



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

**ALTERACIONES DE LAS CÉLULAS DENDRÍTICAS CIRCULANTES DE
MUJERES CON LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO E
HIPERPROLACTINEMIA**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

ESPECIALISTA EN MEDICINA INTERNA

PRESENTA:

PINEDA GALINDO, LUIS FRANCISCO

ASESOR: FLORENZANO GARCÍA, ALEJANDRA

MÉXICO, D. F.

2007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE.

Resumen _____ 3

Summary _____ 4

INTRODUCCION _____ 5

MATERIAL Y METODOS _____ 13

RESULTADOS _____ 18

DISCUSION _____ 23

CONCLUSIONES _____ 26

BIBIOGRAFIA _____ 27

ANEXOS _____ 34

IND.

Resumen _____ ¡Error! Marcador no definido.

Summary _____ ¡Error! Marcador no definido.

INTRODUCCION _____ ¡Error! Marcador no definido.

MATERIAL Y METODOS _____ **13**

RESULTADOS _____ **18**

DISCUSION _____ ¡Error! Marcador no definido. **3**

CONCLUSIONES _____ **26**

BIBLIOGRAFIA _____ **27**

ANEXOS _____ **34**

Resumen

Alteración en la Células Dendríticas Circulantes de Mujeres con Lupus Eritematoso Sistémico e Hiperprolactinemia.

Pineda-Galindo LF, Florezano-García A, Pérez-Torres A*. UMAE-Especialidades. CMNR. IMSS. * Facultad de Medicina, UNAM. México, D.F.

Objetivo.

Determinar el porcentaje de células dendríticas circulantes Lin 1-/CD1a+/CD11c+ en pacientes con LES e HPRL y con PRL normal y compararlo con mujeres sanas.

Material y Métodos.

Mujeres con LES, 10 con HPRL, 8 con PRL normal, y 10 de mujeres sanas. Determinamos su porcentaje de CD en sangre periférica, mediante anticuerpos marcados para lin 1/CD1a/CD11c, por citometría. Se correlacionó el porcentaje de CD, fenotipo con el SLEDAI y prolactina.

Análisis Estadístico.

Estadística descriptiva. Regresión lineal y ANOVA para correlación de variables.

Resultados.

La media de edad para los tres grupos fue 28.8 (\pm 5.4 DE), el porcentaje de CD de 15.3 % para CD1a+/CD11c+, 20.5 % para CD1a+ y 0.46% para CD11c+. La media de PRL fue de 25.7 (\pm 15.1 DE) y 13.3 (\pm 6.8 DE) de SLEDAI para ambos grupos de LES con HPRL y PRL normal. La comparación de variables en los grupos no tuvo significancia estadística. En el grupo de HPRL, la relación SLEDAI/%CD1a+/CD11c+, tuvo un coeficiente de relación de 0.55

Conclusión.

La diferenciación y el papel, en la conservación de la homeostasis del sistema inmune, por las CD, propone el estudio extenso de sus subtipos, así como su interrelación con el sistema endocrinológico; en el prototipo de enfermedades autoinmunes: el lupus eritematoso sistémico.

Palabras Clave. Lupus Eritematoso Sistémico, Prolactina, Células dendríticas.

Summary

Alteration in the Circulating Dendritic Cells of Women with Lupus Erythematosus Systemic and Hiperprolactinemia.

Pineda-Galindo LF, Florezano-García A, Perez-Torres A*. UMAE-Especialidades. CMNR. IMSS. * Facultad de Medicina, UNAM. Mexico, D.F.

Objective.

To determine the percentage of circulating dendritic cells Lin 1-/CD1a+/CD11c+ in patients with SLE and HPRL and PRL normal and to compare it with healthy women.

Material and Methods.

Women with SLE, 10 with HPRL, 8 with normal PRL, and 10 of healthy women. We determined its percentage of DC in peripheral blood, by means of antibodies marked for lin 1/CD1a/CD11c, by cytometry. One correlated the percentage of DC, phenotype with the SLEDAI and prolactin

Statistical analysis.

Descriptive statistic. Linear regression and ANOVA for correlation of variables.

Results.

The average of age for the three groups was 28.8 (\pm 5.4 OF), the percentage of DC of 15.3% for CD1a+/CD11c+, 20.5% for CD1a+ and 0.46% for CD11c+. The PRL average was of 25.7 (\pm 15.1 OF) and 13.3 (\pm 6.8 OF) of SLEDAI for both groups of SLE with normal HPRL and PRL. The comparison of variables in the groups did not have statistical significance. In the HPRL group, the SLEDAI/%CD1a+/CD11c+ relation, had a coefficient of relation of 0.55.

Conclusion.

The differentiation and the paper, in the conservation of the homeostasis of the immune system, by the DC, it proposes the extensive study of his subtypes, as well as their interrelation with the endocrine system; in the prototype of diseases autoinmunes: systemic lupus erythematosus lupus.

Key words. Systemic Lupus Erythematosus , Prolactine, dendritic Cells.

INTRODUCCION

El lupus eritematoso sistémico (LES) es un trastorno inflamatorio multisistémico caracterizado por la producción de autoanticuerpos contra múltiples antígenos. Clínicamente, cursa con exacerbaciones y remisiones sucesivas, siendo responsable de la inflamación de diversos órganos debido a la presencia de depósitos de complejos inmunes. Posiblemente, es el paradigma de las enfermedades autoinmunes,^{1,2} cuya etiología y patogenia son desconocidas.

PROLACTINA Y EL SISTEMA INMUNOLOGICO

La prolactina (PRL) es una hormona sintetizada y secretada por la hipófisis anterior,³ aunque se ha demostrado de manera extrahipofisaria en distintas células y tejidos, como las células del sistema inmunológico. El análisis estructural del receptor de PRL (R-PRL) demuestra una relación con la familia de citocinas/hemopoyetinas, como la hormona del crecimiento (GH), eritropoyetina (EPO), factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos (GM-CSF), y algunas interleucinas (IL) como IL-2, -3, -4, -5, -6, -7, -9, -13, y -15.⁴

La PRL es uno de los moduladores de la integración compleja entre los sistemas inmunológico, nervioso y endocrino para mantener la homeostasis. En este sentido, se ha observado que el reemplazo con PRL mejora sustancialmente la respuesta inmunológica de ratones con inmunodeficiencia congénita. De la misma manera, animales hipofisectomizados o con supresión de PRL por la

administración de bromocriptina, presentan una respuesta inmune atenuada la cual es revertida con la administración de PRL.⁵

Adicionalmente, se sabe que PRL, junto con otros moduladores del tipo factores de crecimiento y citocinas, estimulan la proliferación y supervivencia linfocitaria y con ello la respuesta inmune.⁶ La acción de PRL parece depender de su concentración, ya que a niveles fisiológicos, el estímulo proliferativo predomina y a rangos bajos o elevados, la proliferación linfocitaria se inhibe.⁷ Lo anterior está de acuerdo con los estudios *in vitro*, de las acciones de PRL.⁸ PRL actúa de manera endocrina, paracrina y autocrina en la regulación del sistema inmunológico a través de receptores específicos para PRL en linfocitos y en otros subtipos de células inmunológicas.⁹ Está demostrado que los linfocitos requieren PRL para proliferar ya que los anticuerpos anti-PRL humana inhiben su actividad mitogénica en un 90%. Más aun, PRL estimula la respuesta humoral,¹⁰ e inhibe la apoptosis de células T bajo ciertas condiciones.

Existe evidencia de que la síntesis de PRL, por diferentes subtipos de células inmunológicas, tanto de humanos como en ratones, podría jugar un papel no sólo inmunorregulador sino también en la patogenia de diversas enfermedades autoinmunes.^{11,12} En este contexto, se han encontrado cifras elevadas de PRL en pacientes con LES lo que ha sido asociado con un mayor número de exacerbaciones.¹³

Es claro que lo antes mencionado no permite hacer generalizaciones acerca del papel de PRL en la etiopatogenia de enfermedades autoinmunes pero estimula a la realización de más estudios clínicos que redunden en una posible aplicación médica.

LUPUS Y PROLACTINA.

Hay evidencia de que PRL participa en la expresión clínica y en la patogénesis de enfermedades autoinmunes, principalmente en el LES, lo cual destaca la influencia del sistema neuroendocrino en la inmunidad y viceversa.^{14,15} Aunque la relación entre hiperprolactinemia (HPRL) y el LES activo en pacientes no gestantes es controversial, estudios recientes apoyan el papel potencial de la PRL como un promotor de la actividad clínica y de la severidad del LES.¹⁶ Así, los pacientes con nefritis lúpica activa tienen elevaciones de PRL e IL-6 en orina, mientras que los pacientes con actividad de LES en el sistema nervioso central (SNC) las presentan en líquido cefalorraquídeo (LCR).^{17,18} Estas interacciones entre PRL, citocinas, autoanticuerpos y afección orgánica, sugieren la participación de procesos inflamatorios e inmunológicos, tanto locales como generalizados, en el LES.¹⁹

Se ha demostrado que pacientes con HPRL presentan un incremento en la prevalencia de varios autoanticuerpos,^{20,21} y de enfermedades autoinmunes,²⁰ con una prevalencia de HPRL hasta 20 a 31% en LES activo asociado. En contraste, en mujeres jóvenes entre los 14-43 años de edad, la frecuencia de HPRL reportada es de 3%.²² Interesantemente, en el 66% de los casos de HPRL en LES, se desconoce la causa del incremento de la hormona y se ha clasificado como idiopática,²³ aunque un 40.7% de estos pacientes presentan anticuerpos séricos anti-PRL. Sin embargo, algunos estudios muestran resultados contradictorios en la correlación entre los niveles de PRL y la actividad serológica como clínica de la

enfermedad.²⁴ Se ha demostrado que la reducción de la concentración de PRL con bromocriptina en pacientes con LES, reduce la frecuencia de brotes y disminuye la actividad de la enfermedad.^{25,26} Por otro lado, la disminución de los niveles de PRL en pacientes con LES activo después de ser tratados con esteroides e inmunosupresores sugiere que los linfocitos participan en la secreción de PRL, detectada en suero durante la fase activa de la enfermedad. En apoyo a esta hipótesis, se ha demostrado que las células mononucleares de pacientes con LES activo tienen inmunorreactividad incrementada a PRL, con posible origen en linfocitos B.²⁷

CELULAS DENDRITICAS Y PROLACTINA.

Recientemente se ha propuesto que el papel de PRL como promotor de la actividad clínica y la severidad del LES pudiera estar relacionado a su acción en la maduración de las células dendríticas (CD), células presentadoras de antígenos (CPA) que desempeñan un papel importante en la regulación de la respuesta inmune innata y adaptativa, cuya alteración podría favorecer el desarrollo de autoinmunidad.²⁸

La PRL producida por el sistema inmune tiene una acción moduladora sobre las células dendríticas, comparte características estructurales y funcionales con factores hematopoyéticos y citocinas que afectan el desarrollo y maduración de las CD.²⁹ Los precursores mieloides de CD obtenidos de sangre periférica, particularmente los monocitos, pueden diferenciarse a CD cuando son cultivados en medios con GM-CSF, IL-4, y PRL,³⁰ generando cambios morfológicos distintivos de CD y la expresión de moléculas clase II del MHC (complejo mayor de

histocompatibilidad) y moléculas coestimuladoras CD80, CD86 y CD40, con pérdida de CD14 de los monocitos. Se ha analizado el efecto de la PRL en CD y se sabe que en el timo fetal de rata muchas CD expresan receptores de PRL (R-PRL).³¹ La administración de PRL en cultivos de timo fetal no aumenta las proporciones de CD pero si estimula su diferenciación y su capacidad aloestimuladora en una reacción mixta de leucocitos e incrementa la expresión del MHC y CD80.³² Más interesante es el hecho que las CD tratadas con PRL incrementan la síntesis de citocinas proinflamatorias, como IL-12, TNF alfa e IL-1 beta, pero no de IL-6 o IL-10. Estos datos indican un papel complejo de PRL en la red de citocinas. Por un lado, pueden observarse fenómenos de inmunosupresión asociada a HPRL³³ y, por otro, se conoce de cierta acción permisiva de las altas concentraciones de PRL en la presentación de antígenos. Esto último puede ser significativo en la iniciación de las respuestas contra autoantígenos en el contexto del MHC y una explicación a su asociación con la HPRL y la autoinmunidad.³⁴

CELULAS DENDRITICAS Y LES.

Las CD constituyen un sistema heterogéneo de células presentadoras de antígenos,³⁵ distribuidas extensamente en todos los tejidos, especialmente en la interfase con el medio ambiente.³⁶ Son estimuladoras eficientes de linfocitos B y T, expresan moléculas coestimuladoras, y secretan citocinas iniciadoras de la respuesta inmune.³⁷ Las CD no sólo activan linfocitos, sino que también son capaces de inducir respuestas de tolerancia periférica a antígenos naturales del cuerpo (autoantígenos), reduciendo al mínimo la presencia de reacciones autoinmunes.³⁷

Las CD se dividen clásicamente en dos grupos de acuerdo a la expresión de marcadores de superficie. Las CD mieloides (CDm) inmaduras expresan marcadores como CD11c, TLR1, TLR2, TLR3, TLR4, TLR6, TLR7 y TLR8 y marcadores mieloides como, CD13, CD33 y requieren GM-CSF para sobrevivir. Las CD linfoides, conocidas como células dendríticas plasmocitoides (CDp), son CD11c-, expresan el receptor CD 123 de IL-3, TLR1, TLR6, TLR7, TLR9, TLR10 y a diferencia de las DC mieloides (CDm), requieren de IL-3 pero no de GM-CSF para sobrevivir. En humanos se distinguen esencialmente tres tipos de CD: 1) las células de Langerhans (CL) presentes en epitelios de mucosa, epitelios planos estratificados y particularmente en la epidermis de la piel; 2) las CDs intersticiales presentes en los tejidos incluyendo la dermis de la piel y probablemente relacionadas a la CD 11c+ mieloides inmadura; y 3) la CD plasmocitoide conocida como célula productora de IFN-alfa en respuesta a virus.³⁸ Pero básicamente, la sangre contiene dos subtipos CD, las CDp CD11c- y las CDm CD11c+, representando el 0.3% cada una de las células mononucleares. El subtipo CDm CD11c + tiene como precursores a los monocitos y las células CD1a+/CD14-. Este camino, dependiente de TGF- β , genera las CL epidérmicas CD1a+/gránulos de Birbeck+/Langerina+, y las CD intersticiales, que carecen de los gránulos de Birbeck pero expresan el factor XIIIa de la coagulación.³⁹ Ambas CD juegan un papel en el desarrollo y mantenimiento de la tolerancia periférica. De esta manera, la activación anormal de las CD puede desviar la presentación de autoantígenos de una tolerancia inmunológica a la inducción de autoinmunidad.⁴⁰ Este concepto propone el estudio de los subtipos de CD en el prototipo de las enfermedades

autoinmunes, el LES, en el que el sello distintivo es la pérdida de la tolerancia a componentes nucleares.^{41,42}

Varios estudios han documentado que el número de CD circulante en sangre periférica de pacientes con LES se encuentra disminuido, representando un promedio del 0.1% de las células mononucleares de sangre periférica. Otros estudios han demostrado la presencia de una disfunción en las CD como resultado de cambios en la expresión de moléculas coestimuladoras y/o de su función.⁴²

También se ha demostrado un nivel elevado de IFN-alfa en suero de pacientes con LES, coexistiendo con disminución del número de CD productoras de IFN-alfa y correlacionando con la actividad clínica de la enfermedad.^{34,41} Se ha descrito que

las CDm también se encuentran disminuidas en la sangre de los pacientes con LES.

Sin embargo, este número disminuido de CD circulantes aun no se explica.⁴¹

Existen tres posibles explicaciones: disminución de su salida de la médula ósea, incremento de su migración a tejidos y/o a órganos linfoides secundarios, y cambio del fenotipo debido a activación/maduración.^{43,44} La reactividad de las

subpoblaciones de CD parece ser diferente ya que la terapia con esteroides en pacientes con LES disminuye el número de CDp pero no modifica significativamente el número del CDm.⁴¹ Se ha observado que los monocitos de

pacientes con LES se comportan como CD ya que pueden inducir una gran reacción mixta. Estas "CD" inducidas con suero de LES son capaces de capturar células apoptóticas y presentar sus antígenos a células T autólogas.⁴³ Al parecer,

esta activación de CD por suero del LES está mediada por el IFN- α ,⁴⁵ secretado por las CDp CD123+/CD11- pero que, curiosamente, se encuentran disminuidas

en aproximadamente en un 70% en la sangre de estos pacientes.⁴³ Así, la liberación de IFN- α por las CDp induce diferenciación de monocitos hacia CD, con una alta eficiencia en la captura de células apoptóticas y nucleosomas, presentes en gran cantidad en la sangre de los pacientes con LES,⁴⁶ lo que correlaciona con niveles séricos altos de anticuerpos IgG e IgG2a específicos para ADN de doble cadena. El análisis citométrico, demostró que las células necróticas incrementa la expresión de MHC II, CD80, CD86 y CD40 en la superficie de CD comparadas con células apoptóticas. La activación de CD por células necróticas promueve respuestas autoinmunes TH1, conduciendo a una enfermedad sistémica autoinmune *in vivo*.⁴⁶

Los datos aportados arriba indican que el LES es una de las enfermedades con mayores defectos intrínsecos en la homeostasis de los subtipos de CD. Sin embargo, la correlación entre estos defectos y la actividad de la enfermedad y/o los protocolos de tratamiento no está claramente definida.^{47,48}

MATERIAL Y METODOS

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Determinar el porcentaje de células dendríticas circulantes Lin 1/CD11c+/CD1a+ en pacientes con LES e hiperprolactinemia y compararlo con sujetos sanos y en pacientes con LES sin hiperprolactinemia.

OBJETIVOS PARTICULARES:

1. Cuantificar el porcentaje de células dendríticas circulantes Lin 1/CD11c+/CD1a+ mediante citometría de flujo en sujetos sanos, en pacientes con LES e hiperprolactinemia y con LES sin hiperprolactinemia.
2. Analizar si existe una relación entre el porcentaje de células dendríticas, niveles de prolactina y actividad del LES.

TIPO Y DISEÑO DEL ESTUDIO.

Estudio básico, observacional, prospectivo, transversal, comparativo.

GRUPOS DE ESTUDIO.

- SUJETOS DE ESTUDIO

Pacientes del sexo femenino, con edad entre 20 y 40 años, con diagnóstico reciente de LES de acuerdo a los criterios de la ARA (ANEXO A), sin tratamiento inmunosupresor con ciclofosfamida, ciclosporina y azatioprina, que presenten hiperprolactinemia.

- CONTROLES. Formados por dos grupos:

- *Mujeres sanas*: Se obtendrá la sangre de mujeres voluntarias sanas con edad igual a la de los sujetos de estudio.
- *Mujeres con LES sin hiperprolactinemia*: Pacientes del sexo femenino, con edad entre 20 y 40 años, con diagnóstico reciente de LES de acuerdo a los criterios de la ARA, sin tratamiento inmunosupresor y sin hiperprolactinemia.

VARIABLES

A). VARIABLE INDEPENDIENTE:

1. *Niveles séricos de prolactina: Hiperprolactinemia o no hiperprolactinemia.*

Presencia de hiperprolactinemia con valores de $> 20\text{ng/ml}$ y no hiperprolactinemia con valores $4.0 - 20\text{ ng/ml}$ en suero.

Escala de medición: Nominal dicotómica.

B). VARIABLE DEPENDIENTE:

1. *Células dendríticas circulantes lin 1-/ CD11c+/CD1a+.*

Porcentaje mayor al valor superior de la desviación estándar o el porcentaje inferior menor a la desviación estándar, lin 1-/CD1a+/CD11c+.

Escala de medición: ordinal

2. *Actividad clínica de la enfermedad.*

Escala de *SLEDAI (Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index)* (ANEXO

B) para determinar el grado de actividad clínica de la enfermedad. Suma de la puntuación obtenida de acuerdo a la escala. ⁴⁹

Escalas de medición: ordinal

Se estudiaron los pacientes de la población derechohabiente pertenecientes al Servicio de Medicina Interna en hospitalización y consulta externa de la UMAE-Especialidades CMN la Raza, IMSS, la cual se identificó de manera consecutiva y que cumplía con los criterios de selección que se describen a continuación con previa autorización de consentimiento informado (ANEXO A). Antes del inicio del estudio se realizó estandarización y ajuste de los procedimientos a realizar. La recolección de datos se realizó en mujeres con diagnóstico de LES de acuerdo a los criterios del ACR, con un tiempo de evolución de la enfermedad menor a un año, y sin el uso de tratamiento inmunosupresor (Ciclofosfamida, azatioprina, metotrexate y ciclosporina), únicamente tratadas con esteroide oral y antipalúdico, que firmaran el consentimiento informado, se les realizó TAC de silla turca para descartar adenoma hipofisario, se determinó la actividad de la enfermedad mediante la realización de la escala de SLEDAI, y a su vez se determinó prolactina plasmática mediante inmunoensayo en el servicio de medicina nuclear y a su vez realización de citometría de flujo para medición de porcentajes de células dendríticas lin 1/CD1a+/CD11c+ de sangre periférica. De acuerdo a la presencia o no de hiperprolactinemia se realizaron dos grupos, y se formó un tercer grupo de mujeres sanas a las cuales se les realizó citometría de flujo para medición de porcentajes de células dendríticas lin 1/CD1a+/CD11c+ de sangre periférica y comparar con las pacientes con LES.

Los criterios de selección fueron los siguientes:

- CRITERIOS DE INCLUSION

- A. Pacientes femeninos de edades entre 20 y 40 años de edad.
- B. Diagnostico reciente de LES de acuerdo a los criterios de la ACR (ANEXO B).
- C. Diagnostico menor de 1 año de LES
- D. Índice de Actividad Clínica de la enfermedad SLEDAI (ANEXO C)
- E. Presencia de Hiperprolactinemia y no Hiperprolactinemia
- F. No uso de tratamiento inmunosupresor (ciclofosfamida, azatioprina, metotrexate y ciclosporina).
- G. Consentimiento por escrito de participación en el estudio (ANEXO A)

- CRITERIOS DE NO INCLUSION

- A. Depuración de Cr menor de 20ml/min
- B. Historia de adenoma hipofisiario descartado por TAC de silla turca.
- C. Historia de Hipotiroidismo.
- D. Ingesta de fármacos tales como: Cisaprida, metoclopramida, IMAO, ATC, fenotiazinas, alfa-metildopa, calcio-antagonistas.
- E. Lactancia.
- F. Historia de mastopatía fibroquística.
- G: Historia de Ovarios poliquísticos.

- CRITERIOS DE EXCLUSION

- A. Mujeres con LES y que estén embarazadas
- B. Pacientes que no acepten participar en el estudio.
- C. Pacientes que no firmen el consentimiento informado.

ANALISIS ESTADISTICO.

Se utilizó el programa SPSS para Windows Versión 13.0. Los datos se describieron como medias y desviación estándar de cada variable. Se realizó estandarización de variables con distribución no normal con el análisis de Kolmogorov-Smirnov, para su comparación. Las variables se compararon con el análisis de regresión lineal y ANOVA con $P \geq 0.01$, con nivel de confianza de 90%, ajustado con análisis de cuadrados mínimos.

RESULTADOS

Se estudiaron a 23 pacientes mujeres con diagnóstico de Lupus eritematoso sistémico de acuerdo a los criterios del ACR, con un tiempo de evolución de aproximadamente un año, y sin uso de tratamiento inmunosupresor como azatioprina, ciclofosfamida, ciclosporina o metotrexate, únicamente con tratamiento a base de prednisona y/o cloroquina, a los cuales se les midió niveles de prolactina plasmática mediante inmunoanálisis. A las pacientes con presencia de hiperprolactinemia ($>20\text{ng/ml}$), se les realizó TAC de silla turca para descartar la presencia de adenoma hipofisiario. Se excluyeron 2 pacientes en los cuales se documentó adenoma hipofisiario, una paciente con hipotiroidismo, una paciente con embarazo y una por no aceptar inclusión al estudio. A todas las pacientes se les determinó el grado clínico de la actividad de la enfermedad de acuerdo a la escala de SLEDAI. Se dividieron en dos grupos: Grupo 1 mujeres con LES e HPRL (N=10) y otro de mujeres con LES y PRL normal (N=8). Se creó un tercer grupo de mujeres sanas. A los tres grupos se les determinó el porcentaje de células dendríticas circulantes con marcadores lin 1-/CD1a+/CD11c+, mediante citometría de flujo.

En las tablas 1 y 2 se encuentran los datos demográficos de las pacientes con LES, como edad, concentración de PRL, escala de SLEDAI, porcentaje de células dendríticas CD1a+/CD11c+, CD1a+, CD11c+, leucocitos, linfocitos, uso o no de prednisona y/o cloroquina.

La tabla 3 muestra los datos demográficos de los controles sanos como edad y porcentaje de células dendríticas CD1a+/CD11c+, CD1a+, CD11c+.

Para el grupo de LES e HPRL la media de edad fue de 31.5 (± 4.71 DE), media de PRL de 34.4 (± 15.9 DE), media de escala de SLEDAI de 16.1 (± 7.7 DE), con una media del porcentaje de células dendríticas de 16.0 (± 8.2 DE), para CD1a+/CD11c+, de 19.5 (± 19.5 DE) para CD1a+, y de 1.02 (± 2.8 DE) para CD11c+. La media para los leucocitos y linfocitos fue de 8470 y 5620 respectivamente. El promedio de prednisona en este grupo fue de 14.5 mg, con un total de 7 pacientes con uso de cloroquina. Tabla 4.

En el grupo de LES y PRL normal la media de edad fue de 26.8 (± 7.0 DE), media de PRL de 14.8 (± 4.1 DE), una media de escala de SLEDAI de 9.8 (± 3.6 DE), con una media del porcentaje de células dendríticas de 19.1 % (± 9.3 DE), para CD1a+/CD11c+, de 23.0 % (± 7.8 DE) para CD1a+, y de 0.22 % (± 0.28 DE) para CD11c+. La media para los leucocitos y linfocitos fue de 8508 y 1473 respectivamente. El promedio de uso de prednisona en este grupo fue de 10.3 mg, con un total de 4 pacientes con uso de cloroquina. Tabla 5.

La media de edad para el grupo de mujeres sanas fue de 27.8 (± 3.9 DE), con una media del porcentaje de células dendríticas de 11.5 % (± 6.2 DE), para CD1a+/CD11c+, de 19.4 % (± 4.7 DE) para CD1a+, y de 0.90 % (± 0.56 DE) para CD11c+. Tabla 6.

La media de edad para los tres grupos fue de 28.8 (± 5.4 DE), para el porcentaje de células dendríticas fue de 15.3 % (± 8.2 DE), para CD1a+/CD11c+, de 20.5 % (± 6.2 DE) para CD1a+ y de 0.46% (± 1.7 DE) para CD11c+. La media de para la concentración de prolactina y de la calificación de SLEDAI para ambos grupo de LES con HPRL y PRL normal, fue de 25.7 (± 15.1 DE) y 13.3 (± 6.8 DE), respectivamente. Tabla 7.

En el grupo de LES e HPRL, la comparación de las variables PRL/SLEDAI, PRL/%CD1a/11c+, PRL/%CD1a+ y PRL/CD11a+ con la prueba de ANOVA, no se observó relación estadísticamente significativa. El coeficiente de relación fue de 0.24, 0.19, -0.20 y -0.17, respectivamente, indicando una relación débil entre las variables. La comparación de SLEDAI/%CD1a+/11c+, mostró una distribución normal, el análisis de regresión lineal y ANOVA con un valor de $p \geq 0.10$, concluyo que existe relación estadísticamente significativa. El coeficiente de relación fue de 0.55, indicando una relación moderadamente fuerte entre las variables. La comparación de SLEDAI/%CD11c+, SLEDAI/%CD1a+ con ANOVA no se observó relación estadísticamente significativa. El coeficiente de relación fue de -0.0011 y -0.035 indicando una relación relativamente débil entre las variables.

Para el grupo de LES y PRL normal, la comparación de las variables PRL/SLEDAI, PRL/%CD1a+/11c+, PRL/%CD1a+ y PRL/CD11c+, con la prueba de ANOVA no mostró relación estadísticamente significativa entre las cuatro comparaciones. El análisis de regresión lineal, mostró un coeficiente de relación de 0.31, 0.46, 0.44 y 0.34 respectivamente, con una relación débil entre las variables. La comparación de las variables SLEDAI/%CD1a+/CD11c+, SLEDAI/CD1a+ y SLEDAI/CD11c+, con ANOVA no se observó relación estadísticamente significativa, el análisis de regresión lineal

Figura 1. Muestra el promedio de edades entre grupos, siendo el 31.5 para el grupo de LES e HPRL, de 21.5 para el grupo de LES y PRL normal y de 27.8 para el grupo de controles sanos.

Figura 2. Muestra la asociación entre la relación entre la concentración de PRL y la actividad de la enfermedad de ambos grupos de pacientes con LES con HPRL y PRL normal.

Figura 3. Representa el porcentaje de células dendríticas CD1a+/CD11c+, CD1a+, y CD11c+, entre los tres grupos, evidenciando un mayor número de CD11c+, en el grupo de HPRL en comparación con los otros dos grupos y menor porcentaje de dobles positivas y CD1a+.

Figura 4. Señala la relación del porcentaje de células dendríticas en relación a el SLEDAI en mujeres con LES e HPRL. Representando un mayor porcentaje de células dendríticas inmaduras CD1a+ a menor SLEDAI, y un porcentaje mayor de células dendríticas maduras CD1a+/CD11c+ a mayor SLEDAI.

Figura 5. Muestra la relación del porcentaje de células dendríticas en relación a el SLEDAI en mujeres con LES e PRL normal. Se observa predominio un mayor porcentaje de células dendríticas inmaduras CD1a+ en un rango de SLEDAI de 5 a 20 en comparación con células dendríticas maduras CD1a+/CD11c+.

Figura 6 y 7. Representa la asociación de la PRL y el porcentaje de células dendríticas CD1a+/CD11c+ y CD1a+ de pacientes con LES e HPRL y PRL normal respectivamente. La comparación de ambas graficas muestra una imagen casi en espejo, donde las pacientes con PRL normal hay un discreto predominio de un mayor porcentaje de células dendríticas CD1a+ inmaduras, con un discreto aumento progresivo al nivel de corte de 20ng/ml de prolactina en relación a las células doble positivas, lo que la grafica de las pacientes con hiperprolactinemia, muestra de manera inversa, con un predominio de células doble positivas maduras en relación a las células simples positivas, y con un descenso aparente, en relación a un aumento progresivo de la concentración de prolactina.

DISCUSION

Se ha descrito en la literatura médica, las posibles interacciones entre la hormona prolactina y el sistema inmunológico, así como su posible papel en la patogénesis de algunas enfermedades reumáticas, en especial en el lupus eritematoso sistémico.⁵¹ Diversos autores han investigado la significancia de la prolactina en la actividad clínica y serológica del LES, encontrando una asociación importante^{52, 53, 54} Por otra parte se sabe que la prolactina tiene una acción moduladora del sistema inmunológico y de las respuestas inflamatorias, debido a la presencia de receptores para PRL y su síntesis por parte de células del sistema inmunológico.^{42, 55, 56} Se ha observado que algunas de las anomalías del sistema inmunológico y la presencia de linfocitos T y B autorreactivos en el lupus, sugiere que posiblemente deriven de alteraciones en las células dendríticas, que son células presentadoras de antígenos que inducen y regulan muchas de las respuestas inmunes. Hay pocos estudios que describen las alteraciones de estas células en pacientes con LES, algunos reportan una disminución de su número en sangre, en comparación con controles sanos, en especial el subtipo de estirpe mieloide CD11c+, en comparación con CD11c- y sujetos sanos.⁵⁷ Hasta el momento no hay estudios en el cual este presente la variable de hiperprolactinemia y describa su papel en este tipo de células y de la enfermedad. Algunos autores han descrito su el papel de la prolactina sobre las células dendríticas, en las cuales se presenta un mayor incremento en la expresión de algunas moléculas de coestimulación, como marcadores de diferenciación CD1a mieloide, marcadores de maduración como CD86, CD80, HLA-DR, y la síntesis de algunas citocinas, así como su capacidad para el procesamiento y presentación de antígenos.⁵⁸ Estos datos sugieren que la

prolactina puede regular fisiológicamente y patológicamente la respuesta inmune, cambiando la viabilidad, fenotipo, capacidad estimuladora y expresión de citocinas de las células dendríticas.⁴⁴ Nuestros resultados concuerdan con lo descrito en la literatura, respecto a la asociación entre la concentración de prolactina y la actividad clínica de la enfermedad en pacientes con LES. Sin embargo, difieren en cuanto a la frecuencia de CD en sangre periférica, tanto en sujetos con LES como sanos. En ambos grupos de LES, se encontró un mayor número de células CD1a+/CD11c+, con un mayor predominio de CD1a+ en el grupo de LES con prolactina normal, y un porcentaje discretamente mayor de células CD11c+ en el grupo de LES con HPRL, siendo en comparación menor en el grupo sano. Encontramos que los pacientes con HPRL tienen asociación positiva entre el porcentaje de células maduras CD1a+/CD11c+ y una mayor actividad clínica, en comparación con los sujetos con LES y prolactina normal. Así también se observó un predominio de células maduras doble positivas en relación a concentraciones mayores de prolactina, lo que podría explicar una posible acción de esta, sobre maduración morfofuncional, lo que favorecería una mayor capacidad para captación y presentación de antígenos, así también, un incremento en la actividad clínica y posiblemente serológica de la enfermedad. De manera inversa las células con marcador CD1a+, se aprecia un número menor, lo que también indicaría una menor maduración. Sin embargo hay datos descritos que refieren fluctuaciones en el número de células dendríticas, o una posible migración a otros órganos como lo es la piel u órganos linfoides¹¹, sin embargo los resultados descritos, y los reportados, reafirman anomalías en esta población celular, con una asociación a la presencia de alteraciones clínicas de la enfermedad, que hasta el

momento no son muy claras, y que pueden tener tanto implicaciones terapéuticas como pronósticas de la patología en estudio. Muchas de nuestras observaciones del lupus apuntan, hacia un aumento en la maduración de las células dendríticas, en la que posiblemente otros factores estén involucrados en la patogenia de la enfermedad, como lo puede ser la prolactina, promoviendo la maduración de las células dendríticas, y que estas células maduras inducen respuestas de tipo autoinmunes de manera constante en el LES. ^{59, 60, 61, 62}

CONCLUSIONES

1. Hasta el momento no hay estudios en los cuales se estudien dentro del lupus eritematoso sistémico, el número de células dendríticas y sus subpoblaciones, así como su actividad de presentación de antígenos y su caracterización fenotípica y morfológica en relación a otra variable como lo es la hiperprolactinemia.
2. Nuestros datos reportan una asociación entre las concentraciones de prolactina y una mayor actividad clínica en el LES.
3. Encontramos un mayor número de células dendríticas mieloides CD11c+ en pacientes con HPRL en comparación con las que tenían prolactina normal y sanas, con una asociación estadísticamente significativa.
4. Consideramos que la prolactina tiene una implicación en la maduración morfofuncional de las células dendríticas, y esto a su vez en una respuesta autoinmune y mayor actividad clínica de la enfermedad.
5. Entender la inmunobiología de las CD de sus distintas etapas de diferenciación y el papel que juegan las diversas subpoblaciones, en el mantenimiento de la tolerancia periférica para mantener la homeostasis del sistema inmune, propone el estudio más extenso de los subtipos de CD en el prototipo de las enfermedades autoinmunes, el lupus eritematoso sistémico, para establecer terapias específicas.

BIBLIOGRAFIA

1. Hochberg MC. Systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin North Am* 1990;16:617-639.
2. Mills JA. Systemic Lupus Erythematosus. *NEJM* 1994;330:1871-1879.
3. Moltich ME: Disorders of pituitary lactotroph. En: Adashi EY, Rock JA, Rosenwaks Z ed. *Reproductive Endocrinology, Surgery and Technology*. Philadelphia. Lippincott-Raven, 1995, 1304-21.
4. Montgomery DW. Prolactin production by immune cells. *Lupus* 2001;10:665-75.
5. Nagy E, Berczi I. Immunodeficiency in hypophysectomized rats. *Acta Endocrinol* 1978; 89:530-7.
6. Rusell DH, Matrisian L, Kibler R, Larson DF. Prolactin receptors on human lymphocytes and their modulation by cyclosporine. *Biochem Biophys Commun* 1984; 121:899-906.
7. Matera L, Muccioli G, Casano A, Bellusi. Prolactin receptors on large granular lymphocytes: dual regulation. *Brain Behav Immun* 1988;1:1-10.
8. Friessen HG, Gerther A, Walker A. Mechanism of action of prolactin in stimulating cell growth. In: MacLeod RM, Thorne MO, editors. *Prolactin: basic and clinical correlates*. Padova: Liviana Press, 1985: 315-26.
9. Matera L, Cufia M, Geuna M, et al. Prolactin as an autocrine growth factor for the Jukart human T-leukemic cell line. *J Neuroimmunol* 1997; 79: 12-21.
10. Yu-Lee L-Y. Prolactin Modulation of Immune and Inflammatory Responses. *Recent Progress in Hormone Research* 2002: 57: 435-455.

11. Clevenger CV, Freier O, Kline JB. Prolactin receptor signal transduction in cells of the immune system. *Journal of Endocrinology* (1998) 157, 187–197.
12. Theofilopoulos AN. Murine models of lupus. In: Lahita RG. *Systemic Lupus Erythematosus*, 2da Ed. Churchill Livingstone:New York, 1992. pp 121-194.
13. Shevach, E. M. Regulatory/suppressor T cells in health and disease. *Arthritis Rheum.*2004; 50, 2721–2724.
14. Mastorakos G, Chrousos GP, Weber JS. Recombinant interleukin-6 activates the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1993;77:1690–4.
15. Köller M, Templ E, Riedl M, et al. Pituitary function in patients with diagnosed untreated systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2004;63:1677–1680.
16. Ranki A, Kurki P, Riepponen S, Stephansson E. Antibodies to retroviral proteins in autoimmune connective tissue disease: relation to clinical manifestations and ribonucleoprotein autoantibodies. *Arthritis Rheum* 1992;35:1483-1491.
17. Jara L, Vera O, Miranda J, et al. Prolactin in human systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2001;10: 748-756.
18. Miranda JM, Prieto RE, Paniagua R, Garcia G, Amato D, Barile L, et al. Clinical significance of serum and urine prolactin levels in lupus glomerulonephritis. *Lupus* 1998;7: 387–91.
19. Dorshkind K, Horseman ND. Anterior pituitary hormones, stress, and immune system homeostasis. *Bioessays* 2001; 23:288–94.
20. Buskila D, Berezin M, Gur H, Lin HC, Alosachie I, Terryberry JW, et al. Autoantibody profile in the sera of women with hyperprolactinemia. *J Autoimmun* 1995;8:415–24.

21. Krause I, Blumenfeld Z, Malchinsky M, Cohen S, Blank M, Eldor A, *et al.* Anti-endothelial cell antibodies in the sera of hyperprolactinemic women. *Lupus* 1998;7:377–82.
22. Leaños-Miranda A, Chávez-Rueda KA, Blanco-Favela F. Biologic Activity and Plasma Clearance of Prolactin-IgG Complex in Patients With Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum* 2001;44:866-75.
23. Leaños-Miranda A, Pascoe D, Fraga A, Blanco-Favela F. Anti-prolactin autoantibodies in systemic lupus erythematosus with associated hiperprolactinemia. *Lupus* 1998;7:398-403.
24. Walker SE, McMurray R, Houry JM, Allen SH, Keisler D, Sharp GC: Effects of Prolactin in stimulating disease activity in systemic lupus erythematosus. *Ann N Y Acad Sci* 1998, 840: 762–772.
25. McMurray RW. Prolactin in murine systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2001;10:742-747.
26. McMurray RW, Weidensaul D, Allen SH, Walker SE. Efficacy of bromocriptine in an open label therapeutic trial for systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1995;22: 2084–91.
27. Bukley AR. Prolactin, a lymphocyte growth and survival factor. *Lupus* 2001;10:684-90.
28. Mehling A, Beissert S. Dendritic Cells Under Investigation in Autoimmune Disease. [Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology](#) 2003; 38:1-21.
29. Matera L, Mori M. Cooperation of Pituitary Hormone Prolactin with Interleukin-2 and Interleukin-12 on Production of Interferon-gamma by Natural Killer and T Cells. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2000; 917:505-513.

30. [Matera L](#), [Galetto A](#), [Geuna M](#), [Vekemans K](#), [Ricotti E](#), [Contarini M](#), [Moro F](#), [Basso G](#). Individual and combined effect of granulocyte-macrophage colony-stimulating factor and prolactin on maturation of dendritic cells from blood monocytes under serum-free conditions. [Immunology](#). 2000;100:29-36.
31. Montgomery DW, Shen GK, Ulrich ED, Et al. Human Thymocytes express a prolactin-Like messenger ribonucleic acid and synthesize bioactive prolactin-like protein. *Endocrinology*1992;131;3019-26.
32. O`Neal KD, Montgomery DW, Truong TM, et al. Prolactin gene expression in human thymocytes. *Mol Cell Endocrinol* 1992;87;R19-R23.
33. Matera L, Beltramo E, Martinuzzi E, et al. Effect of prolactin on carcinoembryonic antigen-specific cytotoxic T lymphocyte response induced by dendritic cells. *Clin Exp Immunol* 2004;137:320-28.
34. Matera L, Mori M, Galetto A. Effect of prolactin on the antigen presenting function of monocyte-derived dendritic cells. [Lupus](#) 2001: 10; 728-735.
35. Steinman R, Cohn Z. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. *J Exp Med* 1973; 137: 1142-62.
36. Pérez-Torres A, Castell-Rodríguez A. La célula de Langerhans. III, El sistema de las Células de Langerhans. *LAB-acta* 1989;4:25-29.
37. Banchereau J, Steinman R. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998;392:245-252.
38. Briere F, Bendriss-Vermare N, Delale T, et al. Origin and Filiation of Human Plasmacytoid Dendritic Cells. *Human Immunology* 2002; 63:1081-1093.
39. Cuellar A, Cifuentes C, Gómez A, et al. Biología de las Celulas Dendriticas Humanas. *Universitas Scientiarum*2004;9:5-12.

40. Palucka K, Banchereau J, Blanco P, et al. The Interplay of dendritic cells subsets in systemic lupus erythematosus. *Immunology and Cell Biology* 2002;80:484-488.
41. Gill MA, Blanco P, Arce E, et al. Blood Dendritic Cells and DC-Poietins in Systemic Lupus Erythematosus. *Human Immunology* 2002;63:1172-1180.
42. Sheincker C, Zwolfer B, Koller M, et al. Alterations of Dendritic Cells in Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis Rheum* 2001;44:856-865.
43. Chan N, Trendell-Smith C, Lo C, et al. Late Breaking Abstracts: Basic Sciences Necrotic Cells Induce Systemic Autoimmune Disease in vivo by Activation of Dendritic Cells (DCs).
44. Farkas L, Beiske K, Lund-Johansen F, et al. Plasmacytoid Dendritic Cells(Natural Interferon- α/β -Producing Cells) Accumulate in Cutaneous Lupus Erythematosus Lesions. *AJP* 2001;159:237-243.
45. Robak E, Smolewski P, Wozniacka A, et al. Relationship between peripheral blood dendritic cells and cytokines involved the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Eur Cytokine Netw* 2004;15:222-30.
46. Tanja L, Maija_Leena E, Ullvi B, et al. Induction of interferon alfa production in plasmacytoid dendritic cells by immune complexes containing nucleic acid by necrotic or late apoptotic cells and lupus IgG. *Arthritis Rheum* 2004;50:1861-72.
47. Pasare C, Medzhitov R. Control of B-cell responses by Toll-like receptors. *Nature* 2005; 438, 364–368.
48. Jahnsen FL, Farkas L, et al. Involvement of Plasmacytoid Dendritic Cells in Human Diseases. *Human Immunology* 2002;63:1201-05.

49. Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, et al. Derivation of the SLEDAI. *Arthritis Rheum* 1992;35:630-40.
50. Petri M, Magder L. Classification criteria for systemic lupus erythematosus: a review. *Lupus* 2004;13:829-37.
51. Parada T, Targonska SB, Majdan M. Prolactin in connective tissue diseases. *Postepy Hig Med Dosw* 2006; 60: 278-85.
52. Rezaieyazdi Z, Hesamifard A. Correlation between serum prolactin levels and lupus activity. *Rheumatol Int* 2006; 11: 1036-39.
53. Leañós-Miranda A, Cardenas-Mondragon G. Serum free prolactin concentrations in patients with systemic lupus erythematosus are associated with lupus activity. *Rheumatology* 2006; 45: 97-101.
54. Vera O, Mendez C, Jara LJ, et al. Correlation of Prolactin Serum Concentrations with Clinical Activity and Remission in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. Effect of Conventional Treatment. *J Rheumatol* 2003; 30: 2140-46.
55. Mendez I, Carino C, Díaz L. Prolactin in the Immunological system: síntesis and biological effects. *Rev Invest Clin* 2005; 57:447-56.
56. Yu-lee LY. Prolactin modulation of immune and inflammatory responses. *Recent Prog Horm Res* 2002; 57: 435-55. Reber PM. Prolactin and immunomodulation. *Am J Med* 1993;95: 637-44.
57. Yang L, Hu Y, Li X, et al. Prolactin modulates the functions of murine spleen CD11c-positive dendritic cells. *Int Immunopharmacol* 2006; 6: 1478-86.

58. Ding D, Mehta H, McCune WJ, et al. Aberrant phenotype and function of myeloid dendritic cells in systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2006; 177: 5878-89.
59. Pacilio M, Migliaresi S, Meli R, et al. Elevated bioactive prolactin levels in systemic lupus erythematosus-association with disease activity. *J Rheumatol* 2001; 28:2216-21.
60. Jacobi AM, Rohde W, Ventz M, et al. Enhanced serum prolactin (PRL) in patients with systemic lupus erythematosus levels are related to the disease activity. *Lupus* 2001; 10: 554-61.
61. Jara LJ, Navarro C, Medina G, et al. Immune-neuroendocrine interactions and autoimmune diseases. *Clin Develop Immun* 2006; 13: 109-123.
62. Robak E, Smolewski P, Wozniacka A, et al. Clinical significance of circulating dendritic cells in patients with systemic lupus erythematosus. *Mediators Inflamm* 2004; 13: 171-80.

ANEXOS

CRITERIOS DE CLASIFICACION DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO DEL ACR 1982.

CRITERIO	DEFINICION
1. Eritema malar	Eritema fijo, plano o elevado sobre los pómulos.
2. Eritema discoide	Placas elevadas de eritema con descamación queratósica adherente y taponamiento folicular; a veces, se observan cicatrices atróficas.
3. Fotosensibilidad	
4. Ulceras bucales	Ulceras bucales y nasofaríngeas observadas por el medico.
5. Artritis	Artritis no erosiva con afección de dos o más articulaciones periféricas, que se caracteriza por dolor, tumefacción o derrame.
6. Serositis	Pleuritis o pericarditis confirmadas mediante ECG, roce o signos de derrame.
7. Enfermedad renal	Proteinuria >0.5g/día o de 3+ o cilindros celulares.
8. Enfermedad neurológica	Convulsiones sin ninguna otra causa o psicosis sin ninguna causa conocida.
9. Enfermedad hematológica	Anemia hemolítica o leucopenia (<4000/ μ L), linfopenia (<1500/ μ L), o trombocitopenia (<100 000/ μ L), después de descartar daño iatrogénico.
10. Trastornos inmunitarios	Célula LE positiva, o anticuerpo anti-ADNdc o anti-sm, prueba de VDRL falsamente positiva.
11. Anticuerpos antinucleares	Título anormal de ANA mediante inmunofluorescencia o técnica equivalente en cualquier momento, después de descartar daño por medicamentos que inducen ANA.

* Con cuatro de estos criterios, el diagnóstico de lupus se establece con una especificidad del 98% y una sensibilidad del 97%, en cualquier momento de la enfermedad. *Lupus 2004;13;829-37.*

|

ANEXO
INDICE DE ACTIVIDAD DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO
(SLEDAI).

VALOR	PUNTOS	DESCRIPCION	DEFINICION
8		Convulsiones	Aparición reciente. Excluir causa metabólica, infecciosa y farmacológica.
8		Psicosis	Incapacidad para realizar una actividad normal por alteraciones graves de la percepción de la realidad. Incluye alucinaciones, incoherencia, asociaciones marcadamente dispersas, deficiencia del contenido del pensamiento, pensamiento demasiado ilógico, conducta grotesca, desorganizada o catatónica. Excluir uremia y causas farmacológicas.
8		Síndrome orgánico cerebral	Afección de la función mental con alteración de la orientación, memoria u otras funciones intelectuales, de inicio rápido y datos clínicos fluctuantes, incluye nublamiento de la conciencia con menor capacidad de atención e incapacidad para mantener la atención al ambiente, y al menos dos de las siguientes: trastorno de la percepción, habla incoherente, insomnio o somnolencia diurna, o aumento o disminución de la actividad psicomotora. Excluir causa metabólica, infecciosa y farmacológica.
8		Alteraciones visuales	Alteraciones retinianas en el LES. Incluye cuerpos citoides, hemorragias retinianas, exudado seroso, hemorragias coroideas o neuritis óptica. Excluir hipertensión, infección o causa farmacológica.
8		Alteración de pares craneales	Neuropatía motora o sensorial de aparición reciente que afecta los pares craneales.
8		Cefalea lúpica	Cefalea intensa y persistente: Puede ser migrañosa y no responder a analgésicos narcóticos.
8		Enfermedad vascular cerebral	Apoplejía de inicio reciente: Excluir aterosclerosis
8		Vasculitis	Ulceración, gangrena, nódulos dolorosos en los dedos, infarto periungueal, hemorragias en astilla o prueba de vasculitis mediante biopsia o angiografía.
4		Artritis	Más de 2 articulaciones dolorosas y con signos de inflamación,
4		Miositis	Dolor y debilidad de músculos proximales asociados con elevación de CPK o aldolasa, alteraciones electromiográficas o biopsia.
4		Cilindros urinarios	Cilindros hemáticos granulosos o eritrocitarios.
4		Hematuria	>5 eritrocitos por campo. Excluir litiasis, infección u otra causa.
4		Proteinuria	>0.5 g/24 h. Aparición reciente o aumento de > de 0.5 g/24 h.
4		Piuria	> 5 leucocitos por campo. Excluir infección.
2		Exantema	Aparición reciente o recurrencia de exantema inflamatorio.
2		Alopecia	Aparición reciente o recurrencia de pérdida anormal de cabello en placas o difusa.
2		Úlceras mucosas	Aparición reciente o recurrencia de úlceras orales o nasales.
2		Pleuritis	Dolor torácico de tipo derrame pleural con frote o derrame pleural, o engrosamiento pleural.
2		Pericarditis	Dolor pericárdico con uno de los siguientes puntos: frote, derrame, o confirmación electrocardiográfica o ecocardiográfica.
2		Complemento bajo	Disminución de CH50, C3 o C4 por debajo de los límites normales del laboratorio.
2		Aumento de anticuerpos anti-ADN	Captación de ADN > 25% mediante técnica de FArr o por encima de los valores normales de laboratorio.
1		Fiebre	Más de 38°C. Excluir infección.
1		Trombocitopenia	< 100 000 plaquetas/mm ³ .
1		Leucopenia	< 3000 leucocitos/mm ³ .
TOTAL			

Arthritis Rheum 1992;35:630-40.

ANEXO
HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

Nombre _____

Afiliación _____ Fecha de nacimiento _____

Dirección _____ Teléfono _____ Sexo M F

Edad: _____

ANTECEDENTES

Fecha de inicio del LES _____

Historia de adenoma hipofisario: SI () NO ()

Historia de hipotiroidismo SI () NO ()

Historia de mastopatía fibroquística SI () NO ()

Historia de ovarios poliquísticos SI () NO ()

Lactancia actual SI () NO ()

Ingesta en los últimos 7 días de: Metoclopramida, cisaprida, alfa-metildopa, antidepresivos (IMAO, ATC),
fenotiacina o calcioantagonistas. SI () NO ()

Insuficiencia renal crónica SI () NO ()

SLEDAI

Total: _____

Anote el valor en el SLEDAI si el dato clínico o de laboratorio está presente al tiempo de esta visita ó en los 10 días previos.

Tensión Arterial: _____ Frec. Cardíaca: _____ Frec. Respiratoria: _____ Peso
(Kg): _____

Talla: _____ Temperatura: _____

TRATAMIENTO ACTUAL:

MEDICAMENTOS	DOSIS	DURACION
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____
_____	_____	_____

TIPO DE LES:

Marque el tipo(s) de afección del lupus (actual y/o en el pasado) en este paciente. No incluye complicaciones por la terapia ejemplo: úlcera gástrica, aplasia medular, osteonecrosis, etc. Solo aquellas manifestaciones atribuibles a LES o por antifosfolípido secundario.

- | Circule la(s) manifestaciones | Especifique fecha de inicio (m/a) |
|---|-----------------------------------|
| <input type="checkbox"/> Cutáneo (rash malar, discoide, subcutáneo, etc) | _____ |
| <input type="checkbox"/> Articular (artritis, no incluye artralgias) | _____ |
| <input type="checkbox"/> Hematológico (anemia hemolítica, trombocitopenia) | _____ |
| <input type="checkbox"/> Renal (excluyendo IVV, litiasis, menstruación, etc) | _____ |
| <input type="checkbox"/> Neurológico y/o Psiquiátrico (EVC, SOC, psicosis) | _____ |
| <input type="checkbox"/> Gastrointestinal (hepatitis, pancreatitis, abd. agudo) | _____ |
| <input type="checkbox"/> Serosas (pleura, pericardio, peritoneo) | _____ |
| <input type="checkbox"/> Cardio- Pulm (neumonitis, hemorragia, miocarditis) | _____ |
| <input type="checkbox"/> Vascular (trombosis arte/ven, TEP, vasculitis, etc) | _____ |

LABORATORIO

- | | |
|---------------------|---------------------|
| Hb _____ | VSG (mm/hr) _____ |
| Hto _____ | PCR _____ |
| Leucos _____ | Factor Reum _____ |
| Linfos _____ | Glucosa _____ |
| Plaquetas _____ | Urea _____ |
| TP _____ | Creatini _____ |
| TTP _____ | Colesterol _____ |
| | Triglic _____ |
| EGO PH _____ | TGO _____ |
| Dens _____ | TGP _____ |
| Eritroc _____ | DHL _____ |
| Leucos _____ | Prot, Totales _____ |
| Cilindros _____ | Alb _____ |
| Proteínas _____ | Glob _____ |
| Bacterias _____ | |

Depuración de Creatinina en orina de 24 hrs _____ Albúmina en orina de 24 horas _____

Anti DNA: positivo _____ negativo _____ C3 _____ C4 _____

Prolactina: _____ TSH: _____

Otros: _____

ANEXO

METODO DE PROCESAMIENTO PARA ESTANDARIZACIÓN Y CARACTERIZACION FENOTIPICA DE CELULAS DENDRITICAS PARA CITOMETRIA DE FLUJO.

1. Se utilizó la siguiente lista de anticuerpos monoclonales para estandarización y caracterización de las células:

A. ISOTIPOS.

- a. Anticuerpo monoclonal IgG 1.k de ratón anti-humano conjugado con fluorocromo PE-Cy5 (BD Pharmigen).
- b. Anticuerpo monoclonal IgE de ratón anti-humano conjugado con fluorocromo CyCrome (BD Pharmigen).
- c. Anticuerpo monoclonal IgG de ratón anti-humano conjugado con fluorocromo FITC (Coulter clone).
- d. Anticuerpo monoclonal IgG de ratón anti-CD8 humano conjugado con fluorocromo PE (BD Pharmigen).
- e. Anticuerpo monoclonal IgG de ratón anti-CD28 humano conjugado con PE-Cy5 (BD Pharmigen).

B. ANTICUERPOS PARA CARACTERIZACION DE CD.

- a. Anticuerpos monoclonales IgG₁, IgG₂ lineage cocktail 1 (lin 1) (CD3, clona SK7 - CD14, clona M ϕ P9 - CD16, clona 3G8 - CD19, SJ25C1 - CD20, clona L27 - CD56, clona NCAM16.2) conjugados con fluorocromo FITC, (Becton Dickinson).
- b. Anticuerpo monoclonal IgG₁ de ratón anti-CD1a humano conjugado con fluorocromo PE-Cy5, clona HI149 (BD Pharmigen).
- c. Anticuerpo monoclonal IgG_{2b} de ratón anti-CD11c humano conjugado con fluorocromo PE, clona S-HCL-3 (Becton Dickinson).

Estos anticuerpos se utilizaron para estandarización de parámetros del citómetro para poder establecer y caracterizar a las células dendríticas.

2. Para la estandarización de los parámetros del citómetro de flujo y caracterización de las células dendríticas de las pacientes y controles se realizó el siguiente proceso:

Colocar 100 μ l de sangre de cada paciente y control en tubo de citometría por cada sujeto.

Agregar a cada tubo las siguientes cantidades de cada anticuerpo:

- 10 μ l Cocktail lin1 - FITC
- 10 μ l C1a-PE/Cy5
- 10 μ l CD11c-PE

Incubar durante 20 minutos a temperatura ambiente y en oscuridad.

Agregar posteriormente a cada tubo 100 μ l de solución de buffer de lisis para eritrocitos y coloca durante 10 segundos en vortex.

Agregar 30 μ l de paraformaldehído al 8% y colocar en vortex por 10 segundos.

Centrifugar a 2000 RPM por 5 minutos a 4°C.

Retirar sobrenadante y resuspender con 500 μ l de solución de PBS.

Cada uno se leyó en el citómetro de flujo y se guardaron los datos en un archivo para su posterior análisis bajo el soporte WinMDI.

ANEXO**PARAMETROS DE LECTURA DE CITOMETRO PARA LECTURA DE CELULAS DENDRITICAS.**

CANAL		VOLTAJE	AMPLITUD	MODO
P1	FSC	0	1.93	-
P2	SSC	382	1.00	-
P3	FL1	659	0	Log
P4	FL2	598	0	Log
P5	FL3	659	0	-

COMPENSACION

FL1 - 6.8%	FL2
FL2 - 43%	FL1
FL2 - 1.1%	FL3
FL3 - 12.6%	FL2

TABLAS

Tabla 1. Datos demográficos de pacientes con LES e hiperprolactinemia

N =10	EDAD (años)	PRL (ng/ml)	SLEDAI	% CD1a+/11c+	%CD1a+	%CD11c+	Leuc/mm ³	Linf/mm ³	PDN mg/d	CQ
1	32	41.4	6	18.2	12.6	0.2	4700	1786	0	SI
2	24	23.1	17	7.7	18.2	0	6300	2961	0	SI
3	28	68.1	16	11.1	18.1	0.1	9800	2744	20	0
4	36	25.2	7	7.3	34.7	0.1	8000	2640	0	0
5	28	55.8	11	15.1	21.1	0.1	5800	2268	5	SI
6	31	25.4	16	21.4	16.8	9.2	15600	35800	7.5	SI
7	33	22.8	18	12.1	16.6	0.1	5100	1326	5	SI
8	28	29.7	14	10.5	21.5	0	9000	1620	5	SI
9	40	20.8	24	33.2	21.9	0.3	9700	970	50	0
10	35	32	32	23.8	14.2	0.1	10700	4173	50	SI

Leuc = Leucocitos (5000 – 10,000/mm³), Linf 0 Linfocitos (1000 -3000 mm³), PDN = Prednisona mg/día, CQ = Cloroquina (150 mg/día), DE = Desviación estandar.

Tabla 2. Datos demográficos de pacientes con LES y prolactina normal.

N = 8	EDAD (años)	PRL (ng/ml)	SLEDAI	% CD1a+/11c+	%CD1a+	%CD11c+	Leuc/Mm ³	Linf/mm ³	PDN mg/d	CQ
1	32	18.6	12	14.6	17.4	0.9	8200	366	20	SI
2	20	10.3	12	12.9	21.1	0.1	11200	816	10	0
3	30	16.9	6	17.3	18	0.1	14900	3129	25	0
4	39	12.6	7	20.3	24.9	0.1	6700	1442	0	SI
5	21	16.1	10	16.2	19.1	0.1	15600	3580	7.5	0
6	21	19.2	17	35.4	32	0.3	2600	364	5	SI
7	21	7.7	8	29.8	14.9	0.2	4900	539	15	0
8	31	17.5	7	6.5	37.2	0	3970	1548	0	SI

Leuc = Leucocitos (5000 – 10,000/mm³), Linf 0 Linfocitos (1000 -3000 mm³), PDN = Prednisona mg/día, CQ = Cloroquina (150 mg/día), DE = Desviación estandar.

Tabla 3. Datos demográficos de controles sanos

No =10	EDAD (años)	PRL (ng/ml)	SLEDAI	% CD1a/11c+	%CD1a+	%CD11c+
1	28	<20	0	12	20.9	0.1
2	20	<20	0	6.4	26.1	0.1
3	29	<20	0	3.6	27.5	0
4	24	<20	0	9.8	15.1	0.1
5	32	<20	0	8.9	14.8	0.1
6	27	<20	0	13.5	18.9	0.1
7	26	<20	0	8.9	14.8	0.1
8	34	<20	0	18.4	18.3	0
9	30	<20	0	9	23	0.1
10	28	<20	0	25.2	15.2	0.2

DE = Desviación estándar.

Tabla 4. Estadística descriptiva de pacientes con LES e hiperprolactinemia.

	EDAD	PRL	SLEDAI	CD1aCD11c	CD1a	CD11c	Leucocitos	Linfocitos
N Válidos	10	10	10	10	10	10	10	10
Perdidos	0	0	0	0	0	0	0	0
Media	31.5000	34.4300	16.1000	16.0400	19.5700	1.0200	8470.0000	5628.8000
Mediana	31.5000	27.5500	16.0000	13.6000	18.1500	.1000	8500.0000	2454.0000
Moda	28.00	20.80(a)	16.00	7.30(a)	12.60(a)	.10	4700.00(a)	970.00(a)
Desv. típ.	4.71993	15.92811	7.70930	8.20247	6.13153	2.87549	3282.96952	10641.34436
Varianza	22.278	253.705	59.433	67.280	37.596	8.268	10777888.889	113238209.733
Asimetría	.265	1.411	.786	1.028	1.772	3.157	1.008	3.118
Error típ. de asimetría	.687	.687	.687	.687	.687	.687	.687	.687
Curtosis	-.206	1.018	.961	.658	4.275	9.975	1.332	9.792
Error típ. de curtosis	1.334	1.334	1.334	1.334	1.334	1.334	1.334	1.334
Rango	16.00	47.30	26.00	25.90	22.10	9.20	10900.00	34830.00
Mínimo	24.00	20.80	6.00	7.30	12.60	.00	4700.00	970.00
Máximo	40.00	68.10	32.00	33.20	34.70	9.20	15600.00	35800.00

a Existen varias modas. Se mostrará el menor de los valores.

Tabla 5. Estadística descriptiva de pacientes con LES y prolactina normal.

	EDAD	PRL	SLEDAI	CD1aCD11c	CD1a	CD11c	Leucocitos	Linfocitos
N Válidos	8	8	8	8	8	8	8	8
Perdidos	2	2	2	2	2	2	2	2
Media	26.8750	14.8625	9.8750	19.1250	23.0750	.2250	8508.7500	1473.0000
Mediana	25.5000	16.5000	9.0000	16.7500	20.1000	.1000	7450.0000	1129.0000
Moda	21.00	7.70(a)	7.00(a)	6.50(a)	14.90(a)	.10	2600.00(a)	364.00(a)
Desv. típ.	7.07990	4.18601	3.68152	9.34050	7.81020	.28661	4932.11469	1250.58306
Varianza	50.125	17.523	13.554	87.245	60.999	.082	24325755.357	1563958.000
Asimetría	.582	-.809	1.025	.737	1.041	2.336	.452	.981
Error típ. de asimetría	.752	.752	.752	.752	.752	.752	.752	.752
Curtosis	-1.011	-.759	.685	.080	-.054	5.830	-1.381	-.528
Error típ. de curtosis	1.481	1.481	1.481	1.481	1.481	1.481	1.481	1.481
Rango	19.00	11.50	11.00	28.90	22.30	.90	13000.00	3216.00
Mínimo	20.00	7.70	6.00	6.50	14.90	.00	2600.00	364.00
Máximo	39.00	19.20	17.00	35.40	37.20	.90	15600.00	3580.00

a Existen varias modas. Se mostrará el menor de los valores.

Tabla 6. Estadística descriptiva de pacientes sanas.

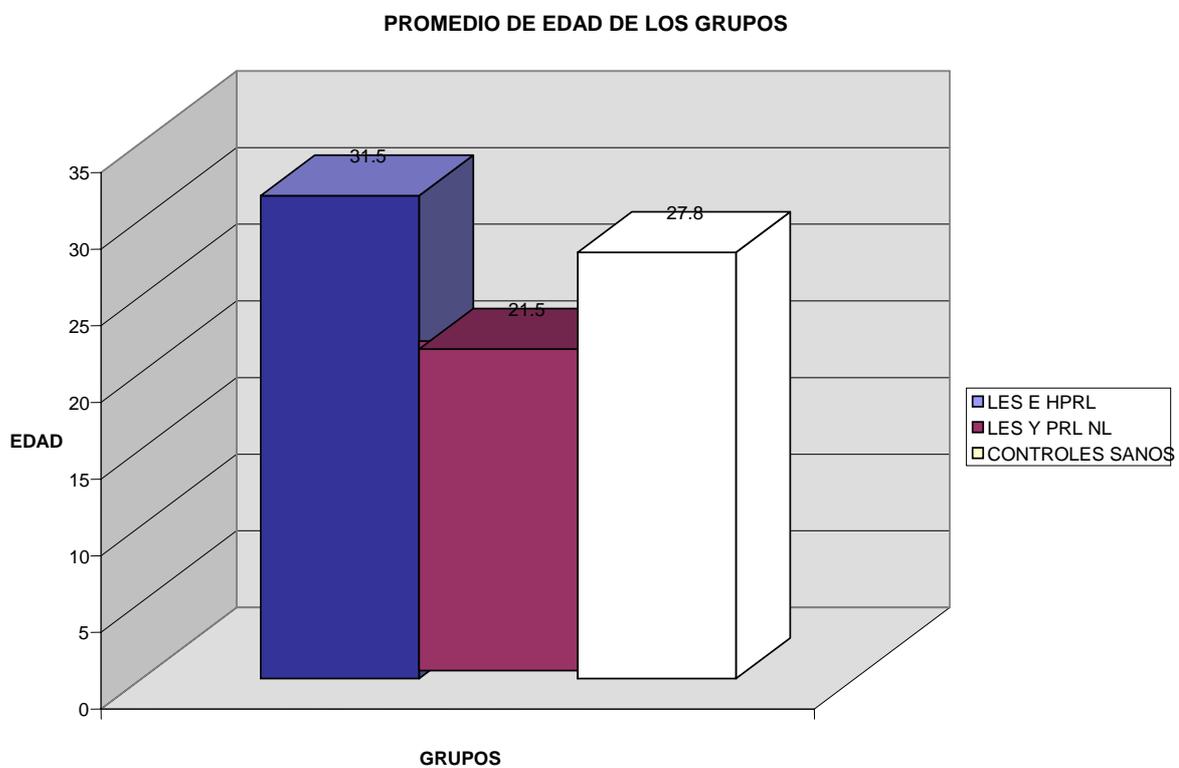
	EDAD	CD1aCD11c	CD1a	CD11c
N Válidos	10	10	10	10
Perdidos	0	0	0	0
Media	27.8000	11.5700	19.4600	.0900
Mediana	28.0000	9.4000	18.6000	.1000
Moda	28.00	8.90	14.80	.10
Desv. típ.	3.96653	6.24127	4.77940	.05676
Varianza	15.733	38.953	22.843	.003
Asimetría	-.470	1.230	.630	-.091
Error típ. de asimetría	.687	.687	.687	.687
Curtosis	.717	1.645	-1.027	1.498
Error típ. de curtosis	1.334	1.334	1.334	1.334
Rango	14.00	21.60	12.70	.20
Mínimo	20.00	3.60	14.80	.00
Máximo	34.00	25.20	27.50	.20

Tabla 7. Estadística descriptiva de los 3 grupos.

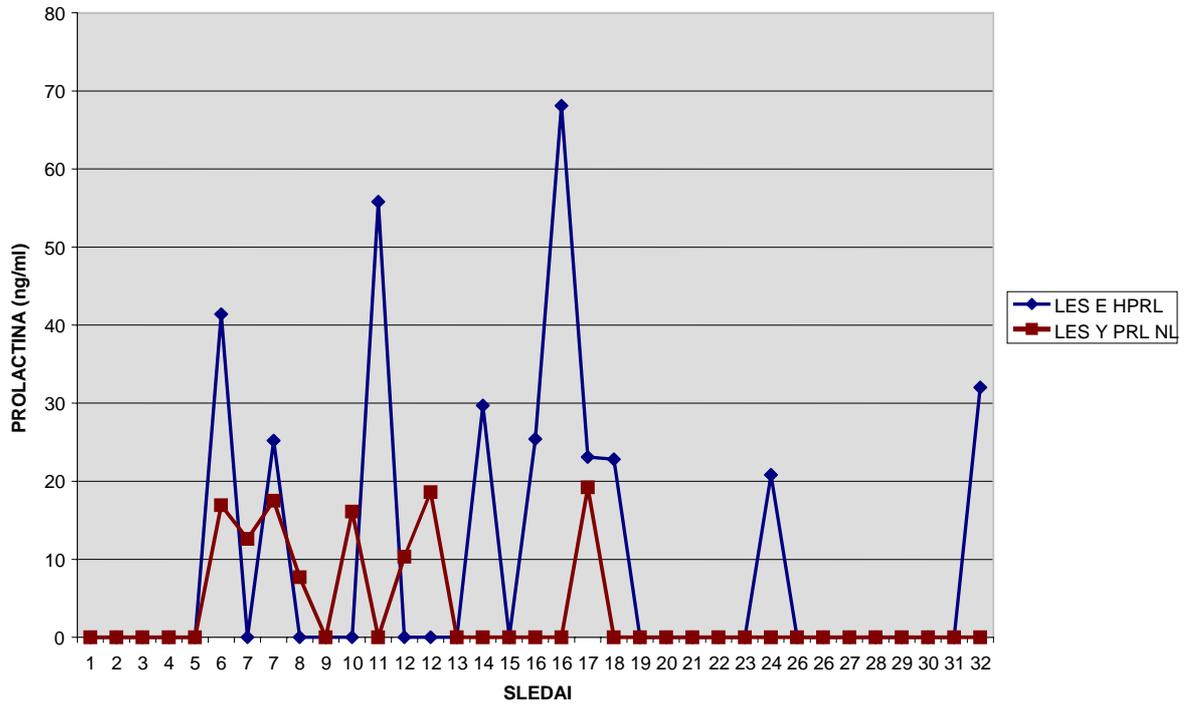
		EDAD	PRL	SLEDAI	CD1aCD11c	CD1a	CD11c	Leucocitos	Linfocitos
N	Válidos	28	18	18	28	28	28	18	18
	Perdidos	0	10	10	0	0	0	10	10
Media		28.8571	25.7333	13.3333	15.3250	20.5321	.4607	8487.2222	3781.7778
Mediana		28.5000	21.8000	12.0000	13.2000	18.6000	.1000	8100.0000	1703.0000
Moda		28.00	7.70(a)	7.00	8.90	14.80(a)	.10	15600.00	364.00(a)
Desv. típ.		5.46175	15.54447	6.86851	8.22924	6.21653	1.72097	3965.20129	8069.0044 0
Varianza		29.831	241.631	47.176	67.720	38.645	2.962	15722821.242	65108831. 948
Asimetría		.059	1.632	1.266	.974	1.290	5.214	.581	4.106
Error típ. de asimetría		.441	.536	.536	.441	.441	.441	.536	.536
Curtosis		-.438	2.586	1.919	.380	1.269	27.406	-.527	17.182
Error típ. de curtosis		.858	1.038	1.038	.858	.858	.858	1.038	1.038
Rango		20.00	60.40	26.00	31.80	24.60	9.20	13000.00	35436.00
Mínimo		20.00	7.70	6.00	3.60	12.60	.00	2600.00	364.00
Máximo		40.00	68.10	32.00	35.40	37.20	9.20	15600.00	35800.00

a Existen varias modas. Se mostrará el menor de los valores.

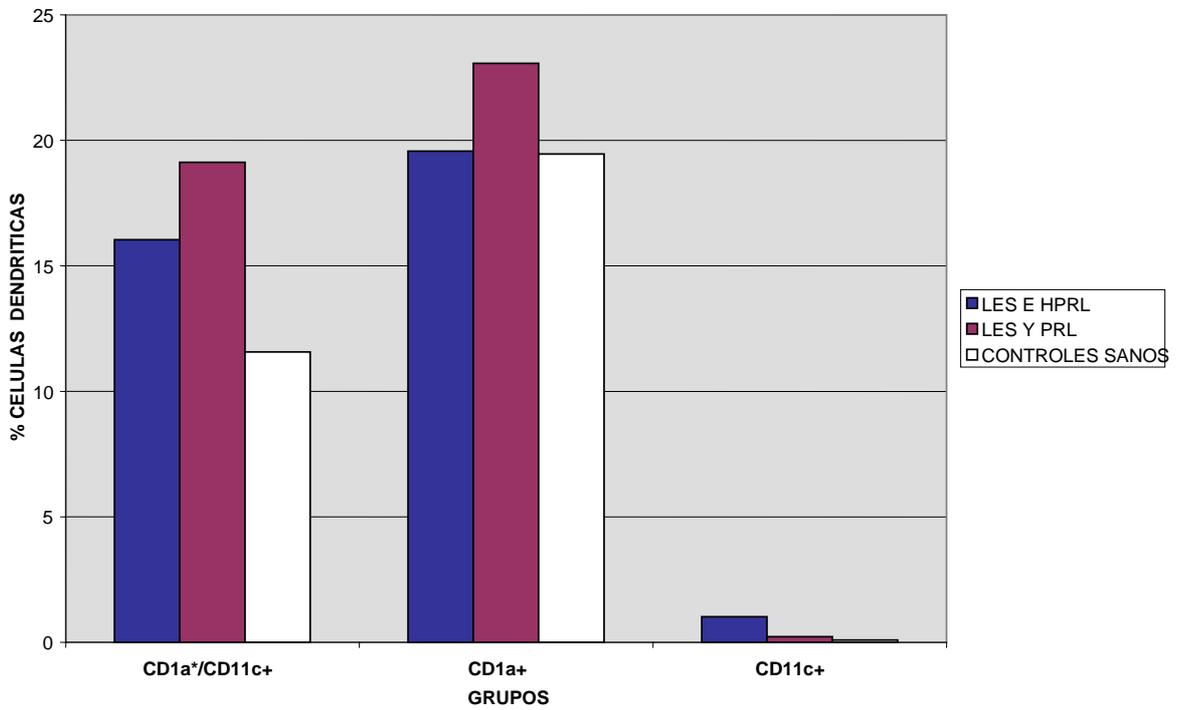
FIGURAS



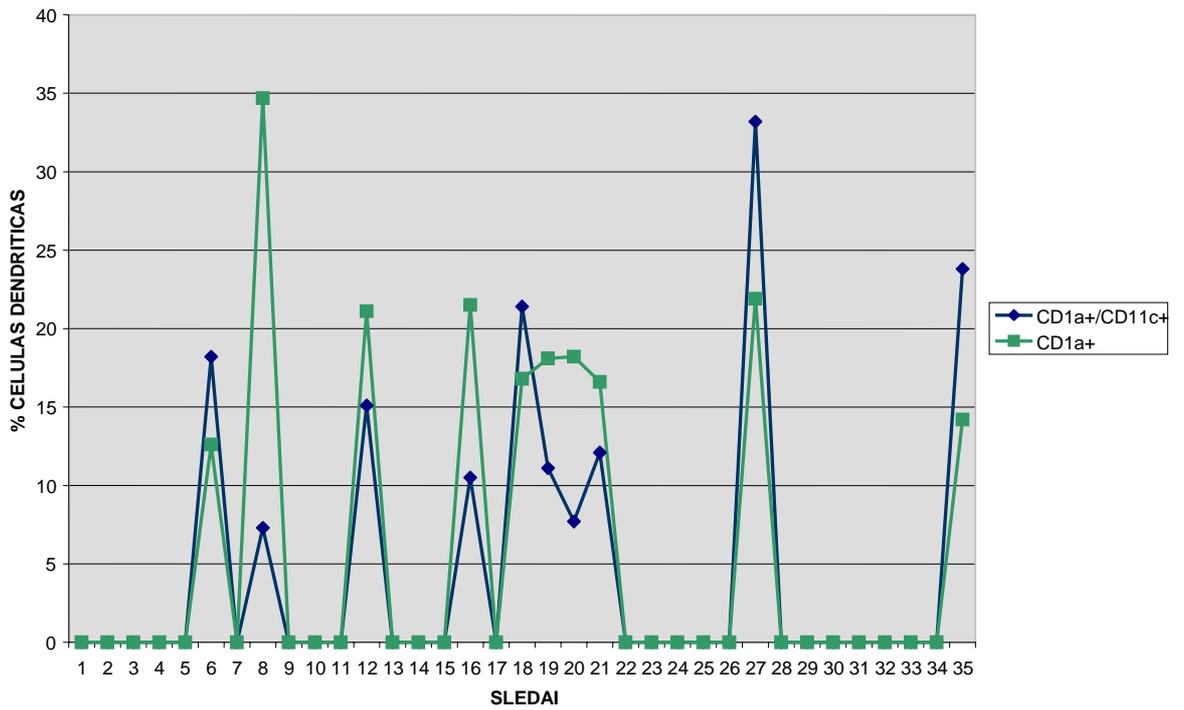
PRL VS SLEDAI



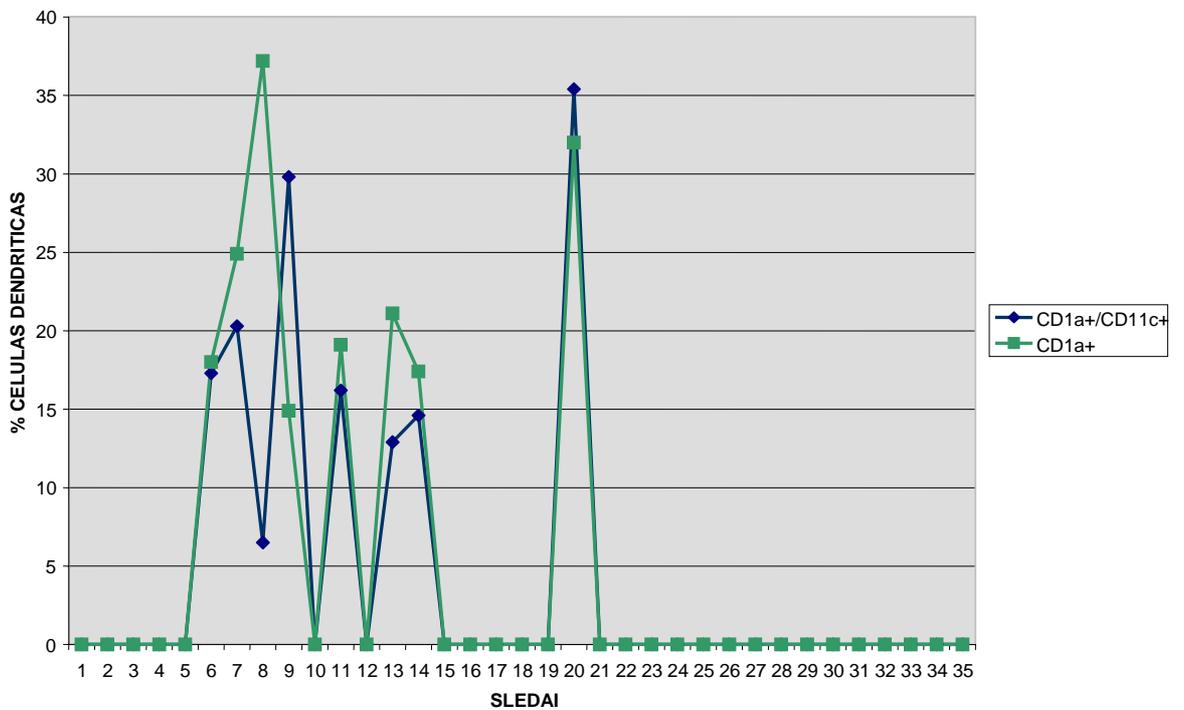
% DE CELULAS DENDRITICAS EN LOS GRUPOS



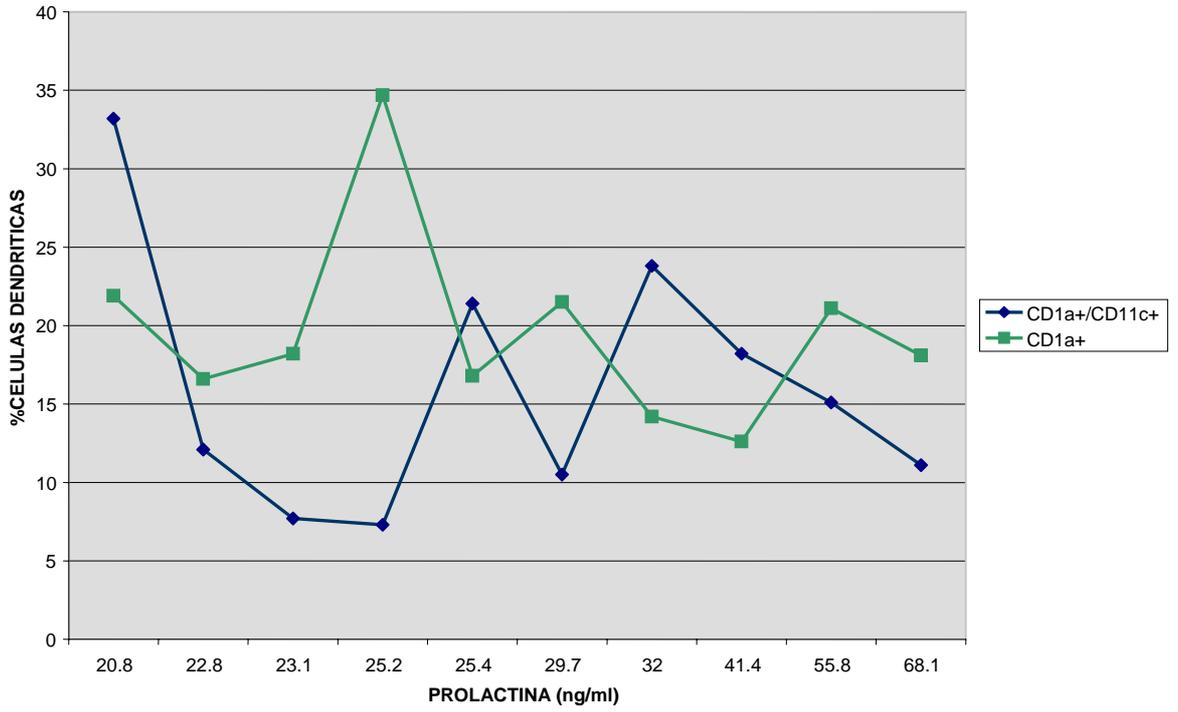
SLEDAI VS % DE CELULAS DENDRITICAS EN LES E HPRL



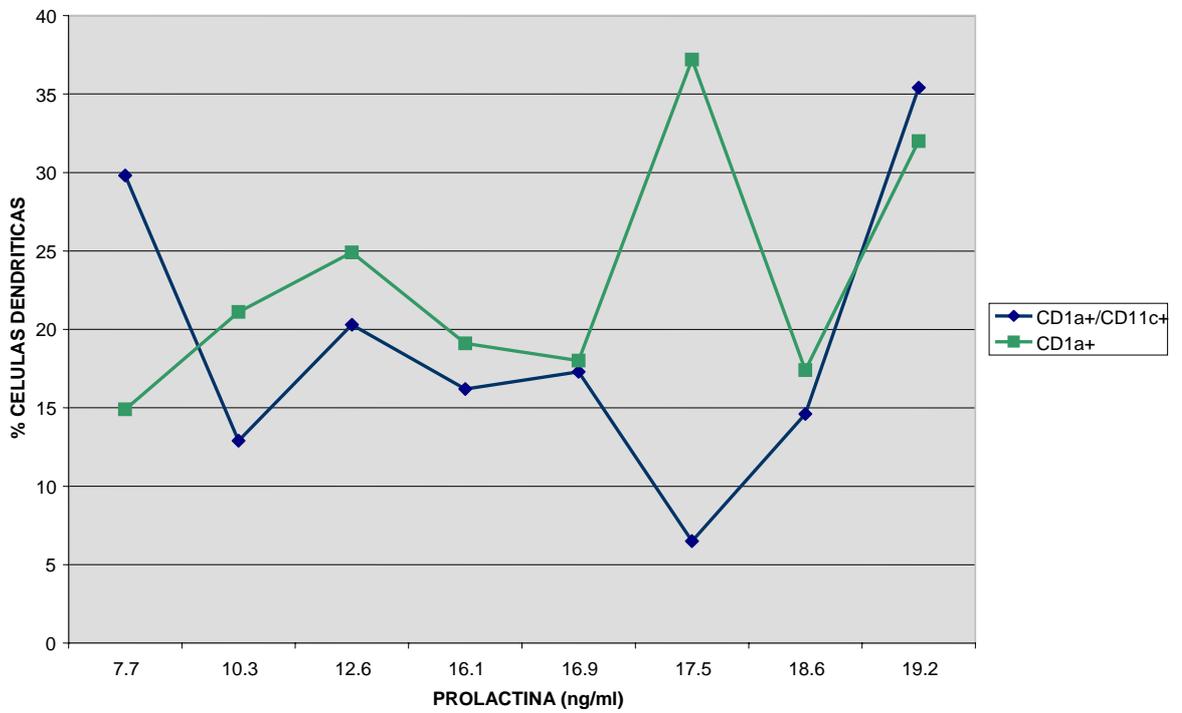
SLEDAI VS % DE CELULAS DENDRITICAS EN LES Y PROLACTINA NORMAL



PROLACTINA VS % DE CELULAS DENDRITICAS EN LES E HPRL



PROLACTINA VS % DE CELULAS DENDRITICAS EN LES Y PRL NORMAL



ESTANDARIZACIÓN Y ESTABLECIMIENTO DE PARAMETROS DE ANALISIS CITOMETRICO DE CELULAS DENDRITICAS DE SANGRE PERIFERICA

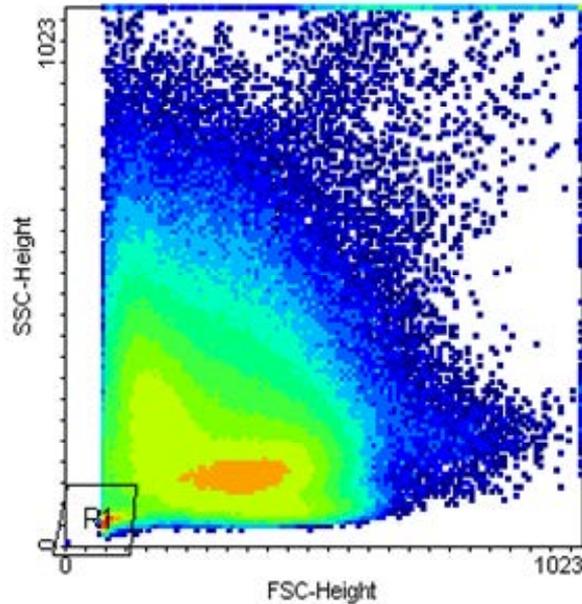


Figura A. Tamaño (FSC) vs Complejidad (SSC). Se eliminó el grupo de menor tamaño y complejidad (R1).

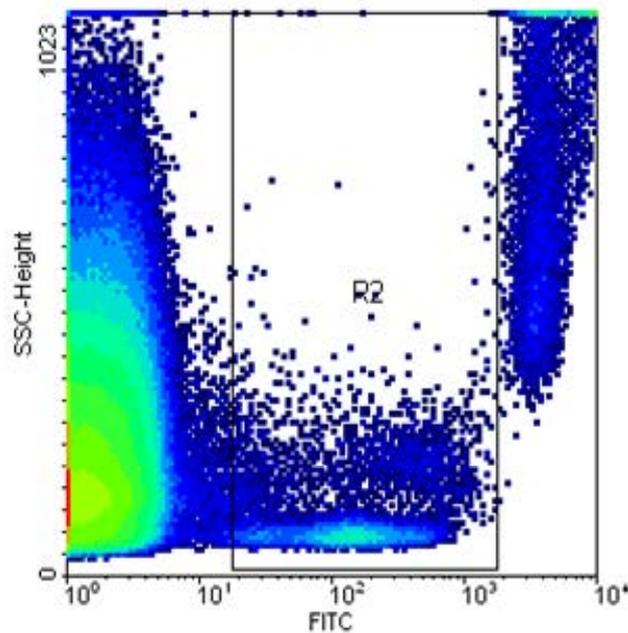


Figura B. Para el análisis de las CD, se seleccionó la región 2 (R2) correspondiente a Cocktail - Lin1 negativa.

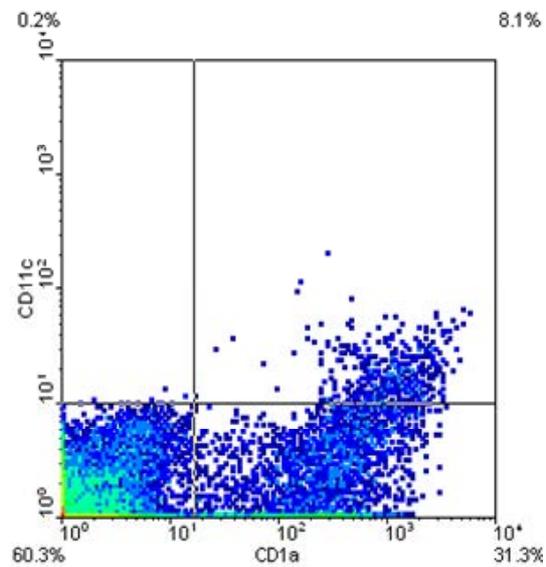


Figura C. De R1negativa y R2 positiva se realizó el análisis de expresión de CD1a y CD11c en células dendríticas

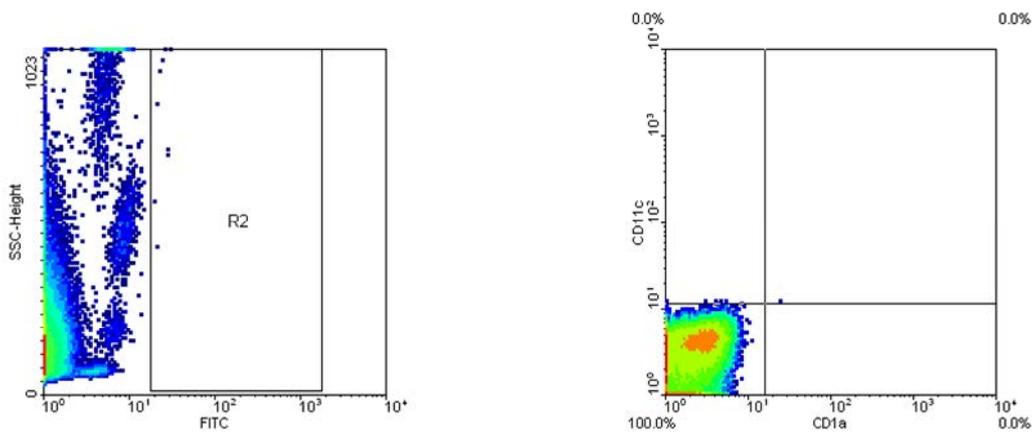
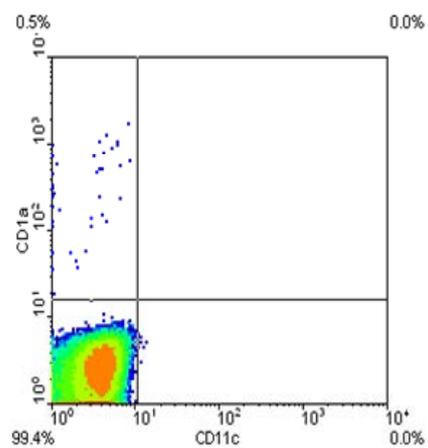


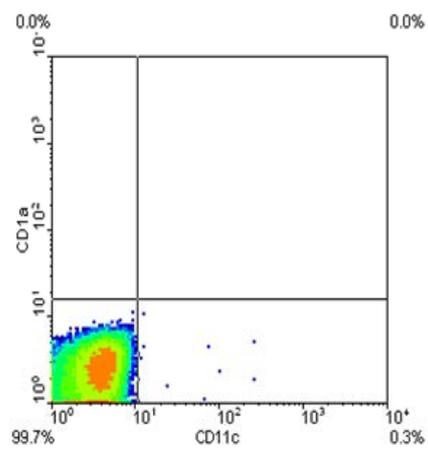
Figura D y E. Controles de isotipo FITC/PE/PE-CyChrome5

CONTROLES DE FLUORESCENCIA INDIVIDUAL PARA LA COMPENSACIÓN DEL CITÓMETRO

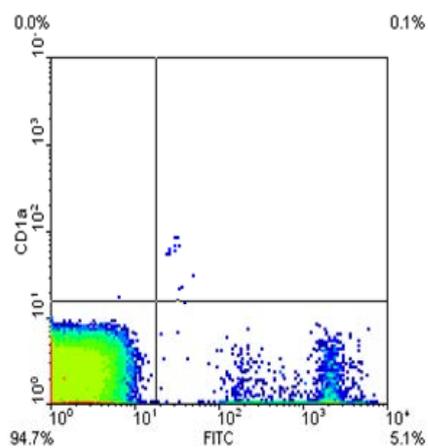
CD1a



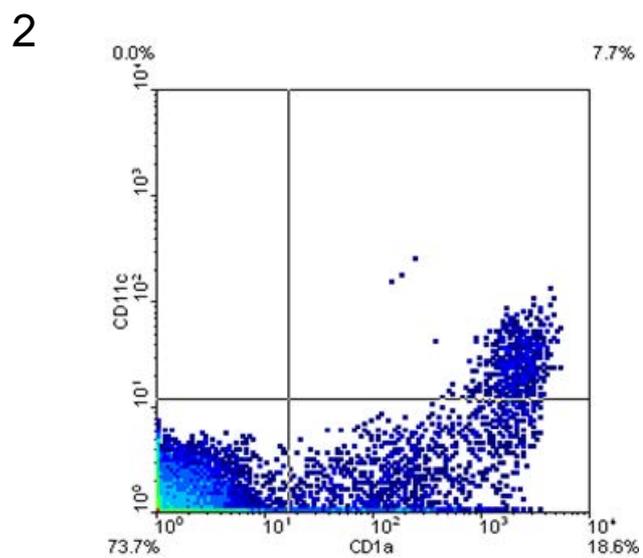
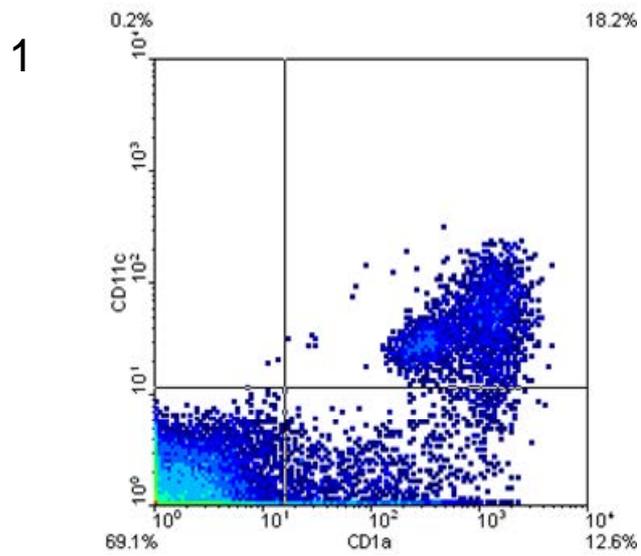
CD11c



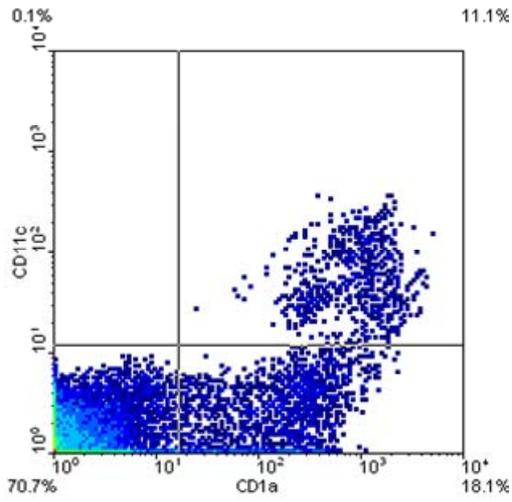
Lin 1 Neg



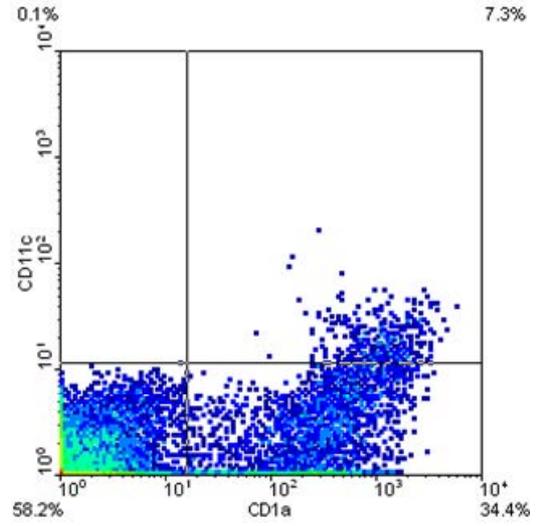
ANALISIS DE CITOMETRICO DE MUJERES CON LUPUS E HIPERPROLACTINEMIA



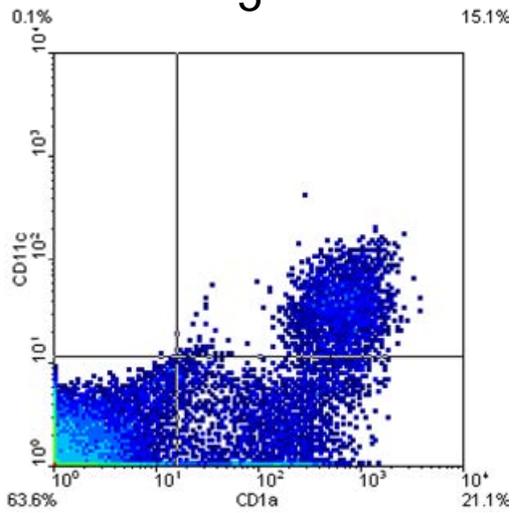
3



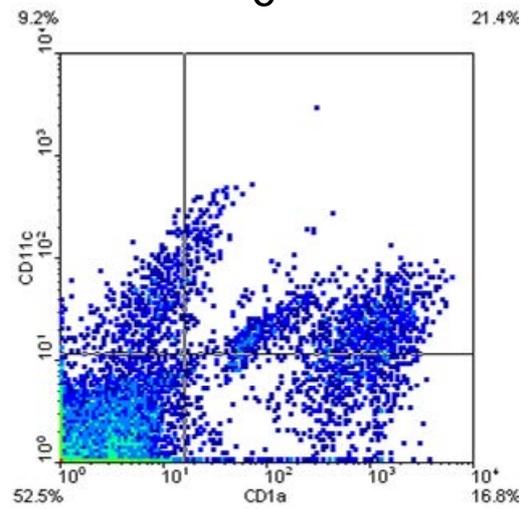
4



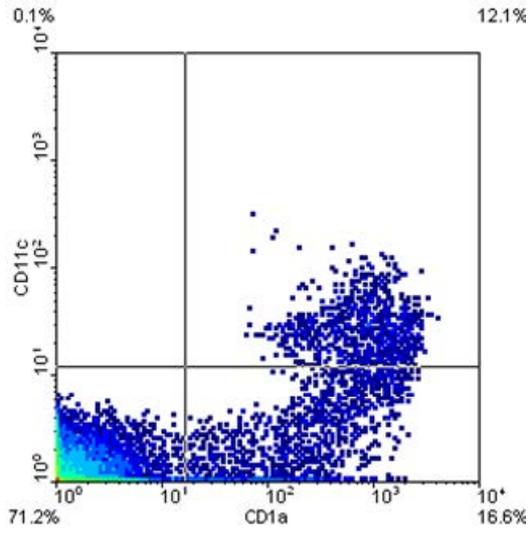
5



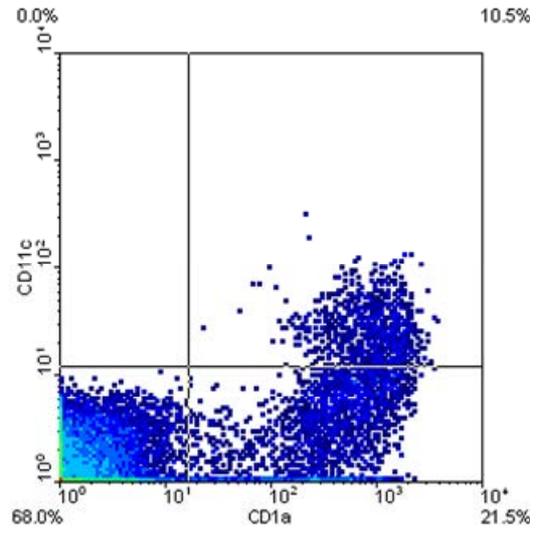
6



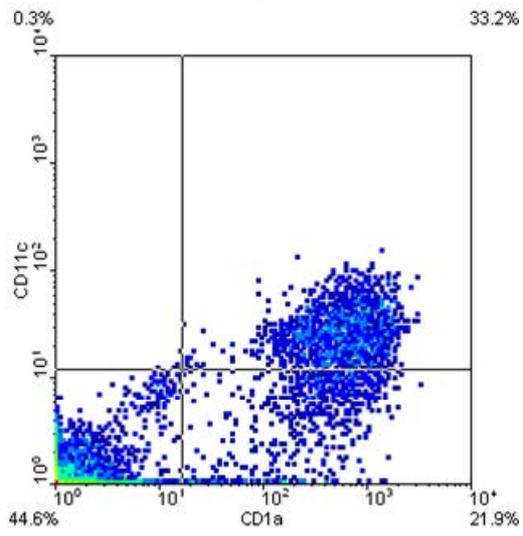
7



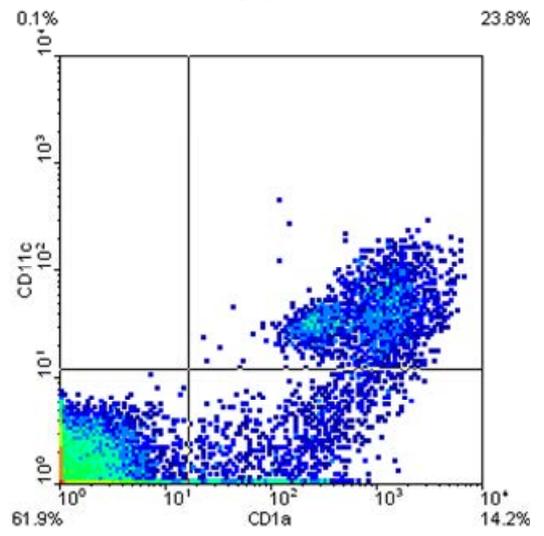
8



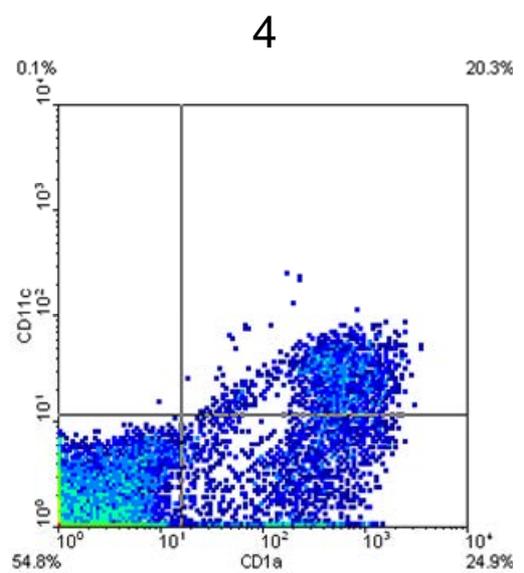
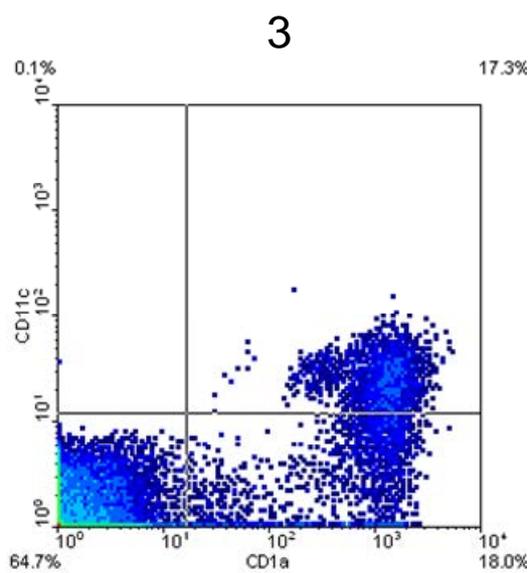
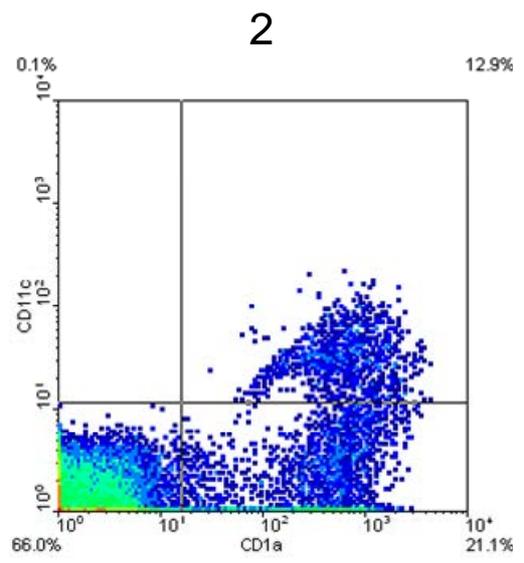
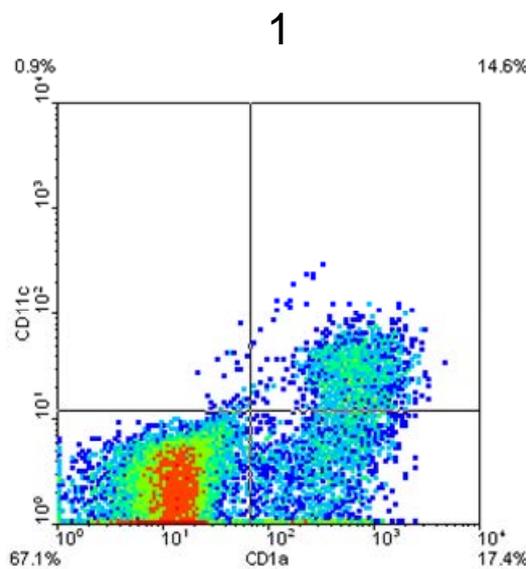
9



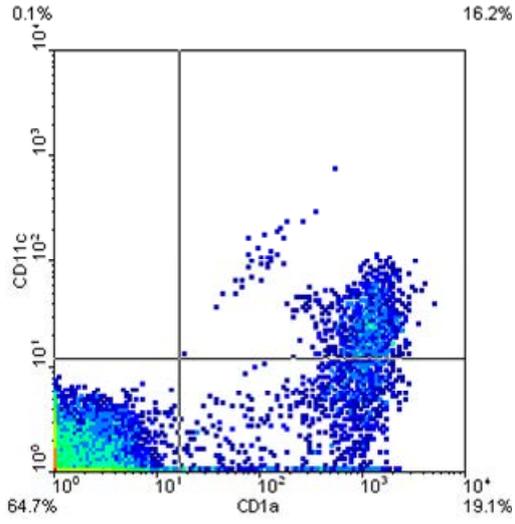
10



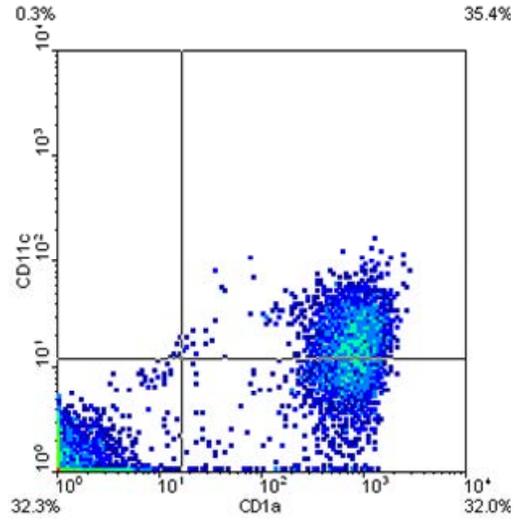
ANALISIS CITOMETRICO DE MUJERES CON LUPUS Y PROLACTINA NORMAL



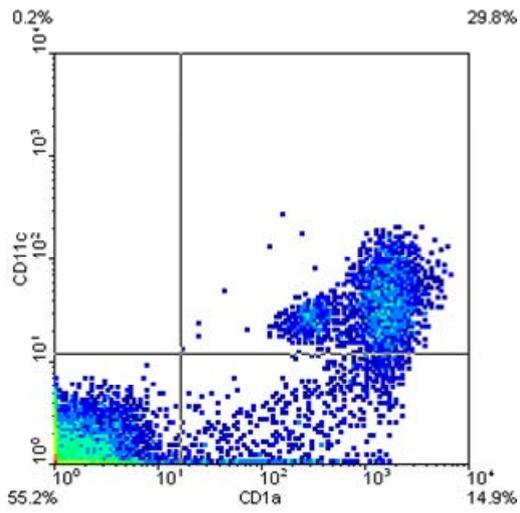
5



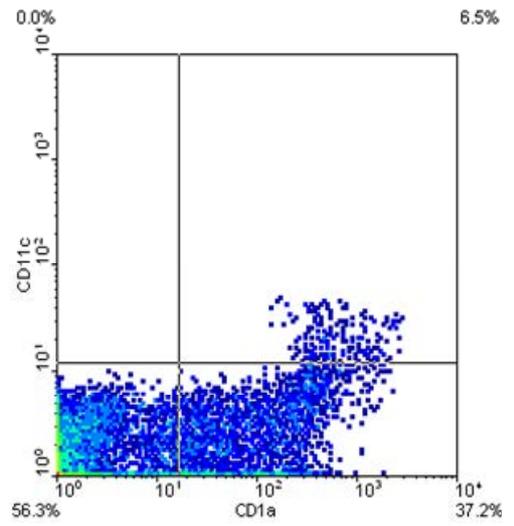
6



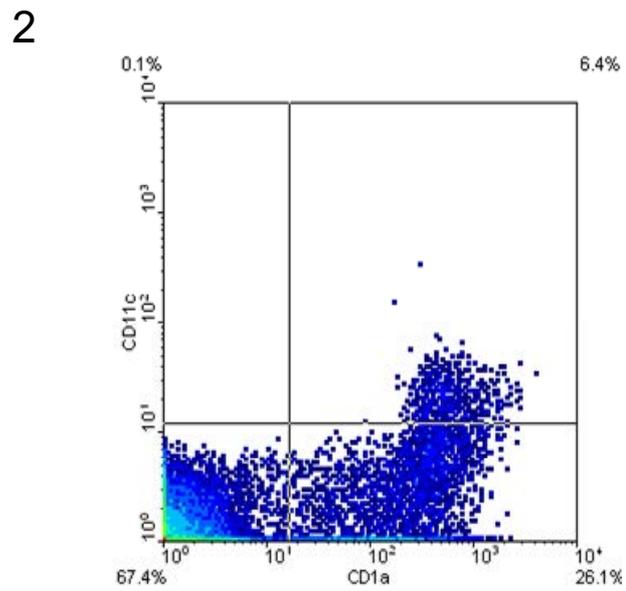
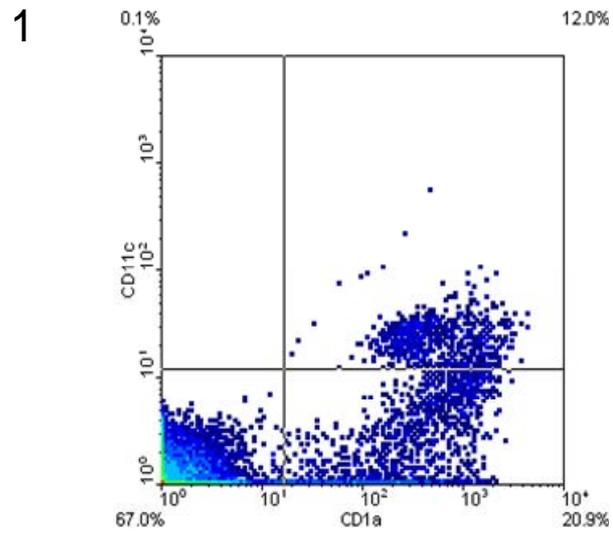
7

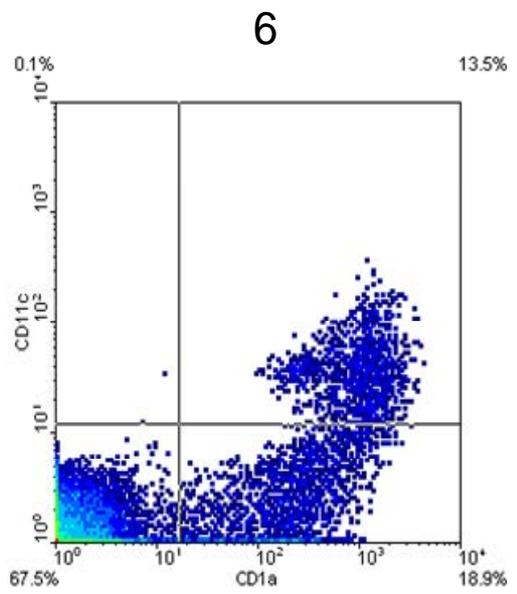
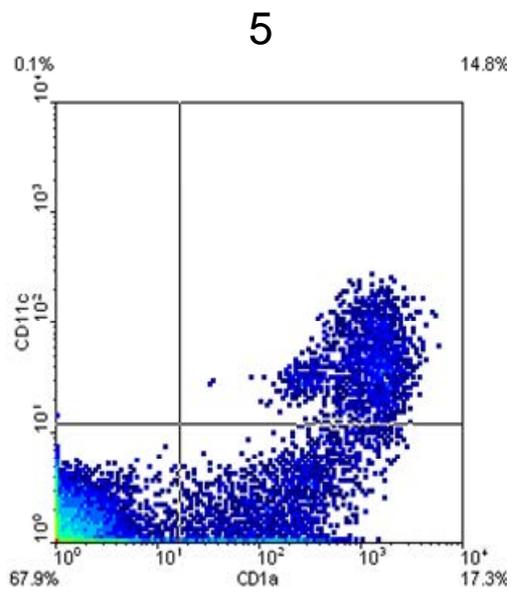
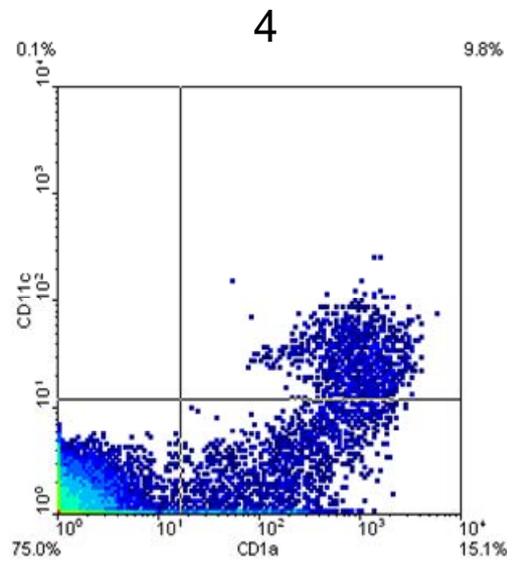
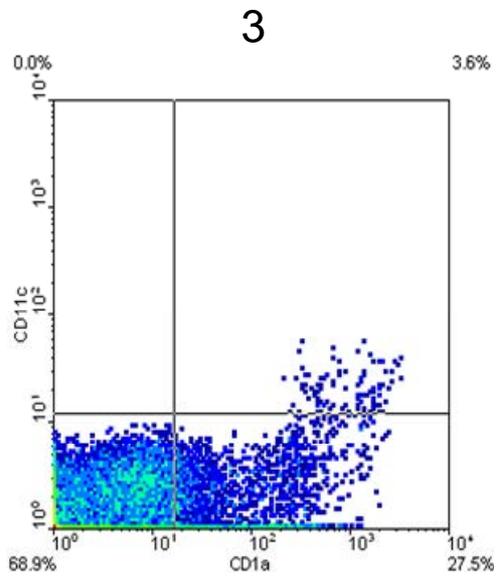


8

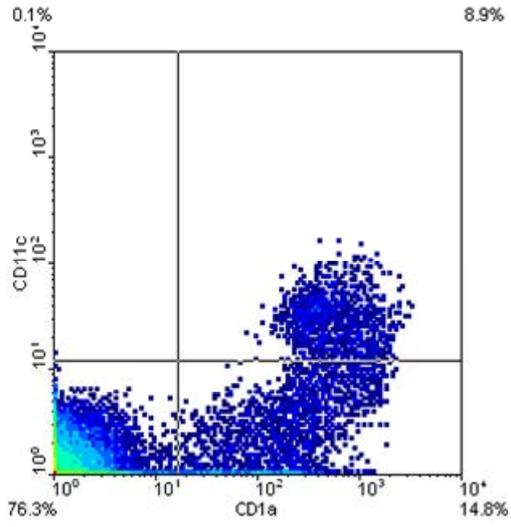


ANALISIS CITOMETRICO DE MUJERES SANAS

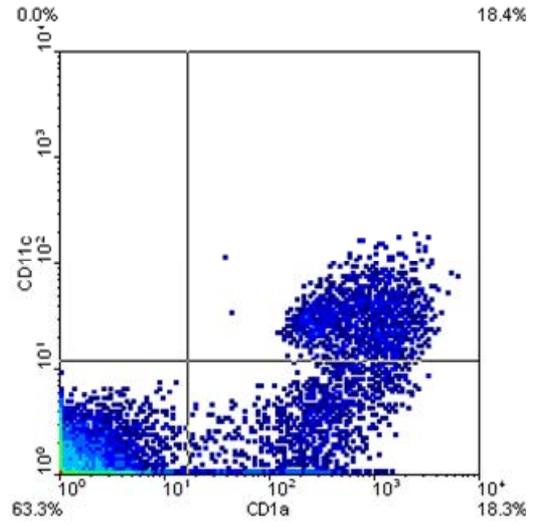




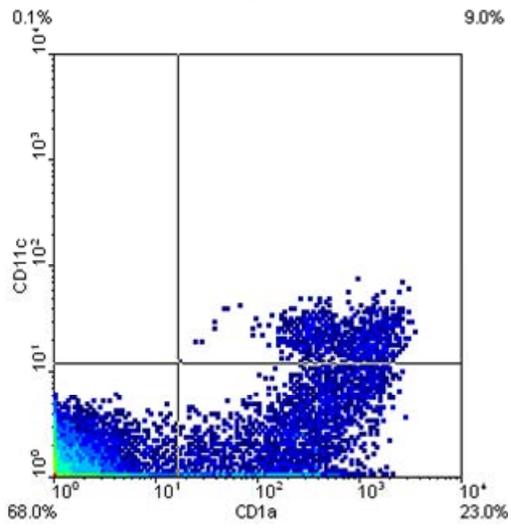
7



8



9



10

