



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

Título del trabajo

Asociación entre bacteriemias y exacerbación grave de lupus eritematoso generalizado

Graduación oportuna mediante tesis para obtener el grado de especialista en Reumatología

PRESENTA:

José Jiram Torres Ruiz

Dr. Jorge Carlos Alcocer Varela

Jefe del departamento de Reumatología e Inmunología

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Dra. En C. Diana Gómez Martín

Investigador en ciencias médicas D del departamento de Reumatología e Inmunología

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Dra. Ana Barrera Vargas

Médico adscrito del departamento de Reumatología e Inmunología

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

MÉXICO D.F.

2015



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.

ÍNDICE

Marco teórico.....	3
Planteamiento del problema y justificación.....	9
Objetivos.....	10
Pacientes y métodos.....	11
Resultados.....	13
Discusión.....	19
Conclusiones.....	25
Bibliografía.....	26

Bacteriemias y su asociación con exacerbaciones graves de LEG.

Marco teórico.

Agentes infecciosos como factor ambiental desencadenante de LEG.

El lupus eritematoso generalizado (LEG) es el prototipo de las enfermedades autoinmunes sistémicas cuya etiología multifactorial aún se encuentra en estudio. Existen diversas teorías sobre los potenciales factores participantes en esta enfermedad, algunas de los cuales involucran agentes infecciosos como desencadenantes. Los microorganismos más profundamente estudiados son los virus como el de Epstein Barr en linfocitos B, cuya capacidad para producir infecciones crónicas cíclicas conlleva la activación no específica de células B, algunas de ellas auto-reactivas de baja afinidad. Éstas pueden diferenciarse a células B de memoria y favorecer la producción de auto-anticuerpos [1]

También existe una importante relación del LEG con otros agentes infecciosos. Se ha determinado el mimetismo molecular entre antígenos involucrados en la fisiopatología del LEG y proteínas virales, como lo son el antígeno nuclear EBNA-1 y Ro60 [1-3], Coxackie 2B y Ro60 [4] la proteína B del virus de la influenza y la proteína retroviral p30gag con U1-70kD [5]. En pacientes con LEG y actividad en el sistema nervioso central, se han observado anticuerpos anti rubeola. Así mismo, se ha documentado la presencia de IgM o DNA viral de CMV en pacientes con diagnóstico o exacerbación de LEG con actividad renal y fenómeno de Raynaud [2, 6]. El parvovirus B19 se ha asociado a una respuesta humoral específica mediada principalmente por la inducción de anticuerpos anti DNAdc y anti cardiolipina [7]. Estos estudios involucran al mimetismo molecular entre proteínas virales y antígenos de LEG como mecanismo fisiopatogénico en los pacientes con la enfermedad.

Es importante conocer los factores que relacionan la inmunidad innata con la adaptativa en la explicación del desarrollo de una respuesta autoinmune patogénica. El sistema inmune innato reconoce los factores de virulencia de diversas bacterias mediante receptores de reconocimiento de patrón, que detectan secuencias en la superficie de patógenos para iniciar una respuesta inmune. De éstos, las endotoxinas (glucolípidos y lipopolisacáridos) forman aproximadamente el 75% de las membranas de las bacterias Gram negativas [8].

En cuanto a los receptores de reconocimiento de patrón se destacan, los TLR (13 en total) que se encuentran en la membrana plasmática y en los endosomas. Durante su activación participan moléculas adaptadoras como MyD88 y/o TRIF [9]. La señalización mediada por estos receptores se ha relacionado con la interacción entre componentes bacterianos y la respuesta inmune adaptativa. Específicamente, se ha observado el aumento de la expresión de moléculas coestimuladoras como CD80 y MHC II por *S. aureus* a través de la activación de TLR2, mientras que ante la exposición de lipoproteínas de *S. aureus* en células dendríticas hay un aumento de CD40, CD80 y CD86 que pueden activar linfocitos T “espectadores” auto reactivos en áreas de inflamación [10].

Los ácidos nucleicos bacterianos constituyen otro patrón molecular asociado a patógenos. Los oligonucleótidos que contienen motivos CpG fosforotioato que forman nanopartículas por sus motivos poliG en ambos extremos y una secuencia palindrómica en el centro estimulan a las células dendríticas plasmacitoides para secretar interferón alfa (IFN- α). En estudios *in vitro* se ha observado que el DNA proveniente de *E. coli* es más potente que el DNA nativo para inducir la secreción de IFN alfa en células dendríticas plasmacitoides en cultivos [11].

Por otra parte, el DNA bacteriano es capaz de inducir la producción de auto anticuerpos en modelos animales. Los estudios de Ding y colaboradores demostraron en ratones transgénicos para la cadena pesada de Ig anti sn-RNP que la estimulación con CpG puede provocar la producción de auto anticuerpos anti sn-RNP mediada probablemente por TLR9. Así mismo, se observó un aumento en la expresión de las moléculas de activación de células B como CD80, CD86 y CD69. El efecto sobre la producción de auto-anticuerpos fue independiente de la presencia de linfocitos T CD4+, ya que no se documentó diferencia en la secreción de auto-anticuerpos en ratones depletados de CD4. Esto podría implicar que la presencia de DNA bacteriano puede estimular a linfocitos B auto-reactivos a proliferar y secretar auto anticuerpos, sin el requerimiento de cooperación por parte de los linfocitos T [12].

La activación de los TLR da lugar a la fosforilación de varios factores de transcripción, de los cuales los factores reguladores de IFN 3, 5 y 7 son los más importantes [13]. El lipopolisacárido (LPS) es capaz de activar TLR4 y éste señala a través de MyD88 que induce la activación de NF κ B y cinasas activadas por mitógeno con la consecuente liberación de citocinas proinflamatorias, mientras que la vía independiente de MyD88, TRIF (pathway-Toll interleukin-1 receptor domain-containing, adaptor-inducing IFN beta) activa los genes inducibles por interferón I [8].

Una de las características del LEG es la “firma de interferón”, que implica un incremento en la expresión de genes regulados por interferón tipo I (IFN- α e IFN- β) [13]. Esta citocina es producida principalmente por células dendríticas plasmacitoides, que constituyen menos del 1% de las células mononucleares circulantes. Secretan una gran cantidad de IFN- α en respuesta a diversos microorganismos [14, 15]. Estas células se encuentran involucradas en la fisiopatología del LEG y cuando migran hacia las áreas ricas en células T de los ganglios linfáticos determinan la polarización de las células T (Th1, Th2 o Th17). En estudios de Boele y colaboradores se determinó que cuando las células dendríticas son expuestas de manera directa a bacterias inactivadas a concentraciones de 10^7 bacterias/mL, los Gram negativos son más eficientes para inducir la producción de CD83 ($p=0.0067$), HLA-DR ($p=0.0039$), CD80 ($p=0.0045$), CD86 ($p=0.0019$) [16].

Los interferones tipo I promueven la maduración de células dendríticas con incremento en la expresión de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad tipo I y II, citocinas y sus receptores, así como CD80, CD86, BAAF y APRIL [15, 17]. Estas y otras moléculas inducen la supervivencia de las células B auto-reactivas y favorecen la producción de auto-anticuerpos.

Los principales microorganismos intracelulares que afectan a pacientes con LEG son *Listeria* y *Salmonella*. TLR2 y 9 participan en el reconocimiento por el sistema inmune innato de *Listeria* y la activación de este último induce la producción de IFN- α/β [18]. Específicamente, se ha reportado que la infección por *Listeria* viva aumenta la producción de IFN tipo I por células dendríticas de médula ósea; lo cual disminuye el umbral para la activación de linfocitos T a través del TCR. Estudios in vitro han demostrado la producción de grandes cantidades de IFN tipo I (aproximadamente $3000 \text{ U}/10^6$ células) por las células dendríticas de médula ósea en respuesta a este microorganismo. Las concentraciones altas de IFN tipo I (aproximadamente $250 \text{ U}/\text{mL}$ de IFN- β y aproximadamente $5000 \text{ U}/\text{mL}$ de IFN- α) son capaces de activar CD69 en 50% de células T, lo que constituye un potencial estímulo para linfocitos T vírgenes auto reactivos que en otras circunstancias no se activarían [19].

Finalmente, las características del hospedero determinan el efecto inmunogénico de las bacterias. Las modificaciones postraduccionales de autoantígenos nucleares por ubiquitinación, citrulinación, fosforilación y metilación promueven la presentación de auto antígenos crípticos. En los estudios de Adhami y colaboradores se propone que las poliaminas provenientes de virus y bacterias en acetiladores

lentos se difunden hacia el núcleo lo que provoca grandes cantidades de DNA con conformación en Z que es liberado por apoptosis y se procesa por células presentadoras de antígenos para que los linfocitos B produzcan auto-anticuerpos [20]. Párrafo muy complicado.

Importancia de las infecciones bacterianas en pacientes con LEG.

Las infecciones constituyen el 11-23% de las hospitalizaciones en pacientes con LEG y de éstas, las bacterianas representan aproximadamente el 80%. Los sitios más comunes son la piel, los tractos respiratorio y urinario que cuentan para más de 2/3 de las infecciones [21]

Cervera et al analizaron las causas de mortalidad en una cohorte prospectiva de 1000 pacientes con LEG en distintos países europeos. El estudio duró cinco años. El 27% (247/1000) de los pacientes presentaron infecciones. El 4.5% (45) de los pacientes murieron, siendo las causas más frecuentes la actividad del LEG (28.9%), las infecciones (28.9%) y la trombosis (26.7%). Al ampliar el seguimiento a diez años, se encontró que las infecciones estuvieron presentes en 36% de los pacientes. Durante este período 68 pacientes (6.8%) murieron y las causas de muerte se vieron nuevamente distribuidas de manera similar: 26.5% por actividad del LEG, 26.5% por trombosis y 25% por infecciones. Al comparar las causas de muerte durante los primeros cinco años de seguimiento (1990-1995) con los siguientes cinco años (1995-2000) se encontró que la actividad de la enfermedad y las infecciones fueron las causas más comunes en el primer periodo y las trombosis en el segundo. [22, 23]

En la cohorte de Lupus de Toronto, se determinó que los factores predisponentes a infecciones que permanecieron significativos en el análisis multivariado fueron el uso de glucocorticoides (RM 3, IC 95% 1.15-9.31) y la administración de inmunosupresores (RM 2.33, IC 95% 1.09-5.42). De igual forma, en el estudio realizado por Bosch y colaboradores en 110 pacientes con lupus y 220 controles se observó que los enfermos presentaban mayor incidencia de infección cuando tenían niveles de CH50 menores de 300 UU/mL y tomaban al menos 20 mg/d de prednisona [24].

Los índices elevados de actividad son considerados un factor de riesgo para hospitalización por infección, como lo describieron Petri et al. Este grupo encontró que los pacientes que tenían proteinuria (RM 2.3, IC 95% 0.87-6.28), actividad neurológica (RM 3.64, IC 95% 1.33-9.02) y un puntaje alto de SLEDAI (índice de actividad de la enfermedad en LEG) durante el año anterior, ajustado por dosis de esteroide (RM 1.12, IC 95% 1.001-1.25) tuvieron mayor riesgo de ser hospitalizados por una

complicación infecciosa [25]. Duffy et al estudiaron a pacientes con LEG hospitalizados y encontraron que un SLEDAI mayor a 8 tenía una RM de 2.7 ($p < 0.005$) para presentar infecciones [26].

Por otro lado, los antimaláricos han demostrado ser protectores; por ejemplo en el estudio de cohorte de Lupus Cruces se observó que los pacientes que tomaban antimaláricos tenían 16 veces menor posibilidad de desarrollar infecciones. Sisó y colaboradores reportaron en forma retrospectiva en una cohorte de 206 pacientes con nefritis lúpica, que los sujetos que tomaban antimaláricos tenían menor porcentaje de infecciones (11% vs 29% $p < 0.02$) [27].

Con respecto a los factores del hospedero, se han detectado anticuerpos anti granulocitos que pueden causar neutropenia por citotoxicidad directa y opsonización así como disminución de la síntesis de IL-12 por polimorfonucleares, lo que puede predisponer a neumonía bacteriana, candidosis e IVU [28]. Por otra parte, la bacteriemia por *Salmonella* no typhi en pacientes con LEG muestra características distintivas. Se ha relacionado con la presencia de disfunción esplénica, puede ocurrir sin datos de respuesta inflamatoria sistémica y a veces no se encuentra sitio asociado de infección [29]

Bacteriemias en pacientes con LEG

Las bacteriemias son frecuentes en pacientes con LEG y su mortalidad es mayor que en sujetos sin la enfermedad (Cual? El lupus o la bacteriemia). La prevalencia de bacteriemia en pacientes con LEG se ha estimado entre 16-47% en diferentes estudios [30].

En la cohorte de Lupus de Toronto se determinó que la presencia de bacteriemias aumentaba la estancia hospitalaria a 28.5 días vs 11.2 días y los pacientes tenían mayor índice de actividad (SLEDAI 11.6 vs 7.1) al momento de la infección. Chen y colaboradores analizaron la naturaleza de las bacteriemias en pacientes con LEG. Estudiaron los expedientes de 1442 pacientes en un centro de tercer nivel a lo largo de 6 años; de ellos, 240 sujetos (17%) desarrollaron al menos un episodio de bacteriemia que correspondió a 92.7 casos por 1000 internamientos hospitalarios. Desde el diagnóstico de LEG la sobrevida fue de 92% a 5 años, 86% a 10 años y 79% a 15 años, mientras que ante la presencia de bacteriemia la sobrevida disminuyó a 76% a 30 días y 67% a 360 días. De los 336 episodios de bacteriemia, 167 fueron adquiridas en la comunidad (49.7%) y 169 nosocomiales (50.3%). *S. aureus* fue la causa más frecuente de bacteriemia por Gram positivos, mientras que para bacilos Gram negativos fue *Salmonella* no typhi y *E. coli*. Los pacientes infectados con *Acinetobacter*, *Klebsiella* y *Pseudomonas*

tuvieron menor probabilidad de sobrevivir a 14 días (71.4%, 55.6% y 42.9% respectivamente). Los enfermos con bacteriemias recibían más esteroides vía oral, sin diferencias en el uso de metilprednisolona, azatioprina (AZA) y ciclofosfamida (CFM) [30].

En el estudio retrospectivo de casos y controles realizado por Barrera y colaboradores en México se compararon 44 sujetos con LEG y bacteriemias por microorganismos resistentes a antibióticos con un grupo control de 44 sujetos con LEG y bacteriemias por microorganismos susceptibles. En el grupo de casos, 40.9% de las infecciones fueron causadas por *P. aeruginosa*, 34.1% por *S. aureus* y 25% por *E. coli*; mientras que en el grupo control 59% fueron por *E. coli* y 41% por *S. aureus*. Los factores de riesgo para bacteriemias por microorganismos resistentes a antibióticos en pacientes con LEG fueron: hipocomplementemia de C3, hospitalización previa y dosis de prednisona al momento de la infección [31]

A pesar de la gravedad de las bacteriemias, su asociación con exacerbación grave de LEG no ha sido completamente estudiada. El análisis de esta relación, es importante para un mejor entendimiento de la fisiopatología del LEG, debido a la asociación entre la estimulación de componentes de la inmunidad innata y el desarrollo de autoinmunidad.

Planteamiento del problema y justificación:

Debido a que las bacteriemias representan una causa importante de morbi-mortalidad en pacientes con LEG y la relación que existe entre infecciones bacterianas y autoinmunidad, es fundamental el estudio de la relación entre éstas y la exacerbación grave de LEG, ya que dichas manifestaciones ponen en riesgo la vida.

En estudios de cohorte la presencia de bacteriemia se relacionó con aumento en la frecuencia de hospitalización de pacientes con LEG, así como mayor duración de la estancia hospitalaria y disminución en la sobrevida .[30]

El tratamiento inmunosupresor y la actividad de la enfermedad predisponen al desarrollo de infecciones y los pacientes que desarrollan datos de actividad en el contexto de infecciones graves como bacteriemias representan una disyuntiva para el reumatólogo por la similitud de las manifestaciones clínicas y de laboratorio con la sepsis.

A pesar de los múltiples mecanismos teóricos a través de los cuales las bacterias pueden desencadenar actividad de LEG, hasta el momento no se han realizado estudios para determinar la relación entre la presencia de bacteriemias y el desarrollo de exacerbaciones graves de la enfermedad en humanos. Esto es fundamental para plantear nuevas perspectivas acerca del papel de las bacterias como desencadenantes de la respuesta autoinmune patogénica en LEG.

También se desconoce si existe un microorganismo que con mayor frecuencia la desencadene y si esto tiene un periodo de latencia que requiera seguimiento más estrecho al momento de la recuperación de la infección, ya que la exacerbación grave de LEG también pone en peligro la vida y función y por lo tanto, amerita tratamiento urgente.

Objetivos.

Primario:

Determinar la relación entre bacteriemias y exacerbaciones graves de LEG de acuerdo con la escala SELENA/SLEDAI [\[32\]](#).

Secundarios:

Describir las características clínicas de bacteriemias en pacientes con LEG, así como los sitios primarios de infección y los principales microorganismos involucrados.

Determinar las características y microorganismos que predisponen al desarrollo de exacerbación grave de LEG con mayor frecuencia.

Pacientes y métodos:

Se llevó a cabo un estudio de cohorte retrospectiva con los siguientes criterios de inclusión: Pacientes mayores de 18 años con diagnóstico de LEG de acuerdo a los criterios de ACR de 1997 que tuvieran registro y expediente completo en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán y que presentaran bacteriemia por *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, *K. Pneumoniae*, *Salmonella*, *Listeria*, *A. baumannii*, *Streptococcus* del grupo A y *Pseudomonas*. Se eligieron estos microorganismos por ser la causa más frecuente de bacteriemia en pacientes con LEG y la bacteriemia como modelo de infección bacteriana por ser una infección grave que forzosamente tiene aislamiento microbiológico que no se considera contaminante. Se excluyeron pacientes postrasplante de órgano sólido o médula ósea, con neoplasias malignas, embarazo, infecciones virales crónicas, síndromes de sobreposición e inmunodeficiencias primarias y se eliminaron los sujetos con seguimiento menor de 3 meses o que no tuvieran expediente completo en el Instituto.

Se incluyeron 107 pacientes con LEG y bacteriemia y se compararon con 107 sujetos con LEG sin bacteriemia, la mitad de ellos en consulta externa y el resto hospitalizados por causas diferentes de bacteriemia (infecciones con hemocultivo negativo, cirugía, evento vascular cerebral, tromboembolia pulmonar, insuficiencia cardiaca congestiva, pancreatitis).

Se midieron variables demográficas, de actividad y tratamiento de LEG (sexo, edad, tiempo de evolución de LEG, anticoagulante lúpico, anticardiolipina, IgG e IgM, anti β 2GPI IgG e IgM a cualquier título a lo largo del seguimiento, SLEDAI, leucocitos, linfocitos totales, neutrófilos totales, biometría hemática, química sanguínea, C3, C4, anti DNAdc), así como relacionadas con el proceso infeccioso (tipo de microorganismo aislado, sitio primario de infección, antibióticos administrados, estrategia de escalamiento/desescalamiento antibiótico, tiempo desde el inicio de infección y administración de antibiótico, tiempo para el ajuste del antibiótico de acuerdo al aislamiento, tiempo de estancia hospitalaria, PCR y VSG) y los ajustes del tratamiento (uso de antimaláricos al diagnóstico de bacteriemia, uso de esteroides en los 21 días previos al diagnóstico de bacteriemia uso de bolos de metilprednisolona, dosis actual y acumulada de inmunosupresores al diagnóstico de bacteriemia y necesidad de nuevo tratamiento inmunosupresor).

Se llevaron a cabo dos mediciones de las variables de actividad y tratamiento:

1. Al momento del diagnóstico de la bacteriemia (momento cero en el grupo de bacteriemia) o durante la hospitalización o en la consulta previa a la última registrada en el expediente (momento cero para los pacientes sin bacteriemia)
2. En la siguiente evaluación médica (ya sea que los pacientes hayan presentado exacerbación grave o no).

Todos los pacientes tuvieron seguimiento mínimo de tres meses y el desenlace primario fue el desarrollo de exacerbación grave de acuerdo a los criterios SELENA/SLEDAI definida como uno o más de los siguientes: SLEDAI >12 puntos, aparición o empeoramiento de actividad en SNC, nefritis, miositis, plaquetas <60000, AHA con disminución de Hb <7 gr/L o disminución de Hb >3 gr/L en dos semanas, requerimiento del doble de prednisona del tratamiento previo, prednisona >0.5 mg/d, hospitalización, nueva ciclofosfamida, metotrexate o azatioprina [32]

Análisis Estadístico.

La descripción de las variables se realizó con media, mediana, desviación estándar o rangos intercuartilares y proporciones, según fuera conveniente La comparación de medias se realizó con t de student y de medianas con U de Mann-Witney. Las variables categóricas fueron analizadas mediante prueba de Chi cuadrada. Se empleó el modelo de riesgos proporcionales de Cox para estimar el riesgo relativo para exacerbación grave, con IC al 95%. El análisis estadístico se llevó a cabo con el programa SPSS v 21.

Resultados.

La mayoría de los pacientes fueron mujeres (98 pacientes (91.5%) en el grupo con bacteriemia y 95 (88.8%) en el grupo sin bacteriemia). En la tabla 1 se muestran los principales microorganismos aislados y sitios de infección asociados

Tabla 1. Principales aislamientos microbiológicos y sitios asociados de infección		
	Bacteriemia N 107	No bacteriemia N 107
<i>E. coli</i>	29 (27.1)	
<i>Salmonella</i> sp	17 (15.9)	
<i>S. aureus</i> meticilino sensible	17 (15.9)	
<i>S. pneumoniae</i>	11 (10.3)	
<i>S. aureus</i> meticilino resistente	9 (8.4)	
<i>E. coli</i> BLEE	6 (5.6)	
<i>K. pneumoniae</i>	3 (2.8)	
<i>L. monocytogenes</i>	3 (2.8)	
<i>P. aeruginosa</i>	3 (2.8)	
<i>S. pyogenes</i>	3 (2.8)	
<i>K. pneumoniae</i> BLEE	2 (1.9)	
<i>P. aeruginosa</i> XDR	2 (1.9)	
<i>E. coli</i> / <i>Salmonella</i> sp	1 (0.9)	
<i>S. aureus</i> / <i>Salmonella</i> sp	1 (0.9)	
Sitio asociado de infección	N 107 (%)	N 13 (%)
IVU	29 (26.4%)	4 (30.8%)
Pulmón	18 (16.4%)	5 (38.5%)
Intra abdominal	16 (14.5%)	2 (15.4%)
Articulaciones	3 (2.7%)	1 (7.7%)
Osteomielitis	1 (0.9%)	1 (7.7%)
Dispositivos IV	16 (14.5%)	

Piel y tejidos blandos	6 (5.5%)
Endocarditis	4 (3.6%)
SN	3 (2.7%)
IVAS	2 (1.8%)
Ninguno	9 (8.2%)

Entre los pacientes sin bacteriemia, 54 (50.5%) fueron pacientes ambulatorios, 28 (26.2%) se hospitalizaron por cirugías, 13 (12.1%) por infecciones con hemocultivo negativo y 12 (11.2%) se hospitalizaron por otra causa.

La tabla 2 indica las variables al momento cero de los pacientes con bacteriemia y sin bacteriemia. En consistencia con otros estudios, los pacientes con bacteriemia tuvieron mayor dosis actual y acumulada de prednisona y azatioprina así como mayor SLEDAI, VSG, neutrofilia, linfopenia, trombocitopenia y menores niveles de C3 y C4.

Tabla 2. Variables al momento cero*			
Variable	Bacteriemia N 107	Sin bacteriemia N 107	P
Dosis acumulada de PDN en el año previo (gr)	5.7 (7.4)	1.83 (2.9)	<0.0001
Dosis acumulada de CFM en el año previo (gr)	0.32 (1.22)	0.36 (2.5)	0.89
Dosis de prednisona	18 (17.6)	3.76 (5)	<0.0001
Dosis de AZA durante los tres meses previos	45.56 (54.6)	22.2 (39.5)	<0.0001
Dosis de MMF (gr)	0.26 (1.51)	0.15 (0.45)	0.48
Leucocitos totales (x 10⁹/L)	8.69 (5.78)	7.21 (4.03)	0.031
Linfocitos totales (x 10⁶/L)	647 (635)	1365 (806)	<0.0001
Neutrófilos totales(x 10⁶/L)	7561 (5669)	5476 (4761)	0.04
Plaquetas (x 10⁹/L)	197 (116)	246 (85)	0.001
Proteína C Reactiva (PCR)	7.89 (9.01)	3.81 (5.2)	0.11
Velocidad de Sedimentación Globular	44 (33)	25 (29)	<0.0001
C3	68.41 (29.85)	93 (31.57)	<0.0001
C4	13.41 (9.22)	21 (12.17)	<0.0001

Anti DNAdc	199.89 (523.93)	86.31 (214.29)	0.076
SLEDAI	4.17 (3.58)	2.4 (3.1)	<0.001

*Medias (DE)

Los pacientes con bacteriemia tuvieron más frecuentemente antecedente de actividad renal (69.1% vs 47.6%, $p=0.001$), así como mayor frecuencia de positividad para anti $\beta 2GP1$ IgM (30.8% vs 21.49%, $p=0.002$), mayor frecuencia de anticoagulante lúpico positivo (18.6% vs 13%, $p=0.001$) y menor frecuencia de anti $\beta 2GP1$ IgG (26.1% vs 28.9%, $p=0.02$). Los pacientes con bacteriemia tuvieron una hospitalización previa en los últimos tres meses con mayor frecuencia (27.1% vs 0%, $p<0.0001$).

Treinta pacientes (14%) tuvieron exacerbación grave, 25 (83.3%) tenían historia de bacteriemia en los tres meses previos vs 5 (16.6%) sin bacteriemia ($p<0.001$). En la tabla 3 se muestran los datos demográficos, de actividad y tratamiento de acuerdo al desenlace primario (exacerbación grave de la enfermedad). Los pacientes con exacerbación grave fueron significativamente más jóvenes, tuvieron mayor SLEDAI basal y mayor consumo de azatioprina.

Tabla 3. Datos demográficos, de actividad y tratamiento*			
	Exacerbación grave N 30	Sin exacerbación grave N 184	P
Edad años	33.87 (13.73)	40.99 (14.4)	0.02
Tiempo de evolución de LEG (meses)	118.5 (108.8)	158.8 (116.1)	0.07
SLEDAI al momento basal	4.73 (3.7)	3 (3.36)	0.013
Dosis acumulada de PDN en el año previo (gr)	5 (7.6)	3.5 (5.6)	0.2
Dosis acumulada de CFM en el año previo (gr)	0.2 (1)	0.3 (2)	0.5
Dosis de PDN a la basal (mg)	14.4 (13.3)	10.3 (14.9)	0.15
Dosis de AZA en los últimos tres meses (mg)	61.6 (49.4)	29.35 (47.4)	0.001
Dosis de MMF a la medición basal (gr)	0.1 (0.3)	0.23 (1.19)	0.55

*Medias y DE

En la tabla 4 se expresan los parámetros de laboratorio en el momento cero en base al desenlace. Los pacientes con exacerbación grave tuvieron mayor linfopenia.

Tabla 4. Datos de laboratorio al momento 0 *			
Variable	Con exacerbación N 30	Sin exacerbación N 184	P
Creatinina	2 (3.58)	2.49 (3.88)	0.52
BUN	28.15 (23.11)	28.41 (24.7)	0.95
Hemoglobina (g/L)	10.7 (2.56)	11.4 (2.87)	0.23
Leucocitos (x 10⁹/L)	6.89 (3.66)	8.12 (5.2)	0.21
Linfocitos (x 10⁶/L)	655 (542)	1063 (831)	0.001
Neutrófilos (x 10⁶/L)	5789 (3278)	6637 (5587)	0.42
Plaquetas (x 10⁹/L)	196 (112)	225 (103)	0.15
PCR	9.36 (7.09)	5.2 (7.8)	0.18
VSG	39 (35)	35 (32)	0.58

*Medias y DE

En la tabla 5 se muestran los principales tipos de exacerbación de la enfermedad.

Tabla 5. Principales tipos de exacerbación grave de LEG		
	Bacteriemia N 107	No bacteriemia N 107
Exacerbación grave	N 25 (22.7%)	N 5 (4.7%)
SLEDAI >12	11(44%)	0 (0%)
Nuevo o empeoramiento de actividad renal	9 (36%)	4 (80%)
Plaquetas <60 mil	9 (36%)	1 (20%)
Anemia hemolítica autoinmune	2 (8%)	0 (0%)
Nuevo o empeoramiento de actividad en sistema nervioso	1 (4%)	0 (0%)
Prednisona al doble o más 0.5 mg/kg	25 (100%)	4 (80%)
Hospitalización	6 (24%)	1 (20%)

Nuevo tratamiento	19 (76%)	5 (100%)
-------------------	----------	----------

En la tabla 6 se muestran las variables medidas al desenlace. Como era de esperarse, los pacientes que presentaron exacerbación grave tuvieron estancia hospitalaria más prolongada, mayor SLEDAI, niveles mayores de anti DNAdc y menores niveles de C3 y C4. De manera interesante, los pacientes con exacerbación grave presentaron cifras más elevadas de marcadores inflamatorios (VSG y PCR) al diagnóstico de la misma.

Tabla 6. Desenlaces clínicos y de laboratorio*			
Variable	Con exacerbación N 30	Sin exacerbación N 184	P
Días entre el ingreso y uso de antibióticos específicos para aislamiento	1.19 (3.02)	1.28 (3.63)	0.91
Días de estancia hospitalaria	29.56 (27.52)	15.61 (19.44)	0.002
Días de estancia en UTI	4.85 (9.51)	3.63 (11)	0.55
Anti DNAdc	459.81 (907)	58.63 (107.63)	<0.0001
Leucocitos	6.2 (3.1)	6.1 (3.44)	0.86
Linfocitos totales	1097 (1020)	1395 (1974)	0.41
Neutrófilos totales	4703 (2618)	4540 (4688)	0.85
C3	62.54 (26.98)	98.36 (102.15)	0.001
C4	9.86 (5.73)	19.08 (13.05)	<0.0001
PCR	7.69 (6.14)	2.21 (3.69)	0.015
VSG	36.33 (30.72)	22.19 (21.09)	0.007
SLEDAI	10.27 (5.78)	2.93 (3.19)	<0.0001

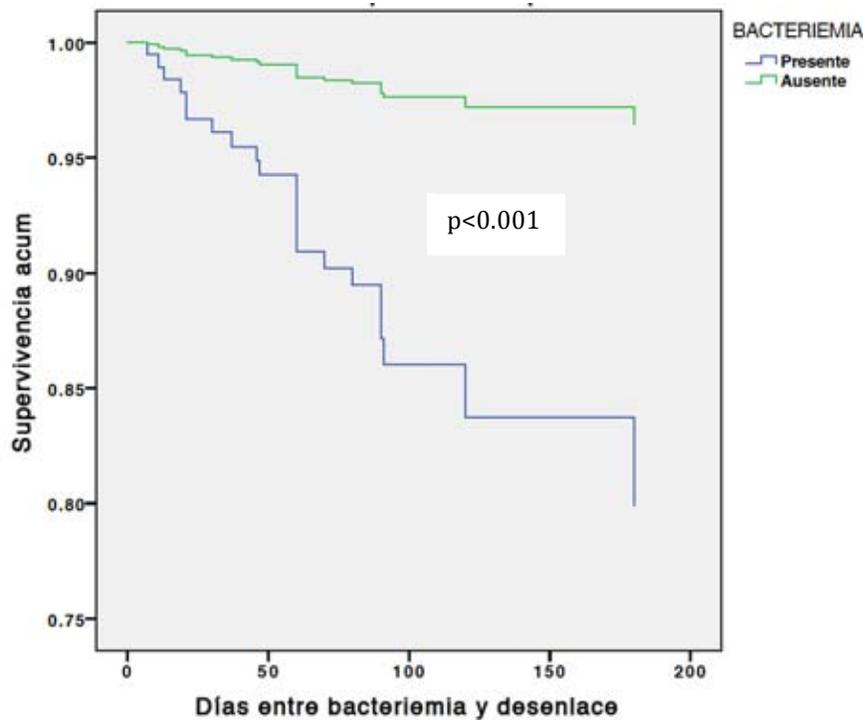
*Media (DE)

En el análisis univariado, los factores en el momento cero asociados a la presencia de exacerbación grave fueron la presencia de bacteriemia (RR 5, IC 95% 1.989-12.572, p<0.0001), linfopenia <1000 células/mm³ al diagnóstico de bacteriemia (RR 3.629, IC 95% 1.445-9.116, p=0.002, consumo de azatioprina al diagnóstico de bacteriemia (RR 3.418, IC 95% 1.686-6.927, p<0.0001) y de prednisona <15 mg/d al diagnóstico de bacteriemia (RR 2.246, IC 95% 1.170-4.312, p=0.014), hipocomplementemia de

C3 al diagnóstico de bacteriemia (RR 2.207, IC 95%1.142-4.268, $p=0.017$) e hipocomplementemia de C4 al diagnóstico de bacteriemia (RR 3.407, IC 95% 1.715-6.767, $p<0.0001$). Entre los pacientes con bacteriemia, la presencia de *S. pneumoniae* se asoció con el riesgo de exacerbación grave (RR 3.06, IC 95% 1.60-5.85, $p=0.010$). No se encontró una asociación significativa con ninguno de los otros microorganismos evaluados.

En el análisis multivariado, los factores de riesgo independientes para el desarrollo de exacerbación grave de LEG fueron bacteriemia (RR 6.24, IC 95% 1.405-27.725, $p=0.016$), hipocomplementemia de C4 (RR 3.2, IC 95% 1.272-8.078, $p=0.014$) y linfopenia <1000 células/mm³ (RR 5.02, IC 95% 1.137-22.23, $p=0.033$).

En el análisis de Kaplan-Meier, se observó que los pacientes que tuvieron bacteriemia, presentaron exacerbación grave en un tiempo más corto (147.2 vs 175.2 días, $p<0.001$).



Discusión.

En este estudio se documentó una fuerte asociación entre la presencia de bacteriemia, linfopenia moderada-grave e hipocomplementemia de C4 y exacerbación grave de LEG. Es poco probable que estos hallazgos sean debidos a la historia natural de la enfermedad, ya que ningún paciente tenía actividad grave al momento basal y el requisito para que se considerara el que la exacerbación estuviera relacionada con la bacteriemia fue que la primera ocurriera menos de tres meses después de la última, que es un periodo más corto que el reportado en estudios de seguimiento a largo plazo. En pacientes con serología positiva como único dato de actividad, la media de tiempo para el diagnóstico de exacerbación de la enfermedad fue de 3.6 ± 0.6 meses y para la actividad persistente de 3.5 ± 0.6 meses [33]. En este estudio, la mayoría de los pacientes no recibían inmunosupresores. En estudios de cohorte la tasa anual de exacerbaciones en pacientes es de 7%, menor que la observada en el presente trabajo y 13.5% para enfermedad persistentemente activa. En estos estudios, la mayor duración de la enfermedad y la ausencia de tratamiento inmunosupresor demostraron ser un factor de riesgo para la activación clínica del lupus. [33].

Los factores de virulencia bacteriana pueden explicar en parte la relación entre la bacteriemia y la exacerbación grave del LEG. Las bacterias ejercen daño a través de toxinas de las cuales, las tipo I no penetran en las células (superantígenos producidos por *S. aureus* y *S. pyogenes*); mientras que las tipo II y III tienen la capacidad de inducir lisis celular. Los superantígenos son proteínas no glucosiladas que constituyen las toxinas más potentes producidas por bacterias (*S. aureus* y *S. pyogenes*) y se unen directamente a los MHC-II, dominios de la porción variable de la cadena β ($V\beta$) del receptor de célula T y CD28 (enterotoxina B de *S. aureus*), que provoca activación masiva de células T (>20%), lo cual induce la síntesis de citocinas pro inflamatorias como TNF, IFN- γ e IL-2 [8] y puede promover la activación de linfocitos T autoreactivos “espectadores” en un microambiente inflamatorio inducido por el proceso infeccioso. Probablemente estas células pueden brindar cooperación a linfocitos B auto-reactivos y favorecer la síntesis de auto-anticuerpos.

Después del SLEDAI mayor a 12, la actividad renal fue el tipo de exacerbación más frecuentemente encontrado en asociación con bacteriemia. Estos microorganismos tanto Gram negativos como positivos tienen patrones moleculares asociados a patógeno que han demostrado la capacidad de inducir daño renal en modelos animales. En ratones MRL^{lpr/lpr} se inyectaron por vía intraperitoneal, lipopolisacárido

(LPS) y lipopéptido (molécula similar LPS). Se observó que quienes recibieron lipopéptido, aumentaron las concentraciones séricas de TNF, IL-6 e IL-12p40 ($p < 0.05$). La inyección de LPS aumentó la albuminuria en ratones pero cuando se administró lipopéptido, la albuminuria fue masiva sin observarse patrón membranoso en la biopsia renal. Tampoco se observó que el lipopéptido fuera capaz de originar depósito de complejos inmunes *de novo*, pero los índices de actividad en la biopsia renal fueron significativamente mayores en aquellos ratones expuestos a LPS (14 ± 2.7) y lipopéptido (12.3 ± 4.5) en comparación con los que fueron inyectados con solución salina (5.1 ± 1.2), $p < 0.05$ y se observó disminución de la síntesis de mRNA de proteínas del diafragma de hendidura en podocitos y un cambio en la distribución de la nefrina, que pasó de estar en los procesos podocíticos a encontrarse perinuclear en respuesta a lipopéptido. Esta molécula indujo además la activación de células endoteliales y la expresión celular de TLR2 en podocitos, que puede mediar el reconocimiento de esta molécula en dichas células y aumentar el daño proliferativo en ausencia de auto-anticuerpos. En este trabajo no se estudió la vía de señalización involucrada en dicho proceso [34]. Aunque se desconoce si esto ocurre en humanos, es uno de los modelos que vinculan trastornos renales en ratones predispuestos a LEG e infecciones bacterianas. Este párrafo está muy extenso. Debe ponerse una síntesis con lo que se quiere ejemplificar el concepto.

Otro patrón molecular asociado a patógeno es la proteína amiloide bacteriana contenida en la biopelícula. Los biopelículas son comunidades bacterianas inmersas en matriz extracelular que protegen a las bacterias de estresores ambientales y antibióticos. Diversas enterobacterias como *S. typhimurum* y *E. coli* producen amiloide conocido como curli que es producto de la polimerización de la proteína CsgA y se encuentra altamente conservado en estos microorganismos. Otras bacterias capaces de producir amiloides incluyen *S. aureus* y *M. tuberculosis*. Muchas biopelículas bacterianas contienen DNA extracelular que le brinda estabilidad a la matriz y éste puede unirse a fibras del curli, favoreciendo su polimerización. Algunos estudios han demostrado que bacterias como *P. aeruginosa* son capaces de agregar DNA de neutrófilos a su matriz extracelular para formar una biopelícula más gruesa. Cuando estas estructuras se pusieron en contacto con células dendríticas convencionales en el estudio de Gallo et al, hubo un aumento en la producción de IL-6 y TNF- α relacionada con la captación de antígenos a través de las dendritas. De igual forma, el curli purificado libre de LPS fue capaz de inducir la producción de IL-6 e IL-12 y de estimular a las células dendríticas para la secreción de IFN tipo I, tanto en ratones susceptibles a lupus (NZBxW/F1) como en la cepa salvaje. La inyección de componentes del curli también indujo la expresión de genes relacionados con interferón, el aumento de moléculas

coestimuladoras como CD86 y CD80, así como la síntesis de anticuerpos anti DNAdc y anti cromatina en ratones NZBxW/F1 2 semanas después de su administración. Los ratones NZBxW/F1 a los que se inyectaron cepas de *E. coli* y *S. typhimurum* mutantes para evitar la producción de curli, desarrollaron menos autoanticuerpos que los que se inocularon con las cepas capaces de sintetizarlo. De manera interesante, los anticuerpos anti nucleares de ratones inoculados con *E. coli* tuvieron únicamente tinción nuclear, mientras que los que estuvieron expuestos a *S. typhimurum* tuvieron tinción de núcleo y citoplasma, lo cual implica que este componente es capaz de favorecer la expresión de la firma de interferón en lupus y que las bacterias modulan de manera diferencial el repertorio de auto-anticuerpos [35]. También muy extenso.

Así mismo, se ha demostrado que el daño inducido por infección produce la liberación de desechos celulares, que interactúan con anticuerpos y la consiguiente inflamación produce ligandos de TLR e induce a las células dendríticas plasmacitoides a producir IFN y amplificar la liberación de auto-anticuerpos [17]. La internalización de complejos inmunes que contienen DNA en células dendríticas es mediado por FcγRIIa, que los deriva hacia lisosomas con TLR9 con la consiguiente producción de IFN tipo I, la firma molecular del LEG [11].

Otro mecanismo que potencialmente puede explicar la asociación entre infecciones y activación o exacerbación en LEG es la NETosis. Las bacterias inductoras de NET (trampas extracelulares de neutrófilos por sus siglas en inglés) *In vitro* incluyen *E. coli* (cepa P4), *S. aureus*, *S. entérica* y *M. tuberculosis*; mientras que las inductoras *In vitro* e *In vivo* incluyen *P. aeruginosa* (PA01), *S. flexneri*, *Streptococcus* del grupo A y *S. pneumoniae* [36]. Las histonas provenientes de las NET tienen propiedades bactericidas y modificaciones postraduccionales (citrulinación y acetilación), mientras que las bacterias atrapadas en las NET constituyen adyuvantes para la producción de auto anticuerpos contra componentes de la cromatina [37].

Los pacientes con LEG tienen mayores niveles circulantes de neutrófilos que mueren y menor capacidad para eliminar las NETs probablemente por niveles séricos disminuidos de DNAsa 1 y anticuerpos en contra de esta enzima, lo que correlaciona con actividad de la enfermedad y producción de anticuerpos anti DNA. Existe la teoría de que receptores de DNA pueden introducir NET a células no fagocíticas como fibroblastos y células endoteliales. Además, el DNA libre puede ser reconocido por receptores citoplásmicos como DDX41 que reconocen dinucleótidos cíclicos provenientes de bacterias

que promueve la secreción de IFN tipo I [37] lo cual a su vez favorece la perpetuación de la respuesta autoinmune patogénica.

Todos estos factores pueden explicar que la bacteriemia constituya un factor de riesgo de exacerbación grave de LEG. En este estudio, encontramos que el neumococo fue el principal agente bacteriano relacionado con exacerbación grave de LEG en el grupo de bacteriemia. La frecuencia de infecciones por neumococo en pacientes con LEG oscila entre 6-18% del total de infecciones y en algunos estudios observacionales se ha planteado la teoría de que pueden ser más graves que en pacientes sin la enfermedad [38]. Entre los principales factores de patogenicidad de neumococo se encuentran la cápsula, que le brinda resistencia a la opsonización y fagocitosis y la neumolisina, que es una toxina formadora de poros y activadora de la vía clásica del complemento independientemente de los anticuerpos [39]. Es posible que la síntesis de neumolisina provoque aumento de la lisis celular con liberación de cuerpos apoptóticos y necróticos que pueden acumularse debido a la falta de eliminación por disminución de opsonización debido a consumo de complemento mediado por la toxina. Éstos a su vez pueden estimular la síntesis de IFN- α por células dendríticas plasmacitoides y por lo tanto promover exacerbación grave de LEG.

Los otros factores independientes asociados con exacerbación grave de LEG en pacientes con bacteriemia fueron la linfopenia moderada-grave y la hipocomplementemia de C4. En revisiones sistemáticas, se ha determinado que la prevalencia acumulada de linfopenia oscila entre 15-82% en pacientes con LEG y aumenta hasta 93% en pacientes con enfermedad activa [40]. En la patogénesis de la linfopenia se han involucrado anticuerpos anti linfocitos y apoptosis de los mismos. El desarrollo de linfopenia durante el curso de la enfermedad se relaciona con su exacerbación [41].

El papel de la linfopenia en relación a actividad de LEG se ha demostrado en diversos estudios. Se observa correlación entre linfopenia en todas las visitas con algunas escalas de actividad como SLAM de la siguiente forma: LT 500-999 (RM 5.48 <0.0001) y <500 (RM 6 p<0.0001) [42].

También se ha demostrado asociación entre linfopenia y manifestaciones graves de LEG. En un estudio de 186 pacientes con LEG de inicio juvenil, que se siguieron para determinar los predictores de exacerbaciones neuropsiquiátricas, renales y de otro tipo, Yu y colaboradores, determinaron en el análisis multivariado ajustado para edad y género que la linfopenia grave (<500) se asoció

independientemente a la presencia de lupus neuropsiquiátrico (RM 7.41 IC 95% 1.99-27, $p=0.003$); sin embargo, en este estudio no se incluyeron pacientes con infecciones graves [43]

Entre los factores propuestos para el desarrollo de autoinmunidad en sujetos con linfopenia se incluyen la depleción de células T reguladoras y la inflamación tisular local. En el estudio realizado por Gómez-Martín D, et al de 84 pacientes con LEG, 62 de los cuales tenían linfopenia ($<1500/\text{mm}^3$) se determinó que los pacientes con linfopenia tenían mayor MEX-SLEDAI (4.1 vs 1.5, $p=0.01$), así como menor número de células T reguladoras $\text{CD4}^+\text{CD25}^{\text{high}}$ (1.9 vs 5.2, $p<0.01$). En el seguimiento prospectivo de 20 pacientes a 6 meses, aquellos con linfopenia tuvieron mayor índice de actividad (3.98 vs 1.74, $p=0.050$) y menores cifras de Tregs ($\text{CD4}^+\text{CD25}^{\text{high}}$) (1.73 vs 5.07, $p=0.001$). Además, los pacientes con linfopenia tuvieron aumento de la proporción de células T efectoras $\text{CD4}^+\text{CD25}^-$ en el tiempo 0 (26.22), a los 3 meses (30.62, $p=0.019$) y a los 6 meses (74.36, $p=0.023$). En los pacientes con linfopenia asociada con actividad, se encontró una disminución de la capacidad supresora de proliferación por células T reguladoras ($20.29 \pm 6.4\%$) [44]. Probablemente los pacientes con bacteriemia y linfopenia tengan una disminución de las células T reguladoras que los predispone a desarrollar actividad de la enfermedad posterior al proceso infeccioso.

Con respecto a la hipocomplementemia de C4, se ha reportado que los pacientes con LEG tienen un defecto en la eliminación de cuerpos apoptóticos y necróticos. Además los déficit genéticos del sistema inmune (deficiencia de C1q, C2, C4, CR1 y lectina fijadora de manosa) puede provocar la persistencia de los agentes infecciosos, cuerpos apoptóticos y necróticos que pueden contribuir a la respuesta inmune patogénica [11]. En un estudio de 71 pacientes con nefritis lúpica corroborada por biopsia en la universidad de Ohio, con seguimiento bimensual por al menos 4 meses y con una mediana de 38 meses con más de 90% de apego a las visitas se observó que C4 tenía una tendencia a disminuir 2 meses antes de la exacerbación renal de moderada a grave, aunque la diferencia no fue significativa ($p=0.06$) [45]. Por lo que en nuestros resultados, la presencia de hipocomplementemia de C4 puede estar asociada a la mayor frecuencia de exacerbación de actividad renal.

Se ha demostrado que la vía clásica del complemento es aún más importante que la alternativa o la de la lectina para el aclaramiento de cuerpos apoptóticos. En el estudio de Gullstrand et al realizado con suero de pacientes con deficiencias de complemento en comparación con controles sanos, se concluyó que los elementos de la vía clásica del complemento (C1q, C2 y C4) son los más importantes para

eliminar los cuerpos apoptóticos [46] y es posible que la falta de aclaramiento de cuerpos apoptóticos y necróticos durante el daño celular inducido por bacterias produzca mayor tiempo de exposición de antígenos nucleares y por consiguiente, mayor cantidad de anticuerpos anti cromatina. Lo anterior constituiría otro mecanismo que une la presencia de hipocomplementemia de C4 con el riesgo de exacerbación grave ante la presencia de un proceso infeccioso.

Conclusiones.

La presencia de bacteriemia, linfopenia moderada-grave e hipocomplementemia de C4 fueron los factores que se asociaron de manera independiente con la exacerbación grave del LEG. Esta ocurrió en un periodo de tiempo más corto que el descrito para exacerbación en pacientes con enfermedad serológicamente activa, por lo que los pacientes con bacteriemia y LEG ameritan seguimiento estrecho para diagnosticar oportunamente la exacerbación grave. Se confirma que los agentes bacterianos a través de toxinas bacterianas como superantígenos, patrones moleculares asociados a patógeno e inducción de NETosis, representan un factor ambiental importante en la fisiopatogenia del lupus. En este estudio no se confirma nada de esto. Los pacientes con linfopenia independientemente del uso de azatioprina, tuvieron mayor riesgo de exacerbación probablemente por mecanismos inmunológicos que involucran a células T reguladoras, lo que abre la perspectiva para estudios prospectivos en donde se estudien estas subpoblaciones celulares en pacientes con bacteriemia. El consumo de factores de la vía clásica del complemento como C4, aumenta el riesgo de exacerbación, probablemente porque promueve la ineficacia en la depuración de cuerpos apoptóticos y necróticos. En estudios prospectivos deberá analizarse el perfil inmunológico relacionado con desarrollo de actividad de LEG posterior a una infección bacteriana.

Bibliografía.

1. Doria, A., et al., *Infections as triggers and complications of systemic lupus erythematosus*. *Autoimmun Rev*, 2008. **8**(1): p. 24-8.
2. Esposito, S., et al., *Infections and systemic lupus erythematosus*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2014. **33**(9): p. 1467-75.
3. Sundar, K., et al., *Expression of the Epstein-Barr virus nuclear antigen-1 (EBNA-1) in the mouse can elicit the production of anti-dsDNA and anti-Sm antibodies*. *J Autoimmun*, 2004. **23**(2): p. 127-40.
4. Agmon-Levin, N., et al., *Molecular mimicry in systemic lupus erythematosus*. *Lupus*, 2009. **18**(13): p. 1181-5.
5. Sebastiani, G.D. and M. Galeazzi, *Infection--genetics relationship in systemic lupus erythematosus*. *Lupus*, 2009. **18**(13): p. 1169-75.
6. Rigante, D., M.B. Mazzoni, and S. Esposito, *The cryptic interplay between systemic lupus erythematosus and infections*. *Autoimmun Rev*, 2014. **13**(2): p. 96-102.
7. Aslanidis, S., et al., *Parvovirus B19 infection and systemic lupus erythematosus: Activation of an aberrant pathway?* *Eur J Intern Med*, 2008. **19**(5): p. 314-8.
8. Ramachandran, G., *Gram-positive and gram-negative bacterial toxins in sepsis: a brief review*. *Virulence*, 2014. **5**(1): p. 213-8.
9. Sivick, K.E., et al., *Toll-like receptor-deficient mice reveal how innate immune signaling influences Salmonella virulence strategies*. *Cell Host Microbe*, 2014. **15**(2): p. 203-13.
10. Schmalzer, M., et al., *T and B cells are not required for clearing Staphylococcus aureus in systemic infection despite a strong TLR2-MyD88-dependent T cell activation*. *J Immunol*, 2011. **186**(1): p. 443-52.
11. Coch, C., et al., *Higher activation of TLR9 in plasmacytoid dendritic cells by microbial DNA compared with self-DNA based on CpG-specific recognition of phosphodiester DNA*. *J Leukoc Biol*, 2009. **86**(3): p. 663-70.
12. Ding, C., et al., *Toll-like receptor engagement stimulates anti-snRNP autoreactive B cells for activation*. *Eur J Immunol*, 2006. **36**(8): p. 2013-24.
13. Ronnblom, L. and V. Pascual, *The innate immune system in SLE: type I interferons and dendritic cells*. *Lupus*, 2008. **17**(5): p. 394-9.
14. Bekeredjian-Ding, I., et al., *Plasmacytoid Dendritic Cells: Neglected Regulators of the Immune Response to Staphylococcus aureus*. *Front Immunol*, 2014. **5**: p. 238.
15. Gottenberg, J.E. and G. Chiochia, *Dendritic cells and interferon-mediated autoimmunity*. *Biochimie*, 2007. **89**(6-7): p. 856-71.
16. Boele, L.C., et al., *Activation of Toll-like receptors and dendritic cells by a broad range of bacterial molecules*. *Cell Immunol*, 2009. **255**(1-2): p. 17-25.
17. Lovgren, T., et al., *Induction of interferon-alpha production in plasmacytoid dendritic cells by immune complexes containing nucleic acid released by necrotic or late apoptotic cells and lupus IgG*. *Arthritis Rheum*, 2004. **50**(6): p. 1861-72.
18. Tam, M.A., U.A. Wenzel, and M.J. Wick, *Plasmacytoid dendritic cells mature independently of MyD88 and IFN- α in response to Listeria and stimulate CD8 T cells*. *Immunol Lett*, 2011. **138**(2): p. 104-12.

19. Feng, H., et al., *Listeria-Infected Myeloid Dendritic Cells Produce IFN- γ , Priming T Cell Activation*. The Journal of Immunology, 2005. **175**(1): p. 421-432.
20. Adhami, E., *Calculating the etiology of systemic lupus erythematosus*. Medical Hypotheses, 2004. **62**(2): p. 237-246.
21. Al-Rayes, H., et al., *Systemic lupus erythematosus and infections: a retrospective study in Saudis*. Lupus, 2007. **16**(9): p. 755-63.
22. <Morbidity_and_Mortality_in_Systemic_Lupus.3.pdf>.
23. Cervera, R., et al., *Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period: a comparison of early and late manifestations in a cohort of 1,000 patients*. Medicine (Baltimore), 2003. **82**(5): p. 299-308.
24. Bosch, X., et al., *Infections in systemic lupus erythematosus: a prospective and controlled study of 110 patients*. Lupus, 2006. **15**(9): p. 584-589.
25. Petri M, G.M., *Incidence of and risk factors for hospitalizations in systemic lupus erythematosus: a prospective study of the Hopkins lupus cohort*. J Rheumatol, 1992. **19**: p. 1559-65.
26. **Duffy KN, D.C., Gladman DD. , Infection and disease activity in systemic lupus erythematosus: a review of hospitalized patients**. J Rheumatol, 1991. **18**(8): p. 1180-4.
27. Danza, A. and G. Ruiz-Irastorza, *Infection risk in systemic lupus erythematosus patients: susceptibility factors and preventive strategies*. Lupus, 2013. **22**(12): p. 1286-94.
28. Cuchacovich, R. and A. Gedalia, *Pathophysiology and clinical spectrum of infections in systemic lupus erythematosus*. Rheum Dis Clin North Am, 2009. **35**(1): p. 75-93.
29. Zandman-Goddard, G. and Y. Shoenfeld, *Infections and SLE*. Autoimmunity, 2005. **38**(7): p. 473-85.
30. Chen, M.J., et al., *Long-term outcome and short-term survival of patients with systemic lupus erythematosus after bacteraemia episodes: 6-yr follow-up*. Rheumatology (Oxford), 2008. **47**(9): p. 1352-7.
31. **Barrera-Vargas A, G.-M.D., Merayo-Chalico J, Ponce de León A, Alcocer-Varela J, Risk factors for drug resistant bloodstream infections in patients with systemic lupus erythematosus**. J Rheumatol, 2014. **41**(7): p. 1311-6.
32. **Buyon JP, P.M., Kim MY, Kalunian KC, Grossman J, Hahn BH, et al. , The effect of combined estrogen and progesterone hormone replacement therapy on disease activity in systemic lupus erythematosus: a randomized trial**. Ann Intern Med, 2005. **142**(1): p. 953-62.
33. Conti, F., et al., *Flare, persistently active disease, and serologically active clinically quiescent disease in systemic lupus erythematosus: a 2-year follow-up study*. PLoS One, 2012. **7**(9): p. e45934.
34. Pawar, R.D., et al., *Bacterial lipopeptide triggers massive albuminuria in murine lupus nephritis by activating Toll-like receptor 2 at the glomerular filtration barrier*. Immunology, 2009. **128**(1 Suppl): p. e206-21.
35. Gallo, P.M., et al., *Amyloid-DNA Composites of Bacterial Biofilms Stimulate Autoimmunity*. Immunity, 2015. **42**(6): p. 1171-84.
36. Cheng, O.Z. and N. Palaniyar, *NET balancing: a problem in inflammatory lung diseases*. Front Immunol, 2013. **4**: p. 1.
37. Radic, M. and T.N. Marion, *Neutrophil extracellular chromatin traps connect innate immune response to autoimmunity*. Semin Immunopathol, 2013. **35**(4): p. 465-80.

38. Goldblatt, F., et al., *Impaired C3b/iC3b deposition on Streptococcus pneumoniae in serum from patients with systemic lupus erythematosus*. Rheumatology (Oxford), 2009. **48**(12): p. 1498-501.
39. Mitchell, A.M. and T.J. Mitchell, *Streptococcus pneumoniae: virulence factors and variation*. Clin Microbiol Infect, 2010. **16**(5): p. 411-8.
40. Carli, L., et al., *Leukopenia, lymphopenia, and neutropenia in systemic lupus erythematosus: Prevalence and clinical impact-A systematic literature review*. Semin Arthritis Rheum, 2015.
41. Fayyaz, A., et al., *Haematological manifestations of lupus*. Lupus Sci Med, 2015. **2**(1): p. e000078.
42. Vila, L.M., et al., *Systemic lupus erythematosus in a multiethnic US cohort, XXXVII: association of lymphopenia with clinical manifestations, serologic abnormalities, disease activity, and damage accrual*. Arthritis Rheum, 2006. **55**(5): p. 799-806.
43. Yu, H.H., et al., *Lymphopenia is associated with neuropsychiatric manifestations and disease activity in paediatric systemic lupus erythematosus patients*. Rheumatology (Oxford), 2007. **46**(9): p. 1492-4.
44. Gomez-Martin, D., et al., *Quantitative and functional profiles of CD4+ lymphocyte subsets in systemic lupus erythematosus patients with lymphopenia*. Clin Exp Immunol, 2011. **164**(1): p. 17-25.
45. Birmingham, D.J., et al., *The complex nature of serum C3 and C4 as biomarkers of lupus renal flare*. Lupus, 2010. **19**(11): p. 1272-80.
46. Gullstrand, B., et al., *Complement classical pathway components are all important in clearance of apoptotic and secondary necrotic cells*. Clin Exp Immunol, 2009. **156**(2): p. 303-11.