



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE MEDICINA
División de Estudios de Posgrado
Subdivisión de Especializaciones Médicas

SECRETARÍA DE SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

**PRESENCIA DE UN PERFIL INFLAMATORIO
CARACTERÍSTICO EN EL LÍQUIDO CEFALORRAQUÍDEO
DE PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO
GENERALIZADO Y CEFALEA COMO MANIFESTACIÓN DE
ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD.**

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALIZACIÓN EN MEDICINA INTERNA

PRESENTA:

YEMIL ATISHA FREGOSO.

ASESOR:

DR. EDUARDO CARRILLO MARAVILLA



DISTRITO FEDERAL, MÉXICO

SEPTIEMBRE 2012





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.

DEDICATORIA

A mis padres, por todo el esfuerzo que han hecho y que me ha permitido llegar a donde me encuentro

A mi familia y a Erika; quienes han estado conmigo y han sido el impulso para seguir adelante, sin ustedes esto no tendría sentido.

AGRADECIMIENTOS

Al Instituto, a mis profesores y a los pacientes quienes contribuyeron a mi formación como médico.

Especial agradecimiento a todos mis maestros y amigos quienes no solo han contribuido de forma incommensurable a mi formación, sino que han hecho de mi especialidad una experiencia inolvidable.

ÍNDICE

1. Introducción.....	5
2. Antecedentes.....	6
Lupus eritematoso generalizado neuropsiquiátrico	6
Fisiopatología del lupus neuropsiquiátrico.....	7
Diagnóstico del lupus neuropsiquiátrico.....	16
Lupus neuropsiquiátrico y cefalea.....	17
3. Planteamiento del problema.....	19
4. Pregunta de investigación.....	20
5. Justificación.....	21
6. Objetivos.....	22
7. Hipótesis de trabajo.....	24
8. Material y métodos.....	25
Población y muestra.....	25
Análisis de las muestras.....	28
Diseño.....	30
Análisis estadístico.....	30

9. Resultados.....	31
Características de los pacientes.....	31
Niveles de citocinas y quimiocinas.....	32
Anticuerpos en el líquido cefalorraquídeo.....	38
10. Discusión.....	39
11. Conclusión.....	44
12. Bibliografía.....	45

INTRODUCCIÓN

Las manifestaciones neuropsiquiátricas (NP) del lupus eritematoso generalizado (LEG) ocasionan una gran morbilidad, por lo que se debe establecer un tratamiento oportuno; con esta finalidad, es importante establecer su atribución al LEG. Dentro de las manifestaciones NP de los pacientes con LEG se encuentra la cefalea; aunque se ha puesto en duda su potencial atribución. Lamentablemente no existe un biomarcador confiable que permita corroborar el diagnóstico de LEGNP, sin embargo, nuestro grupo previamente describió un perfil inflamatorio característico en el líquido cefalorraquídeo (LCR) de los pacientes con LEGNP.

En esta ocasión se realizó un análisis *post hoc* con los datos previamente reportados, y se pudo corroborar que en efecto, existe un perfil inflamatorio, caracterizado por IL-6 y quimiocinas en el LCR de los pacientes con LEG y cefalea, que es diferente de los pacientes con LEG sin actividad NP, y de controles sin enfermedades autoinmunes. Además se observó mayor prevalencia de anticuerpos anti-receptor NMDA (N-metil-D-aspartato).

Nuestros resultados apoyan que, en algunos casos, la cefalea puede ser una manifestación atribuible del LEG.

ANTECEDENTES

LUPUS ERITEMATOSO GENERALIZADO NEUROPSIQUIÁTRICO

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

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

Otras condiciones médicas como la hipertensión arterial grave, alteraciones metabólicas o el tratamiento con esteroides, son capaces de causar las

mismas manifestaciones NP y no es raro que coexistan en pacientes con LEG, lo que dificulta aún más el diagnóstico (3).

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

FISIOPATOLOGÍA DEL LEG NEUROPSIQUIÁTRICO

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

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

VASCULARES

El papel que juega la isquemia en la génesis de las alteraciones neuropsiquiátricas en los pacientes con lupus es generalmente aceptado

como muy relevante. La reperfusión de un área isquémica conlleva el riesgo de edema y hemorragia.

Los factores que contribuyen al desarrollo de isquemia son principalmente:

i) Anticuerpos anti-fosfolípidos (AFL). Existe evidencia de la relación que tienen con la generación de trombosis y la activación plaquetaria (10). Además, aparentemente contribuyen al desarrollo de placas de ateroma (11-12). Se ha reportado asociación entre la enfermedad vascular cerebral (infarto cerebral) con la presencia del anticoagulante lúpico (ACL) como se demostró en un estudio prospectivo en el que 37 pacientes con ACL positivo desarrollaron más frecuentemente infarto cerebral en comparación con 37 pacientes con ACL negativo pareados por edad y sexo. (13). Sin embargo en otros no se corrobora dicha asociación (14-16).

ii) Vasculopatía de pequeño vaso (microangiopatía) y vasculitis. En estudios de autopsia se ha observado que el compromiso del sistema nervioso central (SNC) en pacientes con LEG se debe primariamente a enfermedad vascular afectando vasos de pequeño calibre produciendo microinfartos, hemorragias o necrosis de sustancia blanca. (17-19). La presencia de vasculitis *per se* (infiltración de células inflamatorias dentro de

la pared vascular) es infrecuente, sin embargo, se han observados células inflamatorias a nivel perivascular (19).

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

iii) Aterosclerosis prematura. Existe evidencia importante de que el LEG condiciona aterosclerosis acelerada a nivel intra y extracraneal. Los factores de riesgo descritos para aterosclerosis prematura en LEG incluyen el proceso inflamatorio crónico y los factores inmunológicos propios de la enfermedad (20-21); dislipoproteinemia (22), enfermedad renal (23), tratamiento con esteroides (11) y otros factores semejantes descritos para la población general (11).

DAÑO A NIVEL DE SUSTANCIA BLANCA (SÍNDROMES DESMIELINIZANTES).

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

1. Lesiones puntiformes: Se deben principalmente a microangiopatía.
2. Placas desmielinizantes a nivel de SNC y médula espinal.
3. Lesiones en sustancia blanca a nivel de nervio óptico y mielitis transversa.
4. Leucoencefalopatía. Disfunción neuronal (mediada por autoanticuerpos).

ANTICUERPOS

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

Algunos reportes han evaluado el papel que tiene la detección de anticuerpos en el diagnóstico de LEGNP (24-28) y otros los han involucrado en la patogénesis de dichas manifestaciones (9, 29-37). De estos, los que han mostrado asociación con manifestaciones NP difusas son principalmente los anticuerpos anti-P ribosomal, antineuronales y recientemente los anticuerpos anti-NMDAR (anti-receptor N-Metil-D-Aspartato); y con manifestaciones focales, los anticuerpos anti-fosfolípidos. Sin embargo, hasta la fecha no existen estudios que evalúen cada una de las manifestaciones NP descritas en estos pacientes con el panel de autoanticuerpos que se han descrito.

Anticuerpos antineuronales.

Representan un grupo de autoanticuerpos que tienen reactividad contra componentes neuronales aún no definidos completamente. Su prevalencia en suero se ha descrito entre el 43 y 95% y en el líquido cefaloraquídeo (LCR) en el 74% (24,26,32). Los anticuerpos antineuronales se detectan principalmente en pacientes con LEG que desarrollan manifestaciones NP particularmente de tipo difuso (eg., estado confusional agudo, psicosis, crisis convulsivas tónico clónico generalizadas [CCTCG], disfunción

cognitiva) en comparación con pacientes con LEG que no presentan manifestaciones NP o en aquellos con otras enfermedades autoinmunes. Se ha descrito desde 1987 (38) la asociación entre la presencia de anticuerpos antineuronales y manifestaciones difusas (e.g., deterioro cognitivo). Más aún, en un estudio (39) que evaluó a 20 pacientes con LEGNP que presentaron manifestaciones difusas seguidos durante 2.1 años, se observaron fluctuaciones en los títulos de anticuerpos antineuronales en el suero, que frecuentemente se asociaron con variaciones en los títulos de anticuerpos anti-DNA doble cadena (DNA_{dc}) y con la actividad de la enfermedad cuando las manifestaciones NP estaban presentes.

Anticuerpos anti-P ribosomal.

Los anticuerpos anti-P ribosomal se encuentran presentes entre el 6 y 46% de los pacientes con LEG (40). El punto de mayor interés sobre estos anticuerpos deriva de su alta especificidad en el LEG (41-42). Se han detectado títulos elevados de anticuerpos anti-P ribosomal en pacientes con LEG, principalmente durante la enfermedad activa y se han asociado con algunas manifestaciones clínicas particularmente: nefritis, hepatitis (43-45)

y compromiso a nivel del SNC (25-26,40,46-48). Existe un considerable número de reportes que evalúan la presencia de los anticuerpos anti-P ribosomal en el suero y en el LCR en el LEGNP sin embargo, algunos son contradictorios.

La importancia de los anticuerpos anti-P ribosomal en el LCR es aún mas contradictoria. En un estudio (49), se midieron los niveles de anticuerpos anti-P ribosomal en suero y en el LCR por medio de Western blot, en 70 pacientes con LEG quienes fueron divididos en 3 grupos de acuerdo al tipo de manifestaciones NP que presentaron, (síndromes neurológicos, síndromes neuropsiquiátricos y manifestaciones complejas) y un grupo control sin manifestaciones NP. En el LCR, se detectó la presencia del anticuerpo en el 29% de los pacientes y en suero en el 46%.

Anticuerpos anti-NMDAR (receptor N-Metil-D-Aspartato).

Los receptores NMDA están presentes en las neuronas y en otras células como las plaquetas. En el SNC, los receptores NMDA que se unen al neurotransmisor glutamato, juegan un papel importante en muchas funciones neurológicas incluyendo la memoria y el aprendizaje. En 1997 se demostró que el pentapéptido con la secuencia (Asp/Glu-Trp-Asp/Glu-Try-

Ser/Gly) tiene mimetismo molecular con el DNA de doble cadena y se encuentra presente en el dominio extracelular de las sub-unidades NR2a y NR2b del receptor NMDA (50). La sub-unidad NR2 es reconocida por los anticuerpos anti-DNA tanto en modelos murinos como en humanos. Posteriormente, se reportó en pacientes con LEG que los anticuerpos anti-DNA tienen reacción cruzada con la sub-unidad NR2 de los receptores NMDA y que intervienen en la muerte neuronal mediada por apoptosis (51). Además, se evidenció la presencia de estos anticuerpos en el LCR de un paciente con LEG que presentó deterioro cognitivo progresivo y su capacidad de provocar muerte neuronal vía apoptosis. Estas observaciones sugieren que los anticuerpos que tienen reacción cruzada con el DNA de doble cadena y con los receptores NMDA ingresan al SNC, produciendo alteraciones no vasculíticas ni trombóticas (51). Estos hallazgos son la primera evidencia del papel que juegan los anticuerpos anti-receptor NMDA en la patogénesis en el LEGNP.

Recientemente se reportó la asociación de los anticuerpos anti-NMDAR en LCR en pacientes con LEG que presentaron manifestaciones NP complejas (neurológicas, psiquiátricas y neuropsicológicas) vs. pacientes con LEG con manifestaciones NP no atribuibles al lupus. En el estudio, el anti-NMDAR

también fue medido en suero y no se observó asociación con ninguno de los grupos estudiados. Los autores concluyen que la determinación de anticuerpos anti-NMDAR en LCR para el diagnóstico de manifestaciones NP en pacientes con LEG es más útil que medirlo en suero (27).

CITOCINAS Y QUIMIOCINAS

Algunos estudios han mostrado que las citocinas como la interleucina (IL)-6 y las quimiocinas como la IL-8 son útiles para el diagnóstico del LEGNP (52-56). Otros estudios han descrito niveles elevados de IL-1, IL-10, factor de necrosis tumoral- α (TNF- α) e interferon- γ (IFN- γ) en el LCR de pacientes con LEGNP (52,54-55). Recientemente las quimiocinas, (MCP-1/CCL2), (IP-10/CXCL10) y la fractalcina se han detectado en este grupo de pacientes lo que sugiere una reacción inflamatoria mediada por estas moléculas a nivel del SNC (57-60).

DIAGNÓSTICO DEL LEGNP

No existe una prueba serológica contundente que nos confirme por ejemplo la presencia de psicosis lúpica en un momento de la evolución de los pacientes. El diagnóstico finalmente dependerá del juicio clínico y de la exclusión de otras causas que puedan explicar los síntomas psiquiátricos, en especial la infección (5,6). Esto ha justificado la búsqueda de biomarcadores.

Una proteína puede considerarse un biomarcador si está presente en la mayoría de las muestras de los enfermos (preferiblemente todos) y ausente en todos o la mayoría de los controles sin la enfermedad.

Recientemente, nuestro grupo de ha llevado a cabo una serie de trabajos en LEGNP con el objeto de encontrar un biomarcador fiable, tanto en suero como en LCR, para el diagnóstico y seguimiento de estos pacientes. Se analizaron citocinas y quimiocinas, una gran diversidad de autoanticuerpos, e incluso la cuantificación de un marcador de lesión de la barrera hematoencefálica como es la proteína S100B (61-64). Se encontraron datos interesantes y de relieve para la comprensión de la fisiopatogenia del LEGNP, aunque ninguna de las moléculas analizadas, con excepción acaso

de la quimiocina CXCL10, mostró ser un biomarcador sensible y específico del LEGNP.

Sin embargo, se pudo identificar claramente un perfil inflamatorio caracterizado por una elevación significativa de CCL5/RANTES, CXCL9/MIG, CXCL10/IP-10, CXCL8/IL-8 e IL-6, este patrón de forma interesante caracteriza a los todos los pacientes con LEG, inclusive a los que no tienen actividad a nivel de SNC, ya que estos últimos presentan una elevación de bajo grado, pero consistente, al compararlos con los sujetos sin enfermedades autoinmunes ni afección del SNC.

LEGNP Y CEFALEA

Como se señaló inicialmente, la cefalea se encuentra entre la amplia gama de manifestaciones que puede presentar el LEG como dato de afección al SNC, y está incluida dentro de los 19 síndromes aceptados por el ACR (65). Sin embargo, la atribución de la cefalea al LEG es complicada.

En un artículo diseñado para la validación de los criterios del ACR para manifestaciones del LEGNP (71), se decidió eliminar a la cefalea como

manifestación del LEG. Esto basado en una alta prevalencia en los controles sanos (24%) a pesar de que hubo una prevalencia aún mayor en los pacientes con LEG (54%), sin embargo, la gran cantidad de controles con cefalea disminuyen la especificidad. También se basaron en un reporte que demostró falta de asociación entre la actividad del LEG y la cefalea (66).

Este estudio ocasionó, que en los reportes que se han generado de una importante cohorte internacional multicéntrica creada para estudiar la afección NP del LEG, todos los casos de cefalea fueran descartados (67). De esta forma, en la actualidad la cefalea se ha puesto en duda como una verdadera manifestación atribuible al LEGNP.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Es importante definir si las manifestaciones NP que se observan en los pacientes con LEG tienen carácter de atribuibles, ya que ello puede influir en las decisiones que se tomen en el tratamiento de la enfermedad y repercutir de forma directa en beneficio o perjuicio del paciente. En la actualidad por razones epidemiológicas existen dudas razonables acerca de la potencial atribución de la cefalea como manifestación NP del LEG. A pesar de que no hay un instrumento diagnóstico que nos permita saber con certeza si un paciente se encuentra activo o inactivo del LEG, sí se ha identificado un perfil inflamatorio característico en el LCR de estos pacientes. Sin embargo, no se ha definido si los pacientes con cefalea comparten estas alteraciones con otras manifestaciones del LEGNP y si son diferentes de pacientes con LEG sin actividad NP o pacientes sin enfermedades autoinmunes.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Los pacientes con cefalea que se considera atribuible al LEG tienen un perfil inflamatorio característico en el LCR similar al observado en otras manifestaciones difusas del LEGNP?

JUSTIFICACIÓN

Debido a que la atribución de la manifestaciones del LEG a actividad de la enfermedad es importante, ya que a partir de esto se puede establecer si la enfermedad se encuentra activa o inactiva y tomar decisiones con respecto al tratamiento inmunosupresor, se debe intentar saber con certeza si la cefalea es o no es una manifestación NP del LEG. Ante la ausencia de un biomarcador o prueba diagnóstica precisa, se deben utilizar las herramientas disponibles al momento.

OBJETIVOS

GENERAL

Establecer si existe un perfil característico de citocinas, quimiocinas y anticuerpos en el LCR de los pacientes con cefalea como manifestación NP del LEG.

ESPECÍFICOS

- Comparar el perfil de citocinas y quimiocinas en el LCR de los pacientes con LEG contra los que presentan otra actividad NP difusa.
- Comparar el mismo perfil contra pacientes con LEG sin historia de actividad NP.
- Comparar este perfil contra sujetos sin enfermedad autoinmune.
- Determinar la prevalencia de anticuerpos anti-NMDAR en el LCR de pacientes con LEG y cefalea como manifestación NP
- Comparar esta prevalencia contra la observada en pacientes con otras manifestaciones difusas NP del LEG

- Comparar la misma prevalencia contra sujetos con LEG sin historia de actividad NP
- Comparar nuevamente esta prevalencia contra sujetos sin enfermedades autoinmunes.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

- Existen diferencias estadísticamente significativas en los niveles de quimiocinas medidas y de IL-6 en los pacientes con LEG con cefalea como manifestación NP al compararlos con los pacientes con LEG sin manifestaciones NP y los sujetos sin enfermedades autoinmunes.
- No existen diferencias estadísticamente significativas en la mayoría de las moléculas estudiadas en los pacientes con cefalea al compararlos con pacientes con LEG que han presentado otras manifestaciones NP difusas.
- Los anticuerpos anti-NMDA tienen un comportamiento similar al esperado para la IL-6 y las quimiocinas medidas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un análisis *post hoc* de las muestras analizadas para estudios previos de nuestro grupo (61-64)

POBLACIÓN Y MUESTRA

Se realizó el estudio con los pacientes del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán; un centro de referencia de tercer nivel para individuos no derechohabientes situado en la Ciudad de México. El Instituto atiende casi en exclusividad población adulta (mayor de 18 años).

Se incluyeron 34 pacientes con LEG diagnosticado de acuerdo a los criterios del Colegio Americano de Reumatología (ACR) (68) que estuvieron hospitalizados en nuestro Instituto entre el primero de febrero de 2003 y el 30 de junio de 2005 debido a manifestaciones NP del LEG y en los que se obtuvo una muestra de LCR. Todos los pacientes con LEGNP fueron evaluados de acuerdo con un protocolo estandarizado por los servicios de reumatología y neurología al momento de la hospitalización y 6 meses después.

Al momento de la hospitalización se registraron las características sociodemográficas de los pacientes (edad al diagnóstico (tomada como la fecha en la que se cumplieron los cuatro criterios de LEG), duración de la enfermedad hasta el momento de la hospitalización, número de criterios acumulados del LEG, perfil de anticuerpos, etc). Se registró la actividad de la enfermedad en ese momento y 6 meses después usando el índice de actividad "SLEDAI-2K" (69). Se revisaron los expedientes para recolectar información adicional, acerca de la evolución de la enfermedad y el daño acumulado, de acuerdo con el índice SLICC/ACR de daño (70)

Las manifestaciones NP fueron clasificadas de acuerdo con la nomenclatura y las definiciones de casos del ACR para síndromes del LEGNP (65). Las manifestaciones fueron consideradas atribuibles en ausencia de factores de exclusión para la atribución de las manifestaciones NP (65), y ninguno de los pacientes tuvo eventos NP menores (71).

Se obtuvo una muestra de LCR de todos los pacientes al momento de su admisión al hospital. Una segunda muestra de LCR fue obtenida en 4 de los 7 pacientes con cefalea 6 meses después.

Como controles se estudiaron muestras de LCR de 16 pacientes con LEG sin historia de actividad NP (LEGqx) y de 25 pacientes sin historia de enfermedades autoinmunes sin manifestaciones NP (no-AU), estos se obtuvieron de sujetos que durante el periodo de estudio fueran sometidos a cirugías electivas que requirieran de bloqueo epidural y dieran permiso por escrito para la obtención de la muestra de LCR. Los pacientes fueron sometidos a cirugía electiva por los siguientes motivos: donadores de médula ósea (7), histerectomía (6), colocación de catéter de Techkoff (3), hidrocele (2), amputación debido a diabetes mellitus (2), safenectomía (2), circuncisión (1) y hernioplastía inguinal (1).

Las muestras de LCR fueron centrifugadas a 12,000 g y el sobrenadante fue inmediatamente (<30 minutos) recolectado y congelado a -86° C hasta ser analizado para la medición de citocinas y quimiocinas.

ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS

DETECCIÓN DE CITOCINAS Y QUIMIOCINAS POR CITOMETRÍA DE FLUJO.

Las moléculas solubles fueron medidas mediante luminometría con kits comerciales (BD Biosciences, San Diego, CA) de acuerdo a las instrucciones del fabricante. De forma inicial se midieron varias citocinas: IL-2, IL-4, IL-6, IL-10, TNF α , IFN α e IFN γ ; y quimiocinas: CCL2/MCP-1, CCL5/RANTES, CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG y CXCL10/IP-10. Aunque de estos solo tuvieron niveles detectables y diferencias entre los grupos: IFN α , IL-6, CCL2/MCP1, CCL5/RANTES, CXCL8/IL-8, CXCL9/MIG y CXCL10/IP-10 y fueron estas moléculas las que se incluyeron para este análisis *post hoc*.

La luminometría permite la cuantificación de varias proteínas con la misma prueba. Este ensayo utiliza esferas del mismo tamaño que pueden ser distinguidas por diferentes intensidades de fluorescencia. Cada grupo de la misma intensidad de fluorescencia es cubierto con un anticuerpo contra la molécula blanco. La reacción es revelada con el anticuerpo secundario correspondiente con un fluorocromo conjugado. Se utilizaron 50 μ L de LCR

por prueba. Las muestras fueron analizadas en un citómetro FACScan (Becton Dickinson, San Jose, CA) usando el programa correspondiente (BD Biosciences). Los resultados se expresan en pg/mL.

DETECCIÓN DE AUTOANTICUERPOS

Se midieron de forma inicial por ensayo inmunoenzimático anticuerpos contra DNAdc, cardiolipina y $\beta 2$ glicoproteína de isotipo IgG, de acuerdo con las instrucciones del fabricante (The Binding Site, Birmingham, UK). De forma similar se realizó la medición de anticuerpos anti-P ribosomal de isotipo IgG (Orgentec Diagnostika, Germany). Los anticuerpos anti-NMDA se midieron de acuerdo a la técnica previamente descrita (72). Los puntos de corte en el CSF se determinaron de acuerdo a la percentila 90 de los 17 pacientes sin enfermedades autoinmunes (anti-DNAdc < 9.62 IU/mL, anti-P ribosomal < 9.96 U/mL, anti-cardiolipina < 4.5 UGPL, anti- $\beta 2$ glicoproteína < 2.5 U/mL, anti-NMDAR < 40 D.O.)

El estudio fue aprobado por el comité institucional de investigación y todos los pacientes dieron su consentimiento informado.

DISEÑO

Se trata de un estudio de casos y controles

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variable categóricas fueron comparadas usando chi cuadrada o la prueba exacta de Fisher. La distribución normal de las variables fue calificada con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Las variables continuas se analizaron utilizando T de Student o U de Mann-Whitney, prueba de rangos pareados de Wilcoxon o t pareada o análisis de varianza según correspondiera. Los valores se presentan como medianas e intervalos intercuartilares. Los valores de $p < 0.05$ fueron considerados significativos el análisis se llevó a cabo con el programa SPSS versión 12.0 (SPSS, Chicago, IL)

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

Como se mencionó, las manifestaciones NP fueron clasificadas de acuerdo a la nomenclatura propuesta por el ACR para los síndromes NP. Se incluyeron 13 pacientes con crisis convulsivas, 7 con cefalea, 8 con estados confusionales, 4 con enfermedades cerebrovasculares, 1 con psicosis y uno con mielitis transversa.

Descripción de los pacientes con cefalea:

1. Cefalea por hipertensión endocraneana. La punción lumbar se consideró como normal, solo con incremento en la presión de apertura. La tomografía cerebral fue normal. Se decidió dar tratamiento con prednisona (PDN) 45 mg/día.
2. Cefalea intratable, no específica, sin factores asociados. Se dio tratamiento inicial con dexametasona 12 mg/día y posteriormente con PDN 60 mg/día.
3. Cefalea intratable, no específica, sin factores asociados. Se dio tratamiento con dexametasona 8 mg/día.

4. Cefalea intratable, no específica, sin factores asociados. En tratamiento con prednisona 75 mg/día.
5. Pseudotumor cerebrii
6. Cefalea migrañosa sin aura. Con síndrome antifosfolípidos como factor asociado. No recibió glucocorticoides.
7. Cefalea migrañosa, sin aura y sin factores asociados. No recibió glucocorticoides.

NIVELES DE CITOCINAS Y QUIMIOCINAS

Los niveles de citocinas y quimiocinas se muestran en la tabla 1 y figura 1. Inicialmente comparamos los niveles de las quimiocinas previamente estudiadas, y de IL-6 e INF- α de los pacientes con cefalea vs. los controles sin enfermedades autoinmunes, se corroboraron los hallazgos antes descritos, con elevación de IP-10, IL-8, MIG, RANTES e IL-6; todos estos con $p < 0.005$. No hubo diferencia estadísticamente significativa para INF α y MCP-1 (Tabla 1).

Tabla 1

Molécula	Cefalea (n=7)	LEGnp (n=27)	p*	LEG-qx (n=16)	p*	No-AU (n=25)	p*
INFa	14.2 (0 - 64.1) IQR (3.2 - 25.3)	38.9 (0 - 193) IQR (15 - 74.9)	0.04	15 (0 - 52.3) IQR (6.7 - 40.1)	0.45	17.4 (0 - 54.4) IQR (3.7 - 28.7)	0.63
IP-10	4673 (11 - 6111) IQR (853.5 - 5636.7)	1014.7 (105 - 6111) IQR (214.1 - 2094.6)	0.09	329.7 (39 - 4583) IQR (190.1 - 583.6)	0.02	133.6 (5 - 539) IQR (84.2 - 164.5)	0.002
MCP-1	333 (8 - 1120) IQR (77.9 - 948.7)	566.2 (70 - 5401) IQR (204.55 - 1518.7)	0.28	257.9 (102 - 828) IQR (165.1 - 391.5)	0.87	136.9 (0 - 1268) IQR (89 - 177.6)	0.35
IL-8	406.6 (4 - 2477) IQR (32.2 - 874.2)	106.8 (17 - 12235) IQR (35.6 - 211.1)	0.56	30 (11 - 112) IQR (21.4 - 48.5)	0.05	19.7 (1 - 57) IQR (13.6 - 24.9)	0.004
IL-6	208.5 (2 - 4498) IQR (5.7 - 358.5)	18.8 (0 - 8414) IQR (2.6 - 107.6)	0.24	3 (0 - 66) IQR (1.32 - 5.75)	0.004	3 (0 - 10) IQR (2.1 - 3.9)	0.001
MIG	944.7 (2 - 14468) IQR (18 - 4957.8)	27.8 (2 - 1898) IQR (9.4 - 99.2)	0.05	11.4 (2 - 301) IQR (5.7 - 36.9)	0.02	3.5 (1 - 111) IQR (2 - 64)	0.001
RANTES	7.5 (3 - 21) IQR (3.2 - 18.8)	3.8 (1 - 25) IQR (3 - 5.4)	0.18	2.5 (1.8 - 13) IQR (2 - 3.4)	0.003	2.2 (0 - 11) IQR (1.9 - 4.1)	0.003

*vs cefalea

Los resultados se expresan como mediana (mínimo-máximo) e intervalos intercuartiles (IQR).

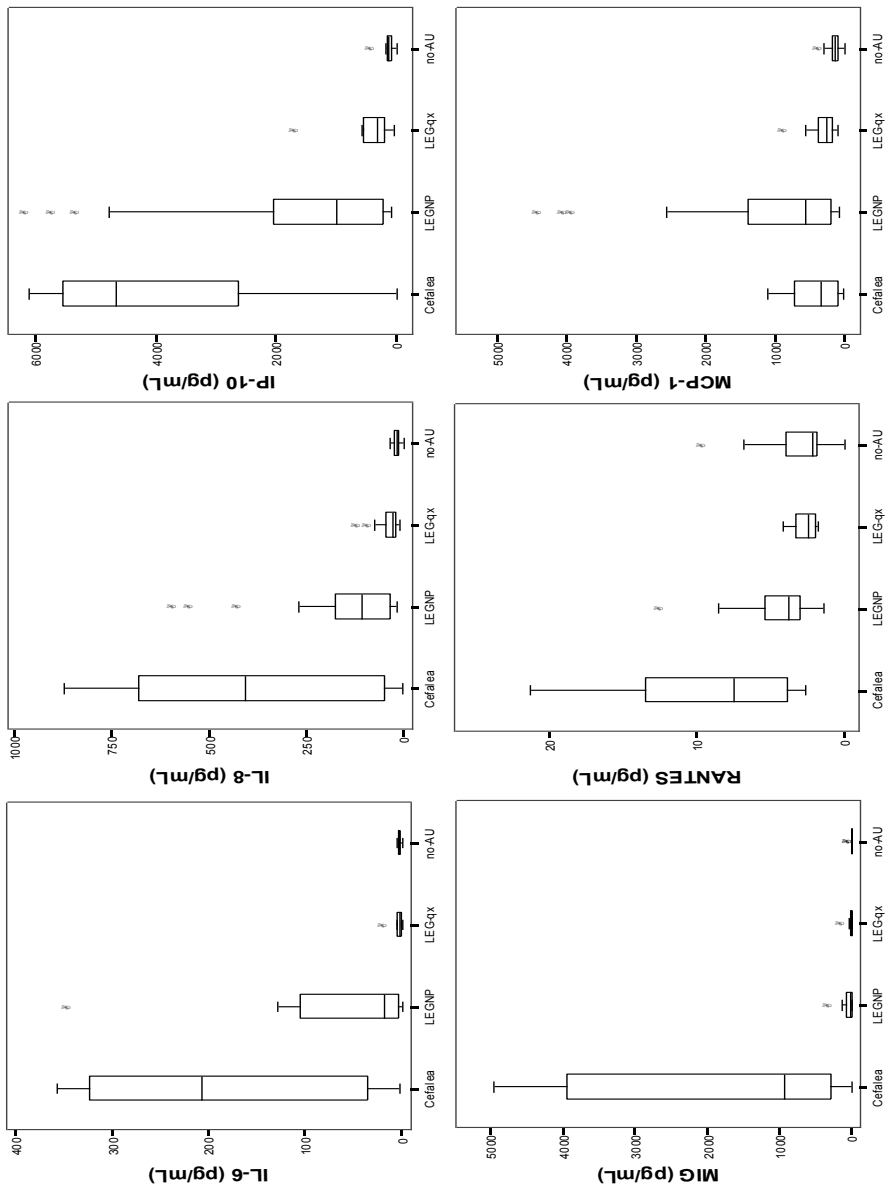


Figura 1. Niveles de IL-6 y quimiocinas en LCR de los grupos de pacientes

Posteriormente comparamos al grupo de los pacientes con LEGNP contra los pacientes sin enfermedades autoinmunes, para constatar que persistieran las diferencias. Se observó diferencia estadísticamente significativa para todas las citocinas y quimiocinas incluidas en la tabla ($p=0.05$ para IFN- α , $p=0.016$ para RANTES, y todas las demás con $p < 0.001$)

Una vez establecido esto, se compararon los pacientes con cefalea vs. los pacientes con LEG sin actividad en SNC (LEG-qx), en estos se observó diferencia estadísticamente significativa para IL-6, IL-8, RANTES, MIG e IP-10 (Tabla 1). Al comparar los pacientes con LEGNP vs. los pacientes con LEG-qx hubo diferencia estadísticamente significativa para IL-6 ($p=0.003$), IL-8 ($p=0.001$), RANTES ($p=0.017$) e IFN α ($p=0.047$); mostraron tendencia estadística IP-10 ($p=0.083$) y MCP-1 ($p=0.088$) y se perdió la diferencia para MIG ($p=0.191$).

Finalmente, se realizó la comparación entre los pacientes con cefalea vs. los pacientes con LEGNP. En esta solamente hubo diferencias significativas en IFN- α (mayor para LEGNP) y en MIG (mayor para cefalea) y una tendencia estadística para IP-10.

CONTROL A LOS 6 MESES

Solamente fue posible obtener una muestra 6 meses posterior al evento de actividad al SNC, una vez que la cefalea había remitido en 4 de los 7 pacientes estudiados. El comportamiento de las citocinas y quimiocinas se muestran en la figura 2.

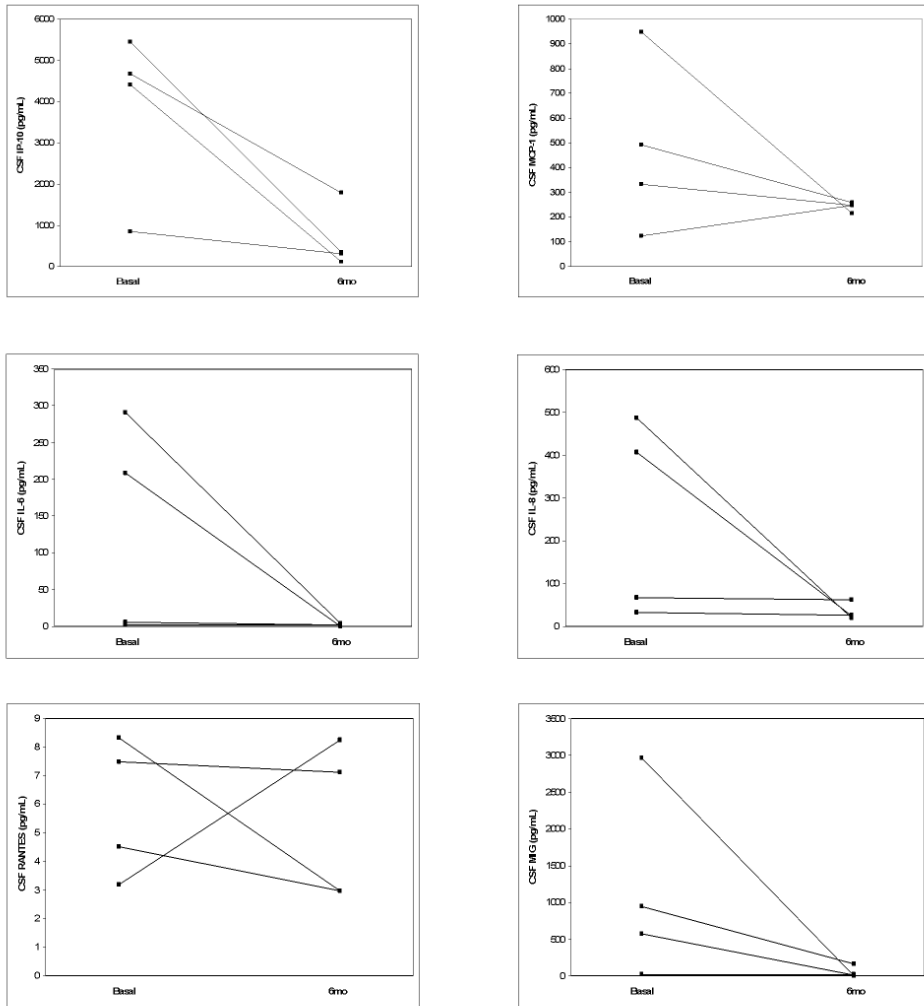


Figura 2

AUTOANTICUERPOS EN EL LCR

La cantidad de pacientes en cada uno de los grupos que fueron positivos para anticuerpos anti-DNA_{dc}, anti-P ribosomal y anti-NMDAR se muestran en la tabla 3. Al comparar los pacientes con cefalea vs. el grupo de LEGNP no se encontraron diferencias en la prevalencia de ninguno de los anticuerpos. Solamente los anticuerpos anti-NMDA fueron capaces de diferenciar los grupos de pacientes con cefalea vs. LEG-qx y vs. no-AU.

Tabla 3

Anticuerpo	Cefalea	LEGNP	p*	Surgical-SLE	p*	Non-AU	p*
Anti-P ribosomal	2/6 (33%)	14/26 (54%)	0.654	5/16 (31%)	1.0	1/17 (6%)	0.155
Anti-DNA _{ds}	4/6 (66%)	21/26 (81%)	0.59	10/16 (62%)	1.0	0/17 (0%)	0.002
Anti-NMDA	3/6 (50%)	9/23 (39%)	0.669	0/12 (0%)	0.025	1/25 (4%)	0.016

*vs. cefalea

DISCUSIÓN

Como se señaló inicialmente, la cefalea se encuentra entre la amplia gama de manifestaciones que puede presentar el LEG como dato de afección al SNC, y está incluida dentro de los 19 síndromes neurológicos aceptados por el ACR (65). Sin embargo, la atribución de la cefalea al LEG es complicada.

Respecto a esto, en un artículo diseñado para la validación de los criterios del ACR para manifestaciones del LEGNP, se decidió eliminar a la cefalea como manifestación atribuible del LEG (71). Esto basado en una alta prevalencia en los controles sanos (24%) a pesar de que hubo una prevalencia aún mayor en los pacientes con LEG (54%), sin embargo, la gran cantidad de controles con cefalea ocasionan una disminución en la especificidad. También se basaron para esta decisión en un reporte que demostró falta de asociación entre la actividad del LEG y la cefalea (66).

Este estudio ocasionó, que en los artículos que han resultado de una importante cohorte internacional multicéntrica creada para estudiar la afección NP del LEG, todos los casos de cefalea fueran descartados (67).

El hecho de encontrar algún biomarcador claramente asociado al LEGNP, que estuviera presente también en los pacientes con cefalea, permitiría confirmar que esta es una manifestación del LEG, y a la postre identificar claramente a los pacientes con cefalea atribuible de aquellos con cefalea “convencional”. Lamentablemente a la fecha no existe tal biomarcador.

Los hallazgos previos de nuestro grupo, si bien no permitieron encontrar un biomarcador preciso para el diagnóstico de la actividad NP del LEG, sirvieron para describir un peculiar perfil de citocinas y quimiocinas representativo de estos pacientes (61).

Es por eso que se llevó a cabo este subanálisis en el cual se utilizaron pacientes previamente estudiados con cefalea como manifestación de actividad del LEG a SNC, estos pacientes fueron cuidadosamente seleccionados, de acuerdo a las características señaladas en el apartado correspondiente.

Nuestros resultados corroboran la presencia de un perfil inflamatorio caracterizado por IL-6 y quimiocinas en el LCR de 7 pacientes con LEG y cefalea como manifestación NP de acuerdo a los criterios de atribución del ACR. Estas moléculas no se encuentran elevadas en la misma proporción

en los pacientes con LEG no NP y presentan un patrón similar, aunque no idéntico, al observado en el LCR de pacientes con otras manifestaciones centrales de LEGNP. El papel potencial de estas moléculas dentro de la fisiopatogenia de la enfermedad se describen en otra parte (61,73), en este momento a manera de resumen podemos señalar que la principal función de estas moléculas es como quimioatrayentes, pero además de esto tienen un papel modulador en la intensidad y calidad de la respuesta inflamatoria.

De esta forma la presencia de las moléculas encontradas habla de que en efecto, existe inflamación significativa en el grupo estudiado, además de que esta respuesta tiene un patrón similar al encontrado en otros pacientes con LEGNP, sin embargo, la falta de un control de pacientes con cefalea, sin otra manifestación neurológica ni enfermedad autoinmune, y un grupo de pacientes con LEG y cefalea no atribuible, no hace posible asegurar que este patrón inflamatorio permita diferenciar los pacientes con LEG de aquellos con cefalea “convencional”, lamentablemente, es difícil incluir estos grupos por razones éticas.

Solamente existe un estudio que ha investigado los niveles de algunas citocinas y quimiocinas en el LCR de pacientes con cefalea (74), es este se

midieron los niveles de IL-1 β , IL-1r α , IL-4, IL-10, TNF- α , MCP-1 y TGF- β 1 y se observó un incremento en los niveles de IL-1r α , MCP-1 y TGF- β en los pacientes con cefalea al compararlos con controles sin dolor, aunque esta elevación fue de muy bajo grado, encontrando gran sobreposición en los niveles de las moléculas estudiadas. Debido a la posible variabilidad en los ensayos y al hecho de que en este estudio no se midieron las mismas moléculas, no es posible realizar un comparación directa con nuestra población.

La presencia de anticuerpos anti-NMDAR en un porcentaje incrementado de los pacientes con cefalea también es sumamente interesante. Los anticuerpos anti-NMDA se han asociado a las manifestaciones difusas del LEGNP (75), lamentablemente, no demostraron ser capaces de diferenciar entre los pacientes con LEG con actividad NP vs. meningitis (62), por lo cual su utilidad como biomarcador es limitada.

Es importante señalar que de los pacientes con LEG, sin actividad NP, ninguno tuvo anticuerpos anti-NMDAR positivos; mientras que de los pacientes con cefalea 3/6 (50%) tuvieron anticuerpos positivos, siendo esta

diferencia estadísticamente significativa. La mayor prevalencia de estos anticuerpos también apoya la atribución de esta manifestación al LEGNP.

CONCLUSIÓN

En resumen, nuestros hallazgos, aunque con algunas limitantes ya mencionadas, apoyan que existe un grupo de pacientes con LEG y cefalea, que tienen un perfil inflamatorio en el LCR, caracterizado por IL-6 y quimiocinas y en algunos casos por anticuerpos anti-NMDA y en los que muy probablemente la cefalea es una manifestación de actividad de la enfermedad a nivel del SNC.

BIBLIOGRAFÍA

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

9. Jennekens FGI, Kater L. The central nervous system in systemic lupus erythematosus. Part 2. Pathogenetic mechanisms of clinical syndromes: a literature investigation. *Rheumatology (Oxford)* 2002;41: 619-30.
10. Ferro D, Basili S, Roccaforte S, et al. Determinants of enhanced thromboxane biosynthesis in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1999;42:2689-97.
11. Bruce IN, Gladman DD, Urowitz MB. Premature atherosclerosis in systemic lupus erythematosus. *Rheum Dis Clin N Am* 2000;26:257-78.
12. Manzi S. Systemic lupus erythematosus: a model for atherogenesis? *Rheumatology* 2000;39:353-9.
13. Jouhikainen T, Stephansson E, Leirisalso-Repo M. Lupus anticoagulant as a prognostic marker in systemic lupus erythematosus. *Br J Rheumatol* 1993;32:568-73.
14. Alarcon-Segovia D, Deleze M, oria CV, et al. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome in systemic lupus erythematosus. A prospective analysis of 500 consecutive patients. *Medicine (Baltimore)* 1989;68:353.65.
15. Ginsburg KS, Liang MH, Newcomer L, Goldhaber SZ, Schur PH, Hennekens CH. Anticardiolipin antibodies and the risk of ischemic stroke and venous thrombosis. *Ann Intern Med* 1992;117:997-1002.
16. Ahmed E, Stegmayr B, Trifunovic J, Weinehall L, Hallmans G, Lefvert AK. Anticardiolipin antibodies are not an independent risk factor for stroke. An incident case-referent study nested within the MONICA and Västerbotten Cohort Project. *Stroke* 2000;31:1289-93.
17. Johnson RT, Rhichardson EP. The neurological manifestations of systemic lupus erythematosus: a clinico-pathological study of 24 cases and review of the literature. *Medicine (Baltimore)* 1968;47:337-69.

18. Devinsky O, Petito CK, and Alonso DR. Clinical and Neuropathological findings in systemic lupus erythematosus: The role of vasculitis, heart emboli, and thrombotic thrombocytopenic purpura. *Ann Neurol* 1988;23:380-384.
19. Hanly JG, Noreen MG, and Sangalang V. Brain pathology in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatology* 1992;19:732-741.
20. Ross R. Atherosclerosis an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999;340:115-26.
21. Harats D, Geroge J, Levy Y, Khamashta MA, Hughes GR, Sheonfeld Y. Atheroma: links with antiphospholipid antibodies, Hughes syndrome and lupus. *Q J Med* 1999;92:57-9.
22. Borba EF, Bonfa E, Vinagre CG, Ramires JA, Maranhao RC. Chylomicron metabolism is markedly altered in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2000;43:1033-44.
23. Baigent C. Premature cardiovascular disease in chronic renal failure. *Lancet* 1999;353:1348-53.
24. West SG, Emlen W, Wener MH, Kotzin BL. (1995) Neuropsychiatric Lupus Erythematosus: A 10-year Prospective Study on the Value of Diagnostics Test. *Am J Med* 99: 153-163.
25. Hay EM, and Isenberg DA. (1993) Autoantibodies in Central Nervous System Lupus. Clinical review. *Br J Rheumatol* 32: 329-332.
26. Greenwood D, Gitlits VM, Alderuccio F, Sentry JW and Tho B. (2002) Autoantibodies in Neuropsychiatric Lupus. *Autoimmunity* 35: 79-86.
27. Yoshio T, Onda K, Nara H, Minota S. Association of IgG anti-NR2 glutamate receptor antibodies in cerebrospinal fluid with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2006;54:675-681.

28. Hanly JG, Rabichaud J, Fisk JD. (2006) Anti-NR2 glutamate receptor antibodies and cognitive function in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 33: 1553-8.
29. Toubi E, Kamashta MA, Panarra A, Hughes GR. (1995) Association of antiphospholipid Abs with central nervous system disease in systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 99: 397-401.
30. Herranz MT, River G, Kamashta MA, Blaser KU and Hughes G. (1994) Association between antiphospholipid antibodies and epilepsy in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 37: 568-571
31. Zandman-Goddard G, Chapman J and Shoenfeld Y. Autoantibodies involved in neuropsychiatric SLE and Antiphospholipid Syndrome. *Semin Arthritis Rheum* 2007;36:297-315.
32. Bluestein HG, Williams GW, Steinberg AD. (1981) Cerebrospinal fluid antibodies to neuronal cells: associations with neuropsychiatric manifestations of systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 70: 240-6.
33. Bonfa E, Golombek SJ, Kaufman LD, Skelly S, Weissbach H, et al. Association between lupus psychosis and anti-ribosomal P protein antibodies. *N Eng J Med* 1987;317: 265-71.
34. Schneebaum AB, Singleton JD, Sterling GW, Blodgett JK, Allen LG, et al. (1991) Association of psychiatric manifestations with antibodies to ribosomal P proteins in systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 90: 54-62.
35. Isshi K and Hirohata SH. (1998) Differential roles of the anti-ribosomal P antibody and antineuronal antibody in the pathogenesis of central nervous system involvement in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 41: 1819-1827.
36. Pereira RM, Yoshinari NH, de Oliveira RM, Cossermelli W. (1992) Antiganglioside Abs in patients with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Lupus* 1: 175-9.

37. Kowal C, DeGiorgio LA, Lee JY, Edgar MA, Huerta PT, et al. (2006) Human lupus autoantibodies against NMDA receptors mediate cognitive impairment. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103: 19854-19859.
38. Denburg JA, Carbotte RM, Denburg SD. Neuronal Abs and cognitive function in systemic lupus erythematosus. *Neurology* 1987;37:464-7.
39. Hanly JG, Behman S, Denburg SD, Carbotte RM, Denburg JA. The association between sequential changes in serum antineuronal Abs and neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Postgrad Med J* 1989;65:622-7.
40. Ebert T, Chapman J, Shoenfeld Y. Anti-ribosomal P protein and its role in psychiatric manifestations of systemic lupus erythematosus: myth or reality? *Lupus* 2005;14:571-5.
41. Koffler D, Miller TE, Lahita RG. Studies on the specificity and clinical correlation of antiribosomal Abs in systemic lupus erythematosus sera. *Arthritis Rheum* 1979;22:463-70.
42. Bonfa E, Elkon KB. Clinical and serologic associations of the antiribosomal P protein antibody. *Arthritis Rheum* 1986;29:981-5.
43. Sato T, Uchiumi T, Ozawa T, Kikuchi M, Nakano M, Kominami R, et al. AutoAbs against ribosomal proteins found with high frequency in patients with systemic lupus erythematosus with active disease. *J Rheumatol* 1991;18:1681-4.
44. Martin AL, Reichlin M. Fluctuations of antibody to ribosomal P proteins correlate with appearance and remission of nephritis in SLE. *Lupus* 1996;5:22-9.
45. Reichlin M, Wolfson-Reichlin M. Evidence for the participation of anti-ribosomal P Abs in lupus nephritis. *Arthritis Rheum* 1999;42:2728-9.
46. Reichlin M. Ribosomal P Abs and CNS lupus. *Lupus* 2003;12:916-8.

47. McLaurin EY, Holliday SL, Williams P, Brey RL. Predictors of cognitive dysfunction in patients with systemic lupus erythematosus. *Neurology* 2005;64:297-303.
48. Georgescu L, Mevorach D, Arnett FC, Reveille JD, Elkon KB. Anti-P Abs and neuropsychiatric lupus erythematosus. *Ann NY Acad Sci* 1997;823:263-9.
49. Yoshio T, Hirata D, Onda K, Nara H, Minota S. Antiribosomal P proteins Abs in cerebrospinal fluid are associated with neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *J Rheum* 2005;32:34-9.
50. Gaynor B, Putterman C, valadon P, Spatz L, Scharff MD, Diamond B. Peptide inhibition of glomerular deposition of an anti-DNA antibody. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997;94:1955-60.
51. De Giorgio LA, Konstantinov KN, Lee SC, Hardin JA, Volpe VT, Diamond B. A subset of lupus anti-DNA antibodies cross-reacts with the NR2 glutamate receptor in Systemic Lupus Erythematosus. *Nat Med* 2001; 7:1189-93.
52. Alcocer-Varela J, Aleman-Hoey D, Alarcon-Segovia D. Interleukin-1 and interleukin-6 activities are increased in the cerebrospinal fluid of patients with CNS lupus erythematosus and correlate with local late T-cell activation markers. *Lupus* 1992; 1:111-7.
53. Hirohata S, Tanimoto K, Ito K. Elevation of cerebrospinalfluid interleukin-6 activity in patients with vasculitides and central nervous system involvement. *Clin Immunol Immunopathol* 1993; 66:225-229.
54. Trysberg E, Carlsten H, Tarkowski A. Intrathecal cytokines in systemic lupus erythematosus with central nervous system involvement. *Lupus* 2000; 9:498-503.
55. Svenungsson E, Andersson M, Brundin L, van Vollenhoven R, Khademi M, Tarkowski A, et al. Increased levels of proinflammatory cytokines and nitric oxide metabolites in neurophychiatric lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2001; 60:372-9.

56. Trysberg E, Blennow K, Zachrisson O, Tarkowski A. Intrathecal levels of matrix metalloproteinases in systemic lupus erythematosus with central nervous system engagement. *Arthritis Res Ther* 2004; 6: R551-6
57. Ikuni N, Okamoto H, Yoshio T, Sato E, Kamitsuji S, Iwamoto T, et al. Raised monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1)/CCL2 in cerebrospinal fluid of patients with neuropsychiatric lupus. *Ann Rheum Dis* 2006; 65:253-6.
58. Okamoto H, Katsumata Y, Nishimura K, Kamatani N. Interferon-inducible protein 10/CXCL10 is increased in the cerebrospinal fluid of patients with central nervous system. *Arthritis Rheum* 2004; 50:3731-2
59. Yajima N, Kasama T, Isozaki T, Odai T, Matsunawa M, Negishi M, et al. Elevated levels of soluble fractalkine in active systemic lupus erythematosus. Potential involvement in neuropsychiatric manifestations. *Arthritis Rheum* 2005; 52:1670-5.
60. Kasama T, Tsuyoshi O, Wakabayashi K, Yajima N, Miwa Y. Chemokines in systemic lupus erythematosus involving the central nervous system. *Front Biosci* 13:2527-36, 2008.
61. Fragoso-Loyo H, Richaud-Patin Y, Orozco-Narváez A, Dávila L, Atisha-Fregoso Y, Llorente L, Sánchez-Guerrero J. Interleukin-6 and chemokines in the neuropsychiatric manifestations of systemic lupus erythematosus. *Arthritis and Rheumatism* 56:1242-1250, 2007.
62. Fragoso-Loyo H, Cabiedes J, Orozco-Narvaez A, Davila-Maldonado L, Atisha-Fregoso Y, Diamond B, Llorente L, Sanchez-Guerrero J. Serum and cerebrospinal fluid autoantibodies in patients with neuropsychiatric lupus erythematosus. Implications for diagnosis and pathogenesis. *PLoS ONE* 3 (10):e3347, 2008.
63. Fragoso-Loyo H, Cabiedes J, Richaud-Patin Y, Orozco-Narváez A, Diamond B, Llorente L, Sanchez-Guerrero J. Inflammatory profile in the cerebrospinal fluid of patients with central neuropsychiatric lupus, with and without associated factors. *Rheumatology* 48:1615-1616, 2009

64. Frago-Loyo H, Cabiedes J, Atisha-Fregoso Y, Llorente L, Sanchez-Guerrero J. Utility of serum S100B protein for the identification of central nervous system involvement in systemic lupus erythematosus. *Journal of Rheumatology* 37:2280-2285, 2010
65. ACR ad hoc committee on neuropsychiatric lupus nomenclature. The American College of Rheumatology nomenclature and case definitions for neuropsychiatric lupus syndromes. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 599-608.
66. Omdal R, Waterloo K, Koldingsnes W, Husby G, Mellgren SI. Somatic and psychological features of headache in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2001; 28: 772-9.
67. Hanly JG, Urowitz MB, Sanchez-Guerrero J, Bae SC, Gordon C, Wallace DJ, Isenberg D, Alarcón GS, Clarke A, Bernatsky S, Merrill JT, Petri M, Dooley MA, Gladman D, Fortin PR, Steinsson K, Bruce I, Manzi S, Khamashta M, Zoma A, Aranow C, Ginzler E, Van Vollenhoven R, Font J, Sturfelt G, Nived O, Ramsey-Goldman R, Kalunian K, Douglas J, Thompson K, Farewell V; Systemic Lupus International Collaborating Clinics. Neuropsychiatric events at the time of diagnosis of systemic lupus erythematosus: an international inception cohort study. *Arthritis Rheum.* 2007; 56: 265-73.
68. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982;25:1271-7.
69. Gladman D, Ibanez D, Urowitz MB. Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000. *J Rheumatol* 2002;29:288-91.
70. Gladman D, Ginzler E, Goldsmith C, Fortin P, Liang M, Urowitz M, et al. The development and initial validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics/American College of Rheumatology Damage Index for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1996;39:363-9.

71. Ainiola H, Hietaharju A, Loukkola J, Peltola J, Korpela M, Metsanoja R, et al. Validity of the new American College of Rheumatology criteria for neuropsychiatric lupus syndromes: a population-based evaluation. *Arthritis Rheum* 2001;45:419–23.
72. Kowal C, DeGiorgio LA, Lee JY, Edgar MA, Huerta PT, et al. Human lupus autoantibodies against NMDA receptors mediate cognitive impairment. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:19854–9.
73. Okamoto H, Kobayashi A, Yamanaka H. Cytokines and chemokines in neuropsychiatric syndromes of systemic lupus erythematosus. *J Biomed Biotechnol.* 2010; 2010: 268436
74. Bø SH, Davidsen EM, Gulbrandsen P, Dietrichs E, Bovim G, Stovner LJ, White LR. Cerebrospinal fluid cytokine levels in migraine, tension-type headache and cervicogenic headache. *Cephalalgia.* 2009; 29: 365-72
75. Arinuma Y, Yanagida T, Hirohata S. Association of cerebrospinal fluid anti-NR2 glutamate receptor antibodies with diffuse neuropsychiatric systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2008;58:1130-5.

