerker B. Predictors of neuropsychiatric damage in systemic lupus erythematosus: data from the Maryland lupus cohort. *Rheumatology* 2004;43:1555-1560.
8. Fragoso-Loyo H, Sánchez-Guerrero J. Effect of severe neuropsychiatric manifestations on short-term damage in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2007;34:76-80.
9. Jennekens FGI, Kater L. The central nervous system in systemic lupus erythematosus. Part 2. Pathogenetic mechanisms of clinical syndromes: a literature investigation. *Rheumatology (Oxford)* 2002;41: 619-30.

10. Toubi E, Kamashta MA, Panarra A, Hughes GR. (1995) Association of antiphospholipid Abs with central nervous system disease in systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 99: 397-401.
11. Herranz MT, River G, Kamashta MA, Blaser KU and Hughes G. (1994) Association between antiphospholipid antibodies and epilepsy in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 37: 568-571
12. Sanna G, Bertolaccini ML, Cuadrado MJ, Liang H, Khamashta MA, Mathieu A, et al. Neuropsychiatric manifestations in systemic lupus erythematosus: prevalence and association with antiphospholipid Abs. *J Rheumatol* 2003;30:985-92.
13. Cervera R, Piette JC, Font J, Khamashta MA, Shoenfeld Y, Camps MT, et al. Antiphospholipid syndrome : clinical and immunologic manifestations and patterns of disease expression in a cohort of 1,000 patients. *Arthritis Rheum* 2002;46:1019-27.
14. Shoenfeld Y, Lev S, Blatt I, Blank M, Font J, von Landenberg P, et al. Features associated with epilepsy in the antiphospholipid syndrome. *J Rheumatol* 2004;31:1344-8.
15. Borchers AT, Aoki CA, Naguwa SM, Keen CL, Shoenfeld Y, Gershwin ME. Neuropsychiatric features of systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 2005;4:329-44.
16. Zandman-Goddard G, Chapman J and Shoenfeld Y. Autoantibodies involved in neuropsychiatric SLE and Antiphospholipid Syndrome. *Semin Arthritis Rheum* 2007;36:297-315.
17. Ferro D, Basili S, Roccaforte S, et al. Determinants of enhanced thromboxane biosynthesis in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1999;42:2689-97.
18. Bruce IN, Gladman DD, Urowitz MB. Premature atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin N Am* 2000;26:257-78.
19. Manzi S. Systemic lupus erythematosus: a model for atherogenesis? *Rheumatology* 2000;39:353-9.

20. Jouhikainen T, Stephansson E, Leirisalso-Repo M. Lupus anticoagulant as a prognostic marker in systemic lupus erythematosus. *Br J Rheumatol* 1993;32:568-73.
21. Alarcon-Segovia D, Deleze M, oria CV, et al. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus. A prospective analysis of 500 consecutive patients. *Medicine (Baltimore)* 1989;68:353-65.
22. Ginsburg KS, Liang MH, Newcomer L, Goldhaber SZ, Schur PH, Hennekens CH. Anticardiolipin antibodies and the risk of ischemic stroke and venous thrombosis. *Ann Intern Med* 1992;117:997-1002.
23. Ahmed E, Stegmayr B, Trifunovic J, Weinehall L, Hallmans G, Lefvert AK. Anticardiolipin antibodies are not an independent risk factor for stroke. An incident case-referent study nested within the MONICA and Västerbotten Cohort Project. *Stroke* 2000;31:1289-93.
24. Horbach DA, van Oort E, Donders RCJM, Derksen RHW, de Groot PC. Lupus anticoagulant is the strongest risk factor for both venous and arterial thrombosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Thromb Haemost* 1996;76:916-24.
25. Johnson RT, Richardson EP. The neurological manifestations of systemic lupus erythematosus: a clinico-pathological study of 24 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 1968;47:337-69.
26. Devinsky O, Petito CK, and Alonso DR. Clinical and Neuropathological findings in systemic lupus erythematosus: The role of vasculitis, heart emboli, and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Ann Neurol* 1988;23:380-384.
27. Hanly JG, Noreen MG, and Sangalang V. Brain pathology in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatology* 1992;19:732-741.
28. Futrell N, Millikan C. Frequency, etiology and prevention of stroke in patients with systemic lupus erythematosus. *Stroke* 1989;20:583-91.

29. Kitagawa Y, Gotoh F, Okayazu H. Stroke in systemic lupus erythematosus. *Stroke* 1990;21:1533-9.
30. Manzi S, Meilahn EN, Rairie J, et al. Age specific incidence rates of myocardial infraction and angina in women with systemic lupus erythematosus :comparison with framingham Study. *Am J Epidemiol* 1997;145:408-15.
31. Ross R. Atherosclerosis an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.
32. Harats D, Geroge J, Levy Y, Khamashta MA, Hughes GR, Sheonfeld Y. Atheroma: links with antiphospholipid antibodies, Hughes syndrome and lupus. *Q J Med* 1999;92:57-9.
33. Borba EF, Bonfa E, Vinagre CG, Ramires JA, Maranhao RC. Chylomicron metabolism is markedly altered in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2000;43:1033-44.
34. Baigent C. Premature cardiovascular disease in chronic renal failure. *Lancet* 1999;353:1348-53.
35. Marullo S, Clauvel J-P, Intrator L, Danon F, Brouet J-C, Oksenhendler E. Lupoid sclerosis with antiphospholipid and antimyelin antibodies. *J Rheumatol* 1993;20:747-9.
36. Sibbit WL Jr, Sibbit RR, Brooks WM. Neuroimaging in neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1999;42:2026-38.
37. Matsumoto R, Nakano I, Shiga J. Systemic lupus erythematosus with multiple perivascular spongy changes in cerebral deep structures, midbrain, and cerebellar withe matter. A case report. *J Neurol Sci* 1997;145:147-53.
38. Shintaku M, Matsumoto R. Disseminated perivenous necrotizing encephalomyelitis in systemic lupus erythematosus: report of an autopsy case. *Acta Neuropathol (Berl)* 1996;35:313-17.



39. Kovacs B, Lafferty TL, Brent L, DeHoratius RJ. Transverse myelopathy in systemic lupus erythematosus: an analyses of 14 cases and review of the literature. *Ann Rheum Dis* 2000;59:120-4.
40. Mandler RN, Davis LE, Jeffrey DR, Kornfeld M. Devic's neuromyelitis optica: a clinicopathological study of 8 patients. *Ann Neurol* 1993;34:162-8.
41. Hinchey J, Chaves C, Appignani B, et al. A reversible posterior leukoencephalopathy syndrome. *N Engl J Med* 1996 ;334 :494-500.
42. Shintani S, Ono K, Hinoshita H, Shiigai T, Tsuruoka S. Unusual neuroradiological findings in systemic lupus erythematosus. *Eur Neurol* 1993;33:13-16.
43. West SG, Emlen W, Wener MH, Kotzin BL. (1995) Neuropsychiatric Lupus Erythematosus: A 10-year Prospective Study on the Value of Diagnostics Test. *Am J Med* 99: 153-163.
44. Hay EM, and Isenberg DA. (1993) Autoantibodies in Central Nervous System Lupus. Clinical review. *Br J Rheumatol* 32: 329-332.
45. Greenwood D, Gitlits VM, Alderuccio F, Sentry JW and Tho B. (2002) Autoantibodies in Neuropsychiatric Lupus. *Autoimmunity* 35: 79-86.
46. Yoshio T, Onda K, Nara H, Minota S. Association of IgG anti-NR2 glutamate receptor antibodies in cerebrospinal fluid with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006;54:675-681.
47. Hanly JG, Rabichaud J, Fisk JD. (2006) Anti-NR2 glutamate receptor antibodies and cognitive function in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 33: 1553-8.
48. Bluestein HG, Williams GW, Steinberg AD. (1981) Cerebrospinal fluid antibodies to neuronal cells: associations with neuropsychiatric manifestations of systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 70: 240-6.

49. Bonfa E, Golombek SJ, Kaufman LD, Skelly S, Weissbach H, et al. Association between lupus psychosis and anti-ribosomal P protein antibodies.  
N Eng J Med 1987;317: 265-71.
50. Schneebaum AB, Singleton JD, Sterling GW, Blodgett JK, Allen LG, et al. (1991) Association of psychiatric manifestations with antibodies to ribosomal P proteins in systemic lupus erythematosus. Am J Med 90: 54-62.
51. Isshi K and Hirohata SH. (1998) Differential roles of the anti-ribosomal P antibody and antineuronal antibody in the pathogenesis of central nervous system involvement in systemic lupus erythematosus. Arthritis Rheum 41: 1819-1827.
52. Pereira RM, Yoshinari NH, de Oliveira RM, Cossermelli W. (1992) Antiganglioside Abs in patients with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. Lupus 1: 175-9.
53. Kowal C, DeGiorgio LA, Lee JY, Edgar MA, Huerta PT, et al. (2006) Human lupus autoantibodies against NMDA receptors mediate cognitive impairment.  
Proc Natl Acad Sci U S A 103: 19854-19859.
54. Hanson VG, Horowitz M, Rosenbluth D, Spiera H, Puszkin S. Systemic lupus erythematosus patients with central nervous system involvement show autoAbs to a 50Kd neuronal membrane protein. J Exp Med 1992;176:565-73.
55. Denburg JA, Carbotte RM, Denburg SD. Neuronal Abs and cognitive function in systemic lupus erythematosus. Neurology 1987;37:464-7.
56. Hanly JG, Behman S, Denburg SD, Carbotte RM, Denburg JA. The association between sequential changes in serum antineuronal Abs and neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. Postgrad Med J 1989;65:622-7.
57. Kobiler D, Fuch S, Samuel D. The effects of antisynaptosomal plasma membrane antibodies on memory. Brain Res 1976;15: 129-137.

58. Rappaport MM, Karpiak SE, Madahik SP. Biological activity of antibodies injected into the brain. *Fed Proc* 1978;38:2391-3296.
59. Simon J, Simon O. Effect of pasive transfer of anti-brain antibodies. *Exp neurol* 1975;47:523-534.
60. Ebert T, Chapman J, Shoenfeld Y. Anti-ribosomal P protein and its role in psychiatric manifestations of systemic lupus erythematosus: myth or reality? *Lupus* 2005;14:571-5.
61. Koffler D, Miller TE, Lahita RG. Studies on the specificity and clinical correlation of antiribosomal Abs in systemic lupus erythematosus sera. *Arthritis Rheum* 1979;22:463-70.
62. Bonfa E, Elkon KB. Clinical and serologic associations of the antiribosomal P protein antibody. *Arthritis Rheum* 1986;29:981-5.
63. Sato T, Uchiumi T, Ozawa T, Kikuchi M, Nakano M, Kominami R, et al. AutoAbs against ribosomal proteins found with high frequency in patients with systemic lupus erythematosus with active disease. *J Rheumatol* 1991;18:1681-4.
64. Martin AL, Reichlin M. Fluctuations of antibody to ribosomal P proteins correlate with appearance and remission of nephritis in SLE. *Lupus* 1996;5:22-9.
65. Reichlin M, Wolfson-Reichlin M. Evidence for the participation of anti-ribosomal P Abs in lupus nephritis. *Arthritis Rheum* 1999;42:2728-9.
66. Reichlin M. Ribosomal P Abs and CNS lupus. *Lupus* 2003;12:916-8.
67. McLaurin EY, Holliday SL, Williams P, Brey RL. Predictors of cognitive dysfunction in patients with systemic lupus erythematosus. *Neurology* 2005;64:297-303.
68. Georgescu L, Mevorach D, Arnett FC, Reveille JD, Elkon KB. Anti-P Abs and neuropsychiatric lupus erythematosus. *Ann NY Acad Sci* 1997;823:263-9.
69. Yoshio T, Hirata D, Onda K, Nara H, Minota S. Antiribosomal P proteins Abs in cerebrospinal fluid are associated with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *J Rheum* 2005;32:34-9.

70. Elkon K. Ribosomal RNP. In: van Venrooij WJ, Maini RN, eds. Manual of biological marker of diseases. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1994;B2.5:1-11.
71. Derksen RH, van Dam P, Gmelig Meyling FH, Bijlsma JW, Smeenk RJ. A prospective study on antiribosomal P proteins in two cases of familial lupus and recurrent psychosis. *Ann Rheum Dis* 1990;49:779-82.
72. Golombek SJ, Graus F, Elkon KB. AutoAbs in the cerebrospinal fluid of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1986;29:1090-7.
73. Karassa FB, Afeltra A, Ambrozic A, et al. Accuracy of Anti-Ribosomal P Protein Antibody Testing for the Diagnosis of Neuropsychiatric Systemic Lupus Erythematosus. An International meta-Analysis. *Arthritis Rheum* 2006;54:312-324.
74. Gaynor B, Putterman C, valadon P, Spatz L, Scharff MD, Diamond B. Peptide inhibition of glomerular deposition of an anti-DNA antibody. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:1955-60.
75. De Giorgio LA, Konstantinov KN, Lee SC, Hardin JA, Volpe VT, Diamond B. A subset of lupus anti-DNA antibodies cross-reacts with the NR2 glutamate receptor in Systemic Lupus Erythematosus. *Nat Med* 2001; 7:1189-93.
76. Omdal R, Brokstad K, Waterloo K, Koldingsnes W, Jonsson R, Mellgren SI. Neuropsychiatric disturbances in SLE are associated with Abs against NMDA receptors. *Eur J Neurol* 2005;12:392-8.
77. Husebye ES, Sthoeger ZM, Dayan M, Zinger H, Elbirt D, Levite M, et al. AutoAbs to a NR2A peptide of the glutamate/NMDA receptor in the sera of patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2005;64:1210-3.
78. Lapteva L, Nowak M, Yarboro Ch, Takada K, Roebuck-Spencer T, Weickert Th, et al. Anti-N-Methyl-D-Aspartate Receptor Antibodies, Cognitive Dysfunction, and Depression in Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006;54:2505-2514.

79. Abbot NJ, Mendonca LLF, and Dolman DEM. The blood-brain barrier in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2003;12:908-915.
80. Alcocer-Varela J, Aleman-Hoey D, Alarcon-Segovia D. Interleukin-1 and interleukin-6 activities are increased in the cerebrospinal fluid of patients with CNS lupus erythematosus and correlate with local late T-cell activation markers. *Lupus* 1992; 1:111-7.
81. Hirohata S, Tanimoto K, Ito K. Elevation of cerebrospinalfluid interleukin-6 activity in patients with vasculitides and central nervous system involvement. *Clin Immunol Immunopathol* 1993; 66:225-229.
82. Trysberg E, Carlsten H, Tarkowski A. Intrathecal cytokines in systemic lupus erythematosus with central nervous system involvement. *Lupus* 2000; 9:498-503.
83. Svenungsson E, Andersson M, Brundin L, van Vollenhoven R, Khademi M, Tarkowski A, et al. Increased levels of proinflammatory cytokines and nitric oxide metabolites in neuropsychiatric lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2001; 60:372-9.
84. Trysberg E, Blenow K, Zachrisson O, Tarkowski A. Intrathecal levels of matrix metalloproteinases in systemic lupus erythematosus with central nervous system engagement. *Arthritis Res Ther* 2004; 6: R551-6
85. Ikuni N, Okamoto H, Yoshio T, Sato E, Kamitsuji S, Iwamoto T, et al. Raised monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1)/CCL2 in cerebrospinal fluid of patients with neuropsychiatric lupus. *Ann Rheum Dis* 2006; 65:253-6.
86. Okamoto H, Katsumata Y, Nishimura K, Kamatani N. Interferon-inducible protein 10/CXCL10 is increased in the cerebrospinal fluid of patients with central nervous system. *Arthritis Rheum* 2004; 50:3731-2.

87. Yajima N, Kasama T, Isozaki T, Odai T, Matsunawa M, Negishi M, et al. Elevated levels of soluble fractalkine in active systemic lupus erythematosus. Potential involvement in neuropsychiatric manifestations. *Arthritis Rheum* 2005; 52:1670-5.
88. Kasama T, Tsuyoshi O, Wakabayashi K, Yajima N, Miwa Y. Chemokines in systemic lupus erythematosus involving the central nervous system.
89. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, et al. (1982) The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 25: 1271-7.
90. Gladman DD, Ibanez D, Urowitz MB. (2002) Systemic lupus erythematosus disease activity index 2000. *J Rheumatol* 29: 288-91.
91. Gladman DD, Ginzler E, Goldsmith C, Fortin P, Liang MH, et al. (1996) The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology damage index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 39: 363-9.
92. ACR Ad Hoc Committee on Neuropsychiatric Lupus Nomenclature. (1999) The American College of Rheumatology nomenclature and case definitions for neuropsychiatric lupus syndromes. *Arthritis Rheum* 42: 599-608.
93. Ainiola H, Hietaharju A, Loukkola J, Peltola J, Korpela M, et al. (2001) Validity of the new American College of Rheumatology criteria for neuropsychiatric lupus syndromes: a population-based evaluation. *Arthritis Rheum* 45: 419-23.
94. Correale J, and Villa A. (2007) The blood-brain-barrier in multiple sclerosis: functional roles and therapeutic targeting. *Autoimmunity*. 40: 148-60.
95. Abdel-Rahman A, Shetty AK, Abou-Donia MB. (2002) Disruption of the blood brain barrier and neuronal cell death in cingulate cortex, dentate gyrus, thalamus and hypothalamus in a rat model of Gulf-War syndrome. *Neurobiol Dis* 10: 306-26.

96. Esposito P, Chandler N, Kandere K, Basu S, Jacobson S, et al. (2002) Corticotropin-releasing hormone and brain mast cells regulate blood-brain-barrier permeability induced by acute stress. *J Pharmacol Exp Ther* 303: 1061-66.
97. Hawkins BT, Abbruscato TJ, Eggleton RD, Brown RC, Huber JD, et al. (2004) Nicotine increases in vivo blood-brain barrier permeability and alters cerebral microvascular tight junction protein distribution. *Brain Res* 1027: 48-58.
98. Hawkins BT, Davis TP. (2005) The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease. *Pharmacol Rev* 57:173-185
99. Appenzeller S, Rondina JM, Li LM, Costallat LT, Cendes F. (2005) Cerebral and corpus callosum atrophy in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 52: 2783-2789.35.
100. Kozora E, Arciniegas DB, Filley CM, Ellison MC, West SG, et al. (2005) Cognition, MRS neurometabolites, and MRI volumetrics in non-neuropsychiatric systemic lupus erythematosus: preliminary data. *Cogn Behav Neurol* 18: 159-162.
101. Zlotnik A, Yoshie O. Chemokines: a new classification system and their role in immunity. *Immunity* 2000; 12:121-7.
102. Mok CC, Lau CS. Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J Clin Pathol* 2003; 56:481-90.
103. Lit LCW, Wong CK, Tam LS, Li EKM, Lam CWK. Raised plasma concentration and ex vivo production of inflammatory chemokines in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2006; 65:209-15.
104. Giulian D, Vaca K, Corpuz M. Brain glia release factors with opposing actions upon neuronal survival. *J Neurosci* 1993; 13:29-37.
105. Giulian D, Li J, Leara B, Keenen C. Phagocytic microglia release cytokines and cytotoxins that regulate the survival of astrocytes and neurons in culture. *Neurochem Int.* 1994; 25:227-33.

106. Little AR, Benkovic SA, Miller DB, O'Callaghan JP. Chemically induced neuronal damage and gliosis: enhanced expression of the proinflammatory chemokines, monocyte chemoattractant protein (MCP-1), without a corresponding increase in proinflammatory cytokines. *Neurosciences* 2002; 115:307-20.
107. Liss C, Fekete MJ, Hasina R, Lam CD, Lingen MW. Paracrine angiogenic loop between head-and-neck squamous-cell carcinomas and macrophages. *Int J Cancer* 2001; 93:781-5.
108. Rezaie P, Trillo-Pazos G, Everall IP, Male DK. Expression of beta-chemokines and chemokines receptors in human fetal astrocyte and microglial co-cultures: potential role of chemokines in the developing CNS. *Glia* 2002; 37:64-75.
109. Sasayama S, Okada M, Matsumori A. Chemokines and cardiovascular disease. *Cardiovasc Res* 2000; 45:267-9.
110. Luther SA, Cyster JG. Chemokines as regulators of T cell differentiation. *Nat Immunol* 2001; 2:102-7.
111. Salcedo R, Ponce MI, Young HA, Wasserman K, Ward JM, Kleinman HK, et al. Human endothelial cells express CCR2 and respond to MCP-1: direct role of MCP-1 in angiogenesis and tumor progression *Blood* 2000; 96:34-40.
112. Galimberti D, Schoonenboom N, Scheltens P, Fenoglio C, Bouwman F, Venturelli E, et al. Intrathecal chemokines synthesis in mild cognitive impairment and Alzheimer disease. *Arch Neurol* 2006; 63:538-43.



## Producción científica

1. Interleukin-6 and chemokines in the neuropsychiatric manifestations of systemic lupus erythematosus. Fragoso-Loyo H, Richaud-Patin Y, Orozco-Narváez A, Dávila-Maldonado L, Atisha-Fregoso Y, Llorente L, Sánchez-Guerrero J. *Arthritis Rheum.* 2007 Apr;56(4):1242-50.
2. Serum and cerebrospinal fluid autoantibodies in patients with neuropsychiatric lupus erythematosus. Implications for diagnosis and pathogenesis. Fragoso-Loyo H, Cabiedes J, Orozco-Narváez A, Dávila-Maldonado L, Atisha-Fregoso Y, Diamond B, Llorente L, Sánchez-Guerrero J. *PloS One* 2008 Oct 6;3(10):e3347. doi: 10.1371/journal.pone.0003347.
3. Inflammatory profile in the cerebrospinal fluid of patients with central neuropsychiatric lupus, with and without associated factors. Fragoso-Loyo H, Cabiedes J, Richaud-Patin Y, Orozco-Narváez A, Diamond B, Llorente L, Sánchez-Guerrero J. *Rheumatology (Oxford).* 2009 Dec;48(12):1615-6.
4. Utility of serum S100B protein for identification of central nervous system involvement in systemic lupus erythematosus. Fragoso-Loyo H, Cabiedes J, Atisha-Fregoso Y, Llorente L, Sánchez-Guerrero J. *J Rheumatol.* 2010 Nov;37(11):2280-5.
5. Neurotoxic lupus autoantibodies alter brain function through two distinct mechanisms. Faust TW, Chang EH, Kowal C, Berlin R, Gazaryan IG, Bertini E, Zhang J, Sanchez-Guerrero J, Fragoso-Loyo H, Volpe BT, Diamond B, Huerta PT. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Oct 26;107(43):18569-74.
6. Utility of interferon- $\alpha$  as a biomarker in central neuropsychiatric involvement in systemic lupus erythematosus. Fragoso-Loyo H, Atisha-Fregoso Y, Núñez-Alvarez CA, Llorente L, Sánchez-Guerrero J. Fragoso-Loyo H, Atisha-Fregoso Y, Núñez-Álvarez CA, Llorente L, Sánchez-Guerrero J. *J Rheumatol.* 2012 Mar;39(3):504-9.
7. Inflammatory profile in cerebrospinal fluid of patients with headache as a manifestation of neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. Fragoso-Loyo H, Atisha-Fregoso Y, Llorente L, Sánchez-Guerrero J. *Rheumatology (Oxford).* 2013 Dec;52(12):2218-22.

## Apéndice 1. Tablas y Figuras

**Tabla 1. Características clínicas y demográficas de los pacientes estudiados al momento de la hospitalización**

	LEG-NP Central (n= 42)	LEG-NP Periférico (n = 5)	LEGAc-no-NP (n = 49)	LEG- Quirúrgico (n= 16)	LEG- meningitis (n = 6)	No-AU (n = 25)
Edad, años <sup>A</sup>	31.5 ± 11.6	23.8 ± 6.1	30.7 ± 12.0	37.8 ± 9.8	29.7 ± 10.3	37.5 ± 15.3
Hombre/Mujer	7/35	0/5	4/45	2/14	0/6	6/19
Duración de LEG, años	3.9 ± 4.4	1.8 ± 2.4	8.8 ± 6.5 <sup>B</sup>	8.8 ± 7.2 <sup>C</sup>	3.2 ± 3.8	--
Criterios de LEG, No.	5.4 ± 2.1	6 ± 3.2	5.0 ± 2.4	6.1 ± 2.0	5.3 ± 1.5	--
Escala SLEDAI-2K, a la hospitalización	14.9 ± 9.4	13.2 ± 8.7	11.5 ± 7.9	3.8 ± 1.5 <sup>B</sup>	10.6 ± 6.0	--
Escala SLEDAI-2K, 6 meses después	5.4 ± 5.8	4.0 ± 6.9	5.9 ± 6.6	--	--	--
Escala SLICC/ACR DI	0.7 ± 1.2	0.4 ± 0.9	0.4 ± 0.8	0.8 ± 0.4	0.3 ± 0.5	--
Uso de prednisona, %	91	100	92	6.3 <sup>B</sup>	100	--
Dosis de prednisona, mg/day	44.7 ± 24.3	52 ± 13.0	41.7 ± 22.5	--	55 ± 12.2	--
Uso de inmunosupresores, %	48	100	71 <sup>D</sup>	25	17 <sup>B</sup>	--

<sup>A</sup> Excepto cuando se indique, Los valores se resumen en promedios ± DS. LEG = Lupus Eritematoso Generalizado; LEG-NP = Lupus eritematoso neuro-psiquiátrico; SLEDAI-2K = Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000 update; SLICC/ACR DI = Systemic Lupus International Collaborating Clinics/ American College of Rheumatology Damage Index.

<sup>B</sup>P < 0.001 versus LEG-NP central

<sup>C</sup>P = 0.003 versus LEG-NP central

<sup>D</sup>P = 0.02 versus LEG-NP central

**Tabla 2. Prevalencia y niveles de autoanticuerpos en suero de pacientes con LEG-NP y controles.**

<b>Autoanticuerpos positivos, no. (%)</b>	<b>LEG-NP Central n = 42</b>	<b>LEG-NP Periférico n = 5</b>	<b>LEG-no-NP n = 49</b>	<b>LEG-NP Quirúrgico n = 16</b>	<b>LEG-meningitis n= 6</b>	<b>No- AU n = 25</b>
Antinucleares	33 (79)	4 (80)	44 (90)	14 (88)	6 (100)	3 (12) <sup>B</sup>
Anti-DNA <sub>dc</sub>	34 (81)	5 (100)	37 (76)	11 (69)	4 (67)	4 (16) <sup>B</sup>
Anti-P ribosomal	25 (60)	4 (80)	15 (31) <sup>C</sup>	6 (38)	5 (83)	3 (12) <sup>B</sup>
Anti-cardiolipina (IgG)	8 (19)	2 (40)	13 (27)	2 (13)	2 (33)	1 (4)
Anti-B2-Glicoproteína I (IgG)	26 (62)	4 (80)	27 (55)	9 (56)	5 (83)	3 (12) <sup>C</sup>
Anti-N-Methyl-D-Aspartate receptor <sup>A</sup>	11 (32)	0 (0)	13 (27)	2 (17)	2 (40)	2 (8) <sup>D</sup>
<b>Niveles de autoanticuerpos <sup>E</sup></b>						
Anti-ds DNA	369.5±658.6	163.9±292.5	523.9±723.6	184.3±530.8	427.8±506.4	10.6 ± 0.66
Anti-ribosomal P	94.9±153.3	106.9±188.7	96.7±117.6	126.3±184.4	148.5±196.3	16.4 ± 3.8
Anti-cardiolipin (IgG)	38.4±56.2	18.6±8.4	28.4±28.2	17.6±6.9	12.7± 0.99	24.5
Anti-B2-Glycoprotein I (IgG)	15.3±47.5	8.9±7.6	4.3±3.5	4.5±1.9	3.9±1.8	3.9 ± 1.5
Anti-N-Methyl-D-Aspartate receptor <sup>*</sup>	28.80±12.41	----	39.26±10.79	21.41± 2.44	19.63 ± 1.93	25.16± 0.45

LEG-NP = Lupus eritematoso neuro-psiquiátrico; No-LEG-NP = Pacientes con lupus sin antecedente de manifestaciones NP; LEG-Quirúrgico = pacientes con lupus que requirieron cirugía electiva; LEG-ms pacientes con lupus con meningitis séptica.  
<sup>A</sup>EL anticuerpo NMDAR fue medido en 34 pacientes con LEG-NP central, 5 con LEG-NP periférico, 49 con LEG-no-NP, 12 con LEG-quirúrgico, 5 con LEG-ms y 25 sin enfermedades autoinmunes.

<sup>B</sup>P<0.001 versus LEG-NP central

<sup>C</sup>P=0.006 versus LEG-NP central

<sup>D</sup>P=0.03 versus LEG-NP central

<sup>E</sup> Únicamente fueron considerados los pacientes que mostraron positividad de los diferentes autoanticuerpos en la deteminación basal

**Tabla 3. Prevalencia y niveles de autoanticuerpos en suero de pacientes con LEG-NP central y periférico y LEG-no-NP al momento de la hospitalización y 6 meses después.**

Autoanticuerpos positivos, No. (%)	LEG-NP Central n = 34	LEG-NP Central 6 meses n = 34	P	LEG-NP Periférico Basal n = 5	LEG-NP Periférico 6 meses n = 5	P (%)	LEG-no-NP basal n = 40	LEG-no-NP 6 meses n = 40	P
Antinucleares	28 (82)	25 (74)	0.38	4 (80)	4 (80)	1.0	40 (100)	31 (77)	0.001
Anti-DNA <sub>dc</sub>	27 (79)	20 (58)	0.07	5 (100)	3 (60)	0.22	30 (75)	28 (70)	0.62
Anti- P ribosomal	21 (61)	16 (47)	0.22	4 (80)	5 (100)	1.0	13 (33)	13 (33)	1.0
Anti-cardiolipina, (IgG)	5 (15)	5 (15)	1.0	2 (40)	1 (20)	1.0	11 (28)	9 (23)	0.60
Anti-B2-Glicoproteína I, (IgG)	22 (65)	17 (50)	0.22	4 (80)	5 (100)	1.0	23 (58)	19 (48)	0.36
Anti-N-Methyl-D-Aspartate Receptor (NMDAR) <sup>A</sup>	8 (35)	7 (30)	0.75	0 (0)	2 (40)	0.44	12 (30)	10 (25)	0.62
<b>Autoanticuerpos niveles<sup>B</sup></b>									
Anti-DNA <sub>dc</sub>	238.8 ± 519.9	41.6 ± 76.7	0.06	163.9 ± 292.5	37.9 ± 38.7	0.22	533.04 ± 722.2	162.1 ± 399.5	0.008
Anti- P ribosomal	96.0 ± 157.8	46.5 ± 87.3	0.08	106.9 ± 188.7	25.8 ± 19.8	1.0	69.3 ± 98.7	63.5 ± 105.2	0.10
Anti-cardiolipina, IgG	51.3 ± 70.4	13.6 ± 5.5	0.13	18.5 ± 8.4	18.2 ± 11.4	0.65	31.7 ± 31.6	12.8 ± 9.6	0.01
Anti-B2-Glicoproteína I, IgG	17.0 ± 51.6	4.6 ± 4.4	0.03	8.9 ± 7.6	5.6 ± 1.5	0.46	5.5 ± 4.5	4.9 ± 4.2	0.70
Anti-N-Methyl-D-Aspartate Receptor (NMDAR)	31.0 ± 13.0	24.5 ± 13.7	0.02	--	--	--	39.67 ± 11.66	50.23 ± 23.5	0.28

<sup>A</sup> EL anticuerpo NMDAR fue medido en 23 pacientes LEG-NP central y 5 LEG-NP periférico; en 40 pacientes LEG-no-NP basal y 6 meses después.

<sup>B</sup> Unicamente se consideraron a los pacientes que fueron positivos en la medición basal para cada anticuerpos específico, LEG-NP Central /LEG-NP periférico/LEG-no-NP: anti-DNA<sub>dc</sub> 27/5/30, anti-P ribosomal 21/4/13, anticardiolipina IgG 5/2/11, anti-B<sub>2</sub>-glicoproteína-I 22/4/23, anti-NMDAR 8/0/12.

**Tabla 4. Prevalencia y niveles de autoanticuerpos en LCR de pacientes con LEG-NP central y periférico y controles.**

Autoanticuerpos Positivos, No. (%)	LEG-NP Central (35)	LEG-NP Periférico (n = 5)	LEG-NP Quirúrgico (n = 16)	LEG-meningitis (n= 5)	No-AU (n = 17)
Antinucleares	20 (57)	5 (100)	7 (44)	5 (100)	0 (0) <sup>1</sup>
Anti-DNA <sub>dc</sub>	27 (77)	3 (60)	10 (63)	4 (80)	0 (0) <sup>2</sup>
Anti-P ribosomal	16 (46)	2 (40)	5 (31)	5 (100) <sup>3</sup>	1 (6) <sup>3</sup>
Anti-cardiolipina, IgG	4 (11)	0 (0)	2 (13)	3 (60) <sup>4</sup>	0 (0) <sup>4</sup>
Anti-B2-Glicoproteína I, IgG	0 (0)	0 (0)	9 (56) <sup>5</sup>	0 (0)	0 (0)
Anti-N-Methyl-D-Aspartate receptor (NMDAR) <sup>7</sup>	14 (41)	0 (0)	1 (8) <sup>6</sup>	5 (100) <sup>6</sup>	1 (4) <sup>6</sup>
<b>Autoanticuerpos niveles<sup>8</sup></b>					
Anti-DNA <sub>dc</sub>	1007.5 ± 924.2	237.4 ± 390.1	24.3 ± 19.6	23.8 ± 18.3	---
Anti-P ribosomal	542.7 ± 1649.3	30.9 ± 14.4	148.8 ± 196.7	632.1 ± 962.9	10.5
Anti-cardiolipina, IgG	10.7 ± 2.7	---	17.6 ± 6.9	19.5 ± 9.8	---
Anti-B2-Glicoproteína I, IgG	---	---	4.5 ± 1.9	---	---
Anti-N-Methyl-D-Aspartate receptor (NMDAR) <sup>7</sup>	80.8 ± 27.9	---	40.3	89.7 ± 49.8	63.0

LEG-NP = lupus eritematoso neuro-psiquiátrico; LEG-NP quirúrgico = pacientes con lupus que requirieron cirugía electiva ; LEG-meningitis = pacientes con lupus y meningitis séptica, No-AU= pacientes sin enfermedad autoinmune.

<sup>1</sup>P<0.004 versus todos los grupos con LEG

<sup>2</sup>P<0.007 versus todos los grupos con LEG

<sup>3</sup>P<0.005 versus LEG-NP Central y LEG-meningitis

<sup>4</sup>P=0.006 versus LEG-meningitis

<sup>5</sup>P<0.05 versus todos los grupos con LEG

<sup>6</sup>P<0.02 versus LEG-NP Central

<sup>7</sup>El anticuerpo NMDAR fue medido en 34 pacientes LEG-NP central, 5 LEG-NP periférico, 12 LEG-NP quirúrgico, 5 LEG-meningitis, y en 25 pacientes sin enfermedad autoinmune .

<sup>8</sup> Los niveles de autoanticuerpos se resumen como promedio (± DS) entre aquellos pacientes que fueron positivos. El número de pacientes en cada grupo para un anticuerpo en particular, corresponde a las prevalencias que mostramos en la parte de arriba de la tabla.

**Tabla 5. Prevalencia y niveles de autoanticuerpos en LCR de pacientes con LEG-NP central y periférico al momento de la hospitalización y 6 meses después.<sup>A</sup>**

<b>Autoanticuerpos positivos, No. (%)</b>	<b>LEG-NP Central Basal n = 25</b>	<b>LEG-NP Central 6 meses n = 25</b>	<b>P</b>	<b>LEG-NP Periférico Basal n = 5</b>	<b>LEG-NP Periférico 6 meses n = 5</b>
Antinucleares	15 (60)	11 (44)	0.26	5 (100)	4 (80)
Ant-DNAc	17 (68)	14 (53)	0.61	3 (60)	2 (40)
Anti-P ribosomal	10 (40)	9 (36)	0.95	2 (40)	2 (40)
Anti-cardiolipina (IgG)	4 (16)	0 (0)	0.11	0 (0)	0 (0)
Anti-B2-Glicoproteina I (IgG)	0 (0)	0 (0)	--	0 (0)	0 (0)
Anti-N-Methyl-D-Aspartate Receptor (NMDAR)	9 (39)	5 (22)	0.34	0 (0)	2 (40)
<b>Autoanticuerpos niveles<sup>B</sup></b>					
Anti-DNAc	463.3 ± 1815.1	17.2 ± 17.3	0.03	237.4 ± 390.1	10.8 ± 3.7
Anti-P ribosomal	851.4 ± 2061.6	25.1 ± 21.6	0.01	30.9 ± 14.4	12.5 ± 3.1
Anti-cardiolipina (IgG)	10.7 ± 2.7	4.0 ± 0.5	0.06	--	--
Anti-N-Methyl-D-Aspartate Receptor (NMDAR)	82.9 ± 39.9	76.3 ± 93.1	0.26	--	--

<sup>A</sup> La evaluación basal se realiza al momento de la hospitalización. El anticuerpo NMDAR fue medido en 23 pacientes con LEG-NP central y en 5 periférico en la determinación basal y 6 meses después.

<sup>B</sup> Solo se consideraron a los pacientes que resultaron positivos en la determinación basal para cada anticuerpo específico: LEG-NP Central/LEG-NP periférico: anti-DNAc 17/3, anti-P ribosomal 10/2, anticardiolipina IgG 4/0, anti-NMDAR 9/0.

**Tabla 6. Niveles y correlación de anticuerpos en suero y LCR de pacientes con LEG**

	LEGNPc n = 42	LEGNPc+p n = 47	LEGNPc+ms n =47	LEG-qx n = 16
DNAdc niveles				
SUERO Md (RIQ)	18.8 (10.1-150.1)	20.2 (10.1-150.1)	17.4 (10-208.5)	10.4 ( 9.3-29.3)
LCR Md (RIQ)	11.8 (9.1-32.5)	11.6 (8.9-29.1)	11.6 (9.3- 29.1)	10.2 ( 9.3-18.2)
r	0.44	0.52	0.46	0.49
P-ribosomal				
SUERO Md (RIQ)	10.5 (8.9-24.1)	10.6 (9.2-24.1)	10.7 (8.9-25.6)	9.1 ( 8.3-13.8)
LCR Md (RIQ)	9.8 (8.4-20.8)	9.9 (8.3-20.7)	9.9 (8.5-20.8)	9.1 (8.3 - 13.05)
r	0.36	0.42	0.38	-0.20
NMDA				
SUERO Md (RIQ)	0.1525 (0.1184-0.1804)	0.1464 (0.1184-0.1727)	0.1525 (0.1184-0.1816)	0.1186 (0.1016-0.1518)
LCR Md (RIQ)	0.2979 (0.1636-0.6655)	0.2920 (0.1613-0.4961)	0.2952 ( 0.1653-0.5864)	0.1805 ( 0.1345-0.4022)
r	0.47	0.52	0.41	0.59

LEGNPc= Lupus Eritematoso Generalizado con manifestaciones NP centrales, LEGNPc+p =Lupus Eritematoso Generalizado con manifestaciones NP centrales y periféricas, LEGNPc+ms= Lupus Eritematoso Generalizado con manifestaciones NP centrales y meningitis infecciosa, LEG-qx = Lupus Eritematoso Generalizado sin manifestaciones NP.

**Tabla 7. Niveles de citocinas en LCR de pacientes con LEG-NP y controles.**

Citocina	Grupo	Mediana (RIQ) (pg/mL)
IL-2	LEG-NP	0 (0 - 2.2)
	LEG-quirúrgico	0 (0 - 1.7)
	LEG- meningitis	2.7 (1.8 - 71)*
	no-autoinmune	1.3 (0 - 2.3)
IL-4	LEG-NP	0 (0 - 8)
	LEG-quirúrgico	0 (0 - 2.3)
	LEG- meningitis	34 (7 - 251)*
	non-autoinmune	1.4 (0 - 3.7)
IL-6	LEG-NP	32 (3.8 - 129)
	LEG-quirúrgico	3 (1.3 - 5.7)*
	LEG meningitis	453 (61 - 8468)
	no-autoinmune	2.9 (2 - 3.9) †
IL-10	LEG-NP	1.5 (0 - 6.3)
	LEG-quirúrgico	1.4 (0 - 2.1)
	LEG- meningitis	9.2 (4.6 - 30.8) ‡
	no-autoinmune	1.5 (0 - 2.2)
IFN- $\alpha$	LEG-NP	0 (0 - 7.7)
	LEG-quirúrgico	0 (0 - 2.1)
	LEG- meningitis	12 (3 - 1044) ‡
	no-autoinmune	1.6 (0 - 2.5)
TNF- $\alpha$	LEG-NP	0 (0 - 1.3)
	LEG-quirúrgico	0 (0 - 0)
	LEG- meningitis	1.1 (0 - 56)
	no-autoinmune	0 (0 - 1.7)

‡p<0.05; \*p<0.01; †p<0.0001 vs LEG-NP

LCR, líquido cefaloraquídeo; LEG-NP, lupus neuro-psiquiátrico; LEG ,lupus eritematoso generalizado.



**Tabla 8. Niveles de quimiocinas en LCR de pacientes con LEG-NP y controles.**

Quimiocina	Grupo	Mediana (RIQ) (pg/mL)
IL-8	LEG-NP	102 (35 - 272)
	LEG-quirúrgico	29 (21 - 48)*
	SLE- meningitis	516 (155 - 955)†
	no-autoinmune	19 (13 - 24)‡
MIG	LEG-NP	35 (9 - 513)
	LEG-quirúrgico	11 (5 - 36)†
	SLE- meningitis	1073 (61 - 2223)†
	no-autoinmune	3 (2 - 6)‡
IP10	LEG-NP	888 (276 - 4407)
	LEG-quirúrgico	329 (190 - 583)
	LEG-meningitis	5107 (4520 - 6236)*
	no-autoinmune	133 (84 - 164) ‡
MCP-1	LEG-NP	401 (123 - 1263)
	LEG- quirúrgico	257 (165 - 391)
	SLE- meningitis	2803 (401 - 4713)
	no-autoinmune	136 (88 - 177)*
RANTES	LEG-NP	3.8 (2.9 - 8.2)
	LEG-quirúrgico	2.4 (2 - 3.3)§
	SLE- meningitis	9.4 (5.5 - 15.8)†
	no-autoinmune	2.1 (1.8 - 4.1)§

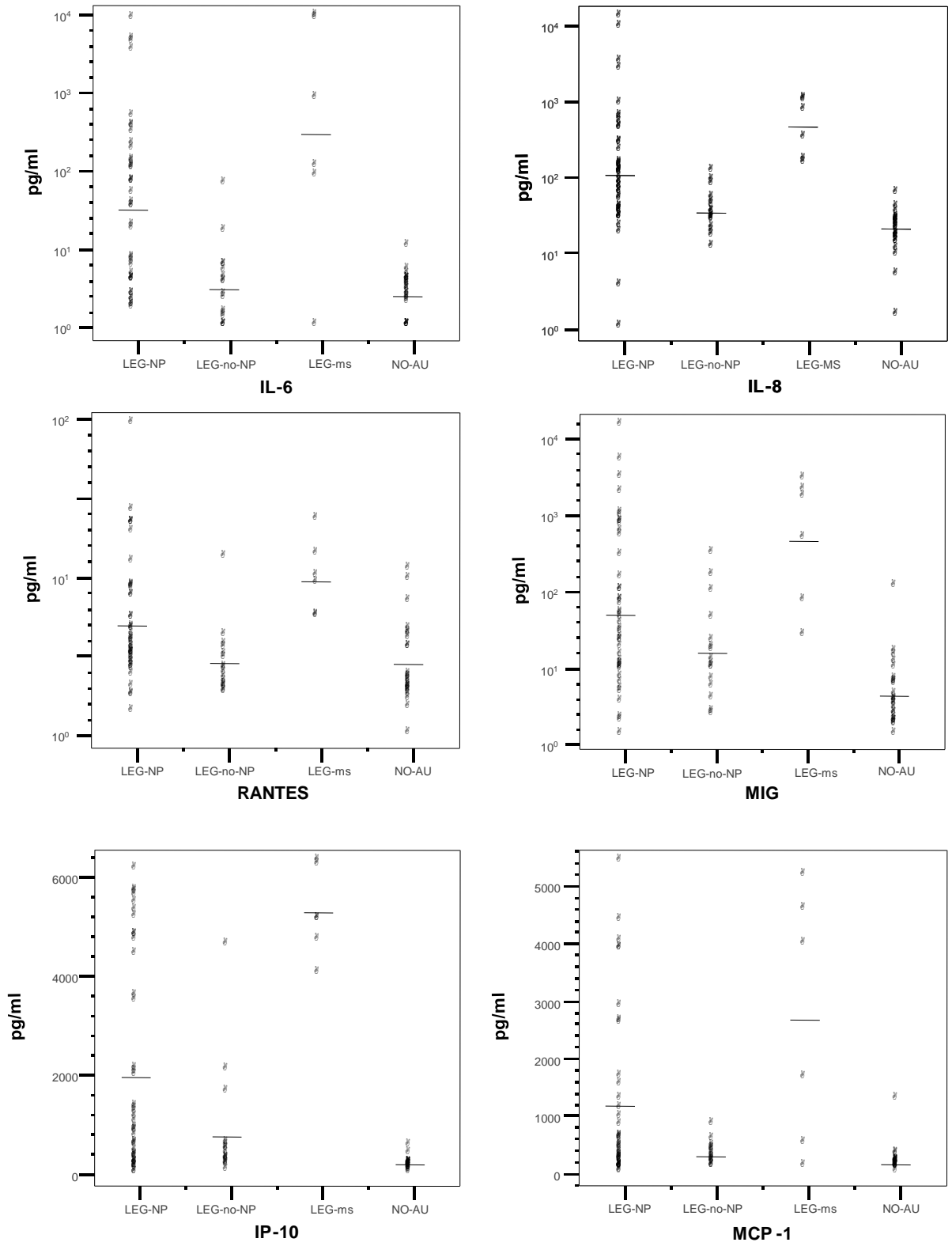
†p<0.05; \*p<0.01; §p<0.001; ‡p<0.0001 vs LEG-NP  
 LCR, líquido cefaloraquídeo; LEG-NP, lupus neuro-psiquiátrico; LEG, lupus eritematoso generalizado.

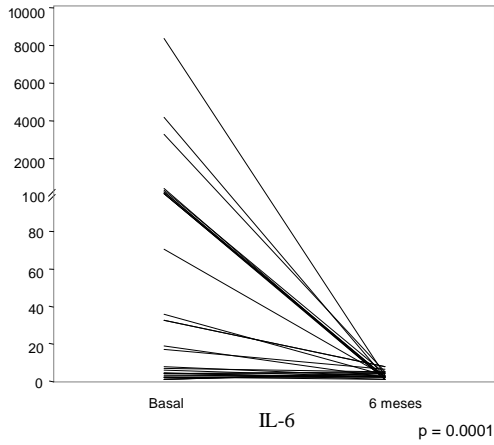
**Tabla 9. Citocinas y quimiocinas en LCR de pacientes con LEG-NP basal y 6 meses.**

	<b>LEG-NP basal n = 30 Mediana (RIQ) (pg/mL)</b>	<b>LEG-NP 6 meses n = 30 Mediana (RIQ) (pg/mL)</b>	<b>P</b>
IL-6	17 (3.8 - 121)	3.1 (2.2 - 4.4)	0.0001
IL-8	106.8 (33.7 - 272)	27 (20.5 - 38.8)	0.001
MIG	48 (9.4 - 568)	11.5 (7.1 - 27)	0.0001
IP10	888 (313 - 4673)	407 (313 - 903)	0.002
MCP-1	401 (184 - 1655)	298 (214 - 397)	0.044
RANTES	4 (3.2 - 8.2)	3.8 (3 - 7.2)	NS

LCR: líquido cefalorraquídeo; LEG-NP: lupus neuro-psiquiátrico

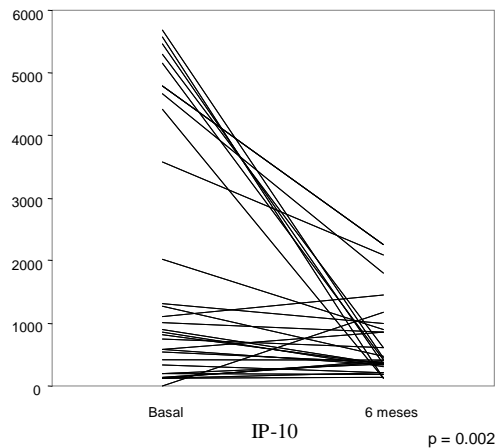
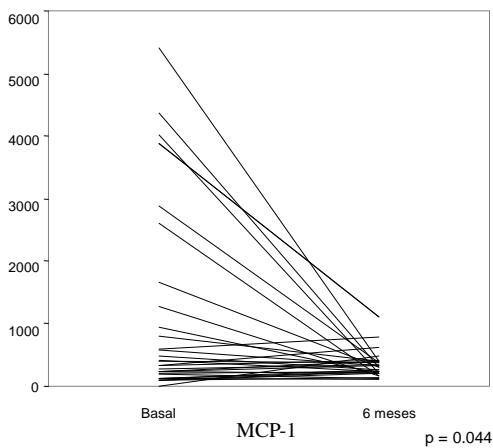
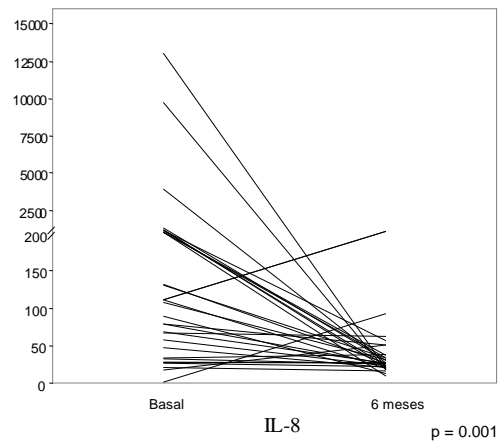
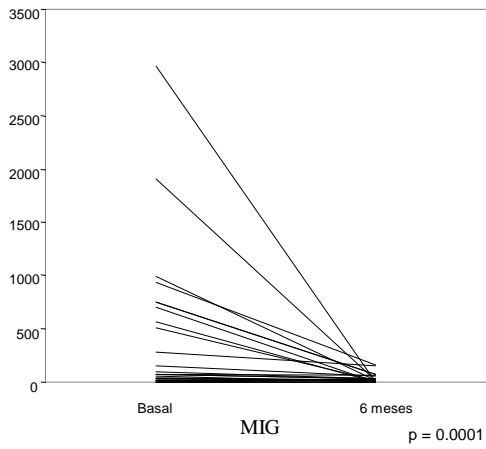
**Figura 1.** Niveles de interleucina-6 (IL-6) y quimiocinas en LCR de pacientes con lupus y manifestaciones NP (LEG-NP), sin manifestaciones NP (LEG-no-NP), con meningitis séptica (LEG-ms) y pacientes sin enfermedad autoinmune (no-AU). Cada punto representa un paciente. Las líneas horizontales muestran la media. MIG monokine induced by interferon-; IP-10 interferon-inducible 10-kd protein; MCP-1 monocyte chemotactic protein 1.





**Figura 2.** Cambio en los niveles de interleucina-6 (IL-6) y quimiocinas en LCR de pacientes con LEG-NP durante la hospitalización (basal) y 6 meses después.

Las muestras pareadas de LCR se obtuvieron de 30 pacientes con manifestación NP en la fase aguda y 6 meses después, cuando la manifestación estaba clínicamente controlada. Cada línea representa un paciente. MIG, monokine induced by interferon- $\gamma$ ; MCP-1, monocyte chemoattractant protein 1; IP-10, interferon- $\gamma$ -inducible protein 10.



## **Apéndice 2. Definiciones Operacionales:**

**Lupus eritematoso neuro-psiquiátrico:** Síndromes del sistema nervioso central, periférico, autónomo y síndromes psiquiátricos observados en pacientes con LEG en quienes otras causas se han excluido ( ).

### **Sistema Nervioso Central**

- Meningitis aséptica
- Enfermedad Cerebro Vascular
- Síndromes Desmielinizantes
- Cefalea (migraña, pseudotumor cerebri)
- Alteraciones del movimiento (corea)
- Mielopatía
- Crisis Convulsivas
- Estado confusional agudo
- Trastorno de ansiedad
- Alteraciones del comportamiento
- Psicosis

### **Sistema Nervioso Periférico**

- Poliradiculopatía inflamatoria aguda desmielinizante (Síndrome Guillain-Barré)
- Mononeuropatía única o múltiple
- Miastenia gravis
- Neuropatía Craneal
- Plexopatía

- Polineuropatía
- Alteraciones del sistema nervioso autónomo

**Manifestación neuropsiquiátrica grave:** Cambio significativo e inequívoco en la función neurológica y psiquiátrica basal, identificada por historia o examen físico que requiera hospitalización para su diagnóstico y tratamiento. (29)

**Manifestación neuropsiquiátrica difusa:** Disfunción global sin anormalidades focales (síndrome orgánico cerebral, coma, CCTCG). (29).

**Manifestación neuropsiquiátrica focal:** Signos y síntomas que pueden ser atribuidos a lesiones en áreas específicas del cerebro. (29).

**Asociaciones:**

Cuando no pueda precisarse si la manifestación NP es debida al LEG u otras causas (enfermedades concomitantes, trastornos metabólicos, etc.) se considerarán estos factores como asociados al LEG en la etiología de la manifestación NP y se reportarán. Para cada manifestación NP, existe una serie de asociaciones previamente definidas (89) las cuales se considerarán en cada caso. Así mismo, se reportará cuando en un paciente se presente más de una manifestación neuropsiquiátrica.

**Exclusiones:**

Para cada manifestación NP existe una lista de exclusiones previamente definidas (89) las cuales se considerarán en cada caso. En estas, se incluyen condiciones

comórbidas o factores concomitantes (drogas) que puedan causar síntomas semejantes y que deben ser excluidos antes de atribuirlos como secundarios a la actividad del LEG.

Las definiciones de cada una de las manifestaciones NP así como los criterios diagnósticos, asociaciones y exclusiones, se encuentran en el glosario (Case definitions for Neuropsychiatric Syndromes in Systemic Lupus Erythematosus ) (89)

**Enfermedad cerebrovascular:** Déficit neurológico debido a oclusión o insuficiencia arterial, enfermedad oclusiva venosa o hemorragia. Los eventos son primordialmente focales; sin embargo, pueden ser multifocales cuando la enfermedad es recurrente.

**Criterios diagnósticos:**

1.- Evento vascular-cerebral: déficit neurológico focal y agudo, que persista por más de 24 hrs o, menor a 24 hrs pero con evidencia de anormalidades en TAC o RMN concordantes con los signos y síntomas encontrados en el examen clínico.

2.-Ataque isquémico transitorio: Déficit neurológico focal y agudo que se resuelva clínicamente durante los primeras 24 hrs sin evidencia de anormalidades en TAC o RMN.

3.- Enfermedad multifocal crónica: Deterioro neurológico recurrente o progresivo atribuible a enfermedad cerebrovascular.

4.- Hemorragia intracraneal o subaracnoidea: Presencia de sangrado documentado por LCR, TAC o RMN.

5.- Trombosis del seno venoso: Déficit neurológico focal y agudo en presencia de hipertensión endocraneana.

**Asociaciones:**

- diabetes mellitus, dislipidemia, hipertensión, enfermedad vascular por aterosclerosis, fibrilación auricular, enfermedad valvular cardíaca, estados hipercoagulables, síndrome antifosfolípido, tabaquismo, adicción a cocaína o anfetaminas.

**Exclusiones:**

- Infección con formación de lesión ocupativa en el cerebro.
- Tumor intracraneal.
- Trauma.
- Malformación vascular.
- Hipoglucemia.

**Crisis Convulsivas:** Descarga neuronal anormal, paroxística, aislada que provoque alteración en la función cerebral.

Epilepsia: Trastorno crónico con tendencia a recurrencia. La clasificación y abordaje es el mismo, el tratamiento es diferente.

**Clasificación:**

- 1.- Crisis convulsivas primariamente generalizadas
  - a. Tónico-clónicas (gran mal). Tónicas o clónicas.
  - b. Atónicas.
  - c. Crisis de ausencia (pequeño mal): Interrupción abrupta o deterioro de la conciencia, con o sin automatismo o componentes tónicos o autonómicos.
  - d. Mioclonías.



2.- Crisis focales o parciales (Jacksonianas o del lóbulo temporal).

a. Simples: sin deterioro de la conciencia.

b. Complejas: con deterioro parcial de la conciencia.

c. Simples o complejas: Involucra la generalización de crisis parciales tónicas o clónicas.

**Criterios diagnósticos:**

a) Descripción del evento por un testigo confiable.

b) Alteraciones en EEG.

**Asociaciones:**

- Púrpura trombocitopénica trombótica
- Evento vascular cerebral
- Migraña
- Trastornos metabólicos (uremia, hipoglucemia, hipoxia)
- Neoplasias
- Infecciones

**Exclusiones:**

- Trastornos que en forma secundaria provoquen crisis convulsivas de cualquier tipo o cuadros semejante ej. síncope vasovagal, cardiaco, histeria, hiperventilación, narcolepsia o catalepsia, laberintitis, abuso de alcohol o drogas, medicamentos, hemorragia subaracnoidea, trauma, hipoglucemia, ataques de pánico, crisis conversivas.

**Mielopatía:** Trastorno de médula espinal caracterizado por rápido involucro de alteraciones motoras (paraparesias) y/o pérdida de sensibilidad con nivel medular demostrado (sensitivo o motor). Puede ser transversa, longitudinal o en puntos.)

**Criterios diagnósticos:**

- Inicio rápido ( horas o días) de uno o mas de los siguientes:
  - a) debilidad de miembros inferiores con o sin afección a superiores (paraplejía, cuadriplejia) bilateral, simétrica o asimétrica.
  - b) Deterioro sensitivo con nivel medular similar al motor con o sin disfunción de esfínteres (rectal, vesical).

**Asociaciones:**

- Síndrome desmielinizante preexistente
- Infecciones (HZ, HIV)
- Síndrome antifosfolípido.

**Exclusiones:**

- Lesiones compresivas a nivel de médula espinal.
- Cauda equina.

**Psicosis:** Trastorno severo en la percepción de la realidad caracterizado por ideas delirantes o alucinaciones.

**Criterios diagnósticos:**

- a) Presencia de ideas delirantes o alucinaciones sin enjuiciar.
- b) Limitación de actividades sociales, profesionales y otras relevantes.

c) La alteración no debe ocurrir exclusivamente durante el curso del delirium.

d) La alteración no califica para otros desórdenes mentales (manía).

**Asociaciones:**

- estrés psicológico
- Uso de esteroides

**Exclusiones:**

- Desorden psicótico primario.
- Drogas que desencadenen psicosis.

**Cefalea:** Dolor a nivel de la bóveda craneal.

Clasificación:

1. **Migraña sin aura:** idiopática, recurrente, caracterizada por ataques que duran de 4-72 hrs; de localización unilateral, pulsátil de intensidad moderada a severa; empeora con actividad física, acompañada de náusea, vómito, foto y fotofobia. Se requieren por lo menos 5 ataques de las características especificadas.

Migraña con aura: idiopática, recurrente, caracterizada por ataques de síntomas neurológicos localizados a nivel de la corteza cerebral que se desarrollan gradualmente entre 5 y 20 minutos y dura menos de 60 min.

2. **Cefalea Tensional:** Episodios recurrentes de cefalea que puede durar de minutos a días; el dolor es opresivo, bilateral, no empeora con actividad física. Se requieren por lo menos 10 episodios.

3. **Cefalea en racimos:** Ataques en región orbital, supraorbital o temporal de intensidad severa, estrictamente unilateral, duran de 15 a 180 minutos, se presentan una vez cada día hasta 8 veces por día, ocurren en series de semanas o meses separados por remisiones que duran meses o años y se acompañan de: inyección conjuntival, constipación nasal, rinorrea, lagrimeo, miositis, ptosis o edema palpebral.

4. **Pseudotumor cerebri:** Cefalea por hipertensión intracraneal.

Criterios diagnósticos:

-aumento en la presión intracraneal (200mm H<sub>2</sub>O) medido por punción lumbar.

-exploración neurológica normal con excepción de papiledema

-en estudio de imagen, sin evidencia de masas o crecimiento ventricular.

-en estudio de LCR, cuenta leucocitaria normal, niveles de proteínas normal o bajo.

-excluir trombosis del seno venoso.

5. **Cefalea Intratable:** El dolor no cede a analgesia convencional, inespecífica.

**Exclusiones:** meningitis aséptica, cefalea secundaria a drogas, meningitis infecciosa, tumores y otras lesiones estructurales, trauma, origen metabólico, abstinencia, eventos vasculares.

**Asociaciones:** neuropatía craneal, cefalea asociada a anormalidades en ojos, oídos, articulación temporo-mandibular, dentales o cervicales.

**Estado confusional agudo:** Alteración del estado de conciencia caracterizado por incapacidad para la concentración, atención y que se acompaña de trastornos

en la cognición, comportamiento y afecto. Las alteraciones se desarrollan típicamente durante horas o días y tienden a fluctuar a lo largo del día. Incluyen el espectro del delirio hasta el coma.

**Criterios diagnósticos.** Alteración del estado de conciencia con incapacidad para la concentración y atención y alguno de los siguientes que se desarrollen en un breve periodo de tiempo (horas a días).

- a) Cambio agudo o sub-agudo en la cognición que incluye déficit de memoria y desorientación
- b) Cambio en el comportamiento o el afecto (irritabilidad, hiperreactividad, apatía, ansiedad, alteración en el ciclo sueño-vigilia, labilidad emocional)

#### **Exclusiones**

- Desorden mental o neurológico primario no relacionado con el lupus.
- Alteraciones metabólicas (fluidos, osmolaridad, electrolitos, glucosa, etc)
- Delirium inducido por fármacos, sustancias o abstinencia
- Infecciones a nivel de sistema nervioso central

#### **Asociaciones:**

- Estrés psico-social
- Uso de esteroides
- Púrpura trombocitopénica trombótica/ síndrome urémico hemolítico

**Mononeuritis única/múltiple:** Alteración en la función de uno o más nervios periféricos que resulta en debilidad, parálisis o disfunción sensorial debida a

bloqueo en la conducción de fibras nerviosas motoras o pérdida axonal. El bloqueo de la conducción está relacionado con procesos de desmielinización con preservación de la continuidad axonal.

### **Criterios Diagnósticos:**

- a) Demostración clínica de alteración motora o sensorial en la distribución de un nervio periférico y/o,
- b) Anormalidades en los estudios de conducción nerviosa o en electromiografía.

### **Asociaciones**

- Neuropatía diabética
- Lesión mecánica local: radiación, neoplasia
- Infección: Lyme, HIV, herpes
- Vasculitis: poliarteritis nodosa, artritis reumatoide, granulomatosis de Wegener, crioglobulinemia, síndrome de Sjögren, etc.

**Polineuropatía:** Alteración sensorial o motora de nervios periféricos, aguda o crónica, variable en tiempo, caracterizada por sintomatología simétrica y de distribución distal.

### **Criterios Diagnósticos** (uno de los siguientes):

- a) Manifestaciones clínicas: déficit simétrico distal sensorial o motor, y/o
- b) Confirmación por electromiografía: denervación del músculo o neuropatía desmielinizante o axonal demostrada por estudio de conducción nerviosa.

## **Asociaciones**

- Exposición a metales pesados o solventes (arsénico, mercurio, etc)
- Toxicidad farmacológica (isoniacida, fenitoína, vincristina, colchicina)
- VIH, difteria, lepra, enfermedad de Lyme
- Diabetes, uremia, alcoholismo, amiloide, porfiria, etc.
- Crioglobulinemia, síndrome de Sjögren
- Formas hereditarias (enfermedad de Fabry, polineuropatía por amiloide familiar)

## **Exclusiones**

- Deficiencias de vitaminas (tiamina, B12, niacina)
- Hipitiroidismo