

## Información Importante

La Universidad de La Sabana informa que el(los) autor(es) ha(n) autorizado a usuarios internos y externos de la institución a consultar el contenido de este documento a través del Catálogo en línea de la Biblioteca y el Repositorio Institucional en la página Web de la Biblioteca, así como en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad de La Sabana.

Se permite la consulta a los usuarios interesados en el contenido de este documento, para todos los usos que tengan finalidad académica, nunca para usos comerciales, siempre y cuando mediante la correspondiente cita bibliográfica se le dé crédito al trabajo de grado y a su autor.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, La Universidad de La Sabana informa que los derechos sobre los documentos son propiedad de los autores y tienen sobre su obra, entre otros, los derechos morales a que hacen referencia los mencionados artículos.

**BIBLIOTECA OCTAVIO ARIZMENDI POSADA**  
UNIVERSIDAD DE LA SABANA  
Chía - Cundinamarca

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

**PERFIL DE PROLACTINA Y  
ESTRADIOL EN UNA COHORTE DE  
MUJERES COLOMBIANAS CON  
LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO**

AGOSTO, 2013

## Tabla de Contenidos

- 1 Introducción
- 2 Objetivos
  - 2.1 Objetivo General
  - 2.2 Objetivos Específicos
- 3 Fortalezas e Impacto de la Investigación
- 4 Revisión de la Literatura y Marco Teórico
- 5 Materiales y Métodos
- 6 Plan de Análisis
  - 6.1 Operacionalización de Variables
- 7 Resultados
- 8 Discusión
- 9 Conclusiones
- 10 Agradecimientos

## 1. INTRODUCCIÓN

El Lupus Eritematoso Sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune con afectación multisistémica de gran variabilidad en su presentación y curso. Su diagnóstico se basa en características clínicas y de laboratorio en ausencia de otra enfermedad autoinmune que pueda explicar dichos hallazgos (1).

Aunque el LES puede desarrollarse a cualquier edad, las mujeres en edad fértil son las principalmente afectadas. La relación mujer/hombre entre los 15 y 50 años de edad es > 8:1, mientras que llega a ser hasta 2:1 cuando ocurre durante la niñez o después de la menopausia. Esta prevalencia observada tanto en pacientes como en modelos animales, ha llevado a plantear la intervención de hormonas en el desarrollo y actividad de la misma (2).

La relación entre el sistema neuroendocrino y el sistema inmune ha sido ampliamente demostrada. Comparten una red de conexiones mediadas por vías nerviosas, circuitos hormonales, interacciones celulares y humorales, así como una multitud de citoquinas, neuropéptidos y quemoquinas. De una interacción recíproca y modulada entre ambos sistemas depende el mantenimiento de la homeostasis. El desarrollo de una enfermedad multisistémica como el LES es el resultado del rompimiento de la misma (3).

El LES se caracteriza por periodos de exacerbaciones y remisiones de la actividad de la enfermedad (4). Varios determinantes de este comportamiento han sido estudiados, sin que se haya esclarecido uno en especial; sin embargo, derivado de estudios observacionales de estados fisiológicos relacionados con aumento de actividad (por ejemplo, el embarazo) varios autores han demostrado la asociación con algunas hormonas. Entre las principales que han demostrado tener un efecto inmunomodulador se encuentran el estrógeno y la prolactina (5).

En la población del hospital de la Samaritana, punto de referencia de todo el departamento de Cundimarca – Colombia, se ha determinado una alta incidencia de pacientes con LES. Dentro de estos, se presentan casos que a pesar de un manejo adecuado muestran altos niveles de actividad que llevan a complicaciones incluso fatales.

Con el fin de esclarecer desencadenantes de la actividad en LES e investigar si hallazgos en estudios internacionales se reproducen en nuestra población, se propone en este estudio describir los niveles de las hormonas prolactina y estrógeno, así como establecer si existe asociación entre estos niveles con la actividad de la enfermedad y de esta manera contribuir a una enfermedad de alto impacto a nivel mundial cuyos descubrimientos actuales puedan verse en un futuro trasladados al ámbito de la terapéutica (6).

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GENERAL**

- Describir los niveles de estradiol y prolactina en pacientes con diagnóstico de Lupus Eritematoso Sistémico, comparar estos niveles en pacientes con LES activo con aquellos con LES no activo, que acuden al Hospital Universitario de la Samaritana y establecer si hay diferencias.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Cuantificar los niveles de Estradiol y Prolactina en pacientes con LES activo y no activo en la población de estudio, controlando al máximo agentes que pudieran producir sesgos en sus resultados.
- Determinar si hay relación de la actividad de LES y las fases del ciclo menstrual.
- Describir los sistemas más afectados en las mujeres con LES activo, y su relación con niveles de prolactina y estradiol a través de índices órgano específicos.

## **3. FORTALEZAS E IMPACTO DE LA INVESTIGACIÓN**

- Uso de BILAG como índice órgano específico
- Medición de 3 muestras de prolactina por separado y promedio, método más exacto para determinar niveles reales, el cual no ha sido descrito en otros estudios.
- Toma inmediata de hormonas con respecto a examen clínico (otros estudios no lo describen) y simultánea con los estudios de valoración de actividad del LES.

- Máximo control de situaciones que puedan elevar los niveles hormonales (otros estudios no lo hacen)
- Instrumento para definir si las pacientes con LES activo del Hospital Universitario de la Samaritana se beneficiarían en el futuro del uso de antagonistas hormonales, como alternativa terapéutica.

#### **4. REVISIÓN DE LA LITERATURA Y MARCO TEÓRICO**

##### **LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO (LES)**

El LES es el prototipo de enfermedad autoinmune (EAI) no-órgano específica ó sistémica donde el proceso puede afectar varios órganos, caracterizado por un proceso inflamatorio crónico y daño en los sistemas debido, principalmente, al depósito de complejos inmunes y activación del sistema de complemento. Su curso clínico está caracterizado por periodos de exacerbaciones y remisiones (7).

##### **EPIDEMIOLOGIA**

El LES puede afectar a gente de toda edad y grupo étnico; sin embargo tiene un impacto desproporcionado en mujeres en edad fértil y ciertos grupos étnicos con una mayor frecuencia de presentación y carga de la enfermedad (8).

La relación mujer/hombre ha sido reportada entre 8-9:1 en pacientes de edades comprendidas entre 15-50 años, mientras que esta relación disminuye hasta 2:1 cuando la enfermedad se presenta durante la niñez o después de la menopausia (2).

El LES ha sido reportado por la mayoría de países alrededor del mundo, sin embargo la epidemiología varía mucho dependiendo del tipo de información utilizada para definir los casos de LES, cómo han sido obtenidos los casos y la población de riesgo estudiada (8).

Las tasas de incidencia anual varían de 1 a 10 /100000 personas a nivel mundial (9); la epidemiología en los países en vías de desarrollo no está bien establecida, sin embargo, derivado de los estudios formales, se estima que la frecuencia es similar e incluso mayor que en los países industrializados. En un estudio en Brasil se reporta una incidencia anual de 8.7/100000 y se reportan tasas de prevalencia por 100000

personas de 12.2 en negros de Sudáfrica, 19.3 en Arabia Saudita, 60 en Hong Kong y 159 en Puerto Rico (10). De manera general las tasas de incidencia son más altas en hispanos, nativos americanos, negros y sud asiáticos (11).

En los EEUU, la probabilidad de que una mujer caucásica desarrolle la enfermedad durante su vida es de 1 en 700, siendo ésta 2 a 4 veces mayor en mujeres negras e hispánicas (2).

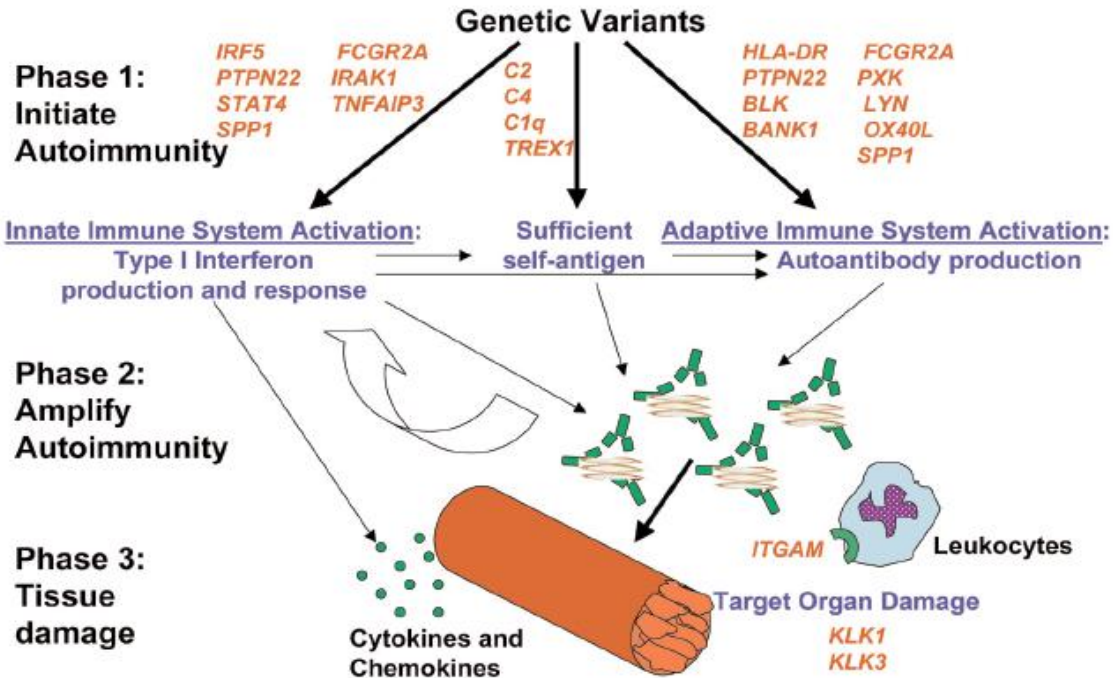
Son pocos los estudios epidemiológicos realizados en América Latina.

Se ha determinado, que los países desarrollados tienen mejores tasas de supervivencia que los subdesarrollados. Esto se ha relacionado en parte con factores como acceso al cuidado médico, disponibilidad de cuerpo médico, niveles de educación y adherencia al tratamiento (11).

## **FISIOPATOLOGÍA**

La etiopatogenia del LES incluye: predisposición genética, desencadenantes ambientales y eventos al azar, como se ha demostrado en modelos murinos desde 1980. Estos factores juegan un papel a nivel del sistema inmune interactuando entre si hasta el desarrollo de la autoinmunidad (6).

Muchos descubrimientos se han hecho a lo largo de los años acerca de los genotipos predisponentes, encontrándose algunos genes involucrados; así como se han planteado teorías como la de las células apoptóticas cuyo ADN genera la autoinmunidad, linfocitos B y T “hiperreactivos” y autorreactivos. Se ha dado más peso al papel de las citoquinas como perpetuadoras de la enfermedad y su papel en el daño de órganos específicos, así como en la actividad de la misma. Por lo que se establece como una enfermedad multifactorial en la que todavía queda mucho por determinar (6).



(*Arthritis Research & Therapy* 2009, 11:245)

Figura 1

## DIAGNÓSTICO DE LES

El diagnóstico se basa en el hallazgo de características clínicas y de laboratorio en el contexto de un paciente enfermo, en la ausencia de otra enfermedad autoinmune que pueda explicar dichos hallazgos. En el momento del diagnóstico, la mayoría de pacientes, aunque no todos, tienen al menos 4 de los 11 criterios clasificatorios determinados en 1982 por el ACR (American College of Rheumatology) que sugieren diagnóstico de LES (12).

Es importante recordar que estos criterios se establecieron con el propósito de uso para estudios clínicos, mas no como diagnóstico ya que más del 50% de pacientes con LES no cumplen con los 4 criterios en el momento, sin embargo prácticamente todos los cumplirán durante el curso de la enfermedad. Son útiles para recordar al médico de los hallazgos más característicos de la enfermedad, pero una historia clínica minuciosa con una exhaustiva revisión por sistemas y factores detonantes, así como historia familiar y el consumo de medicamentos, es esencial en establecer la sospecha (13). (CRITERIOS- VER ANEXO 1)



## ACTIVIDAD DEL LES

La evolución del Lupus Eritematoso Sistémico se caracteriza por presentar exacerbaciones y remisiones de la actividad de la enfermedad. Ha habido múltiples intentos de medir de manera objetiva dichos eventos, por lo que varios índices y escalas han sido creados, así como distintas definiciones para exacerbación (14).

Entre los más utilizados y validados se encuentran: British Isles Lupus Assessment Group (BILAG), European Consensus Lupus Activity Measurement (ECLAM), Systemic Lupus Activity Measure (SLAM), Systemic Lupus International Collaborating Clinics / American College of Rheumatology Damage Index (SLICC/ACR-DI; SDI) y el Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI).

Este último, uno de los más utilizados en nuestro medio, fue establecido por la Universidad de Toronto en 1992 (15) y mide el nivel de actividad en los últimos 30 días. Consiste en un cuestionario que consta de 24 ítems que evalúa 9 sistemas, con una puntuación específica para cada uno de ellos: 8 para el SNC y vascular; 4 para el renal y musculoesquelético; 2 para serosas, dermatológico e inmunológico y 1 para hematológico y síntomas constitucionales. El máximo puntaje posible es 105. Toma menos de 10 minutos la realización del mismo. Tiene buena sensibilidad para detectar diferencias en la actividad de la enfermedad de un mismo paciente entre visita y visita ( $P < 0.04$ ) (16).

Puede catalogarse la actividad de varias maneras: leve, moderada, alta; o simplemente considerar que un valor mayor de 6 (según algunos estudios) como clínicamente relevante y afecta en la decisión de tratar o cambiar de tratamiento (17) (CRITERIOS SLEDAI- VER ANEXO2).

Como se mencionó, otro de los índices de actividad utilizados es el British Isles Lupus Assessment Group (BILAG). Este fue desarrollado por primera vez en 1988 en Inglaterra, a raíz de reuniones de grupos de expertos. Fue desarrollado en base al principio de la "intención a tratar" del médico(18). Esta escala ordinal toma en cuenta características clínicas particulares en 8 órganos y sistemas: general, mucocutáneo, neuropsiquiátrico, musculoesquelético, cardiorrespiratorio, vascular, renal y hematológico. A cada uno se le asigna un grado de actividad de la enfermedad que va

desde A (muy activa), hasta E (nunca activa). Específicamente, A: requiere inmunosupresores y/o prednisolona > 20mg/día (o equivalente); grado B, enfermedad moderada: menor dosis de corticoesteroides, antimaláricos o AINES; grado C, leve: requiere terapia sintomática; grado D: enfermedad no activa actualmente pero el sistema ha estado afectado previamente; grado E, nunca ha estado activa (17).

Evalúa la actividad en las 4 últimas semanas, comparándola con los hallazgos en la última visita y los cambios deben ser secundarios a LES. El índice numérico se asigna de la siguiente manera: 0= Ausente, 1= Mejorando, 2= Igual, 3= Peor, 4= Nuevo o recurrente. (VER ANEXO 3).

Tiene como ventajas que proporciona un punto de vista más preciso de la actividad de la enfermedad en comparación con los índices de actividad global y es particularmente útil en estudios terapéuticos de pacientes con LES.

## **LES Y HORMONAS SEXUALES**

### **ESTRÓGENO**

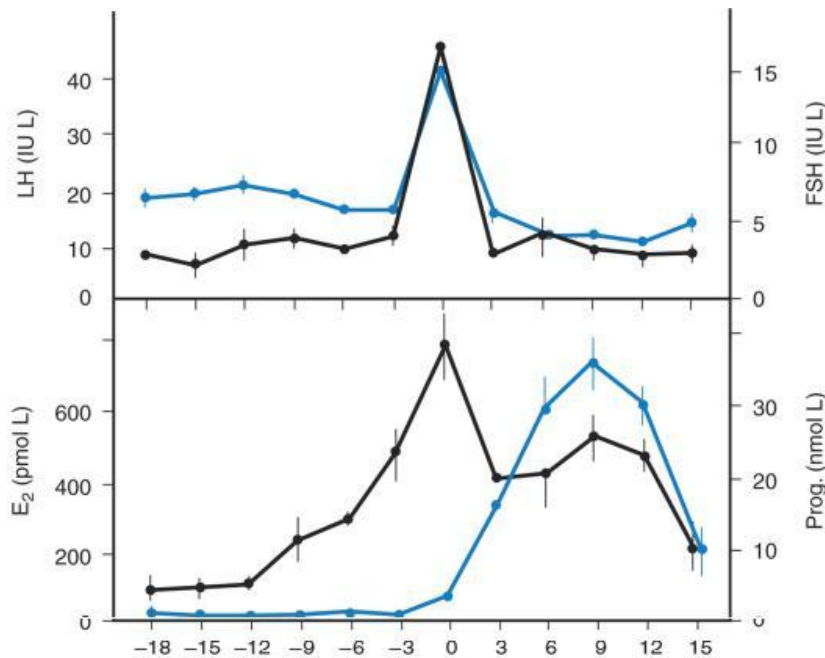
Es una hormona sexual esteroidea producida principalmente por los ovarios. Al igual que el resto de hormonas lipídicas de este tipo, se caracteriza por tener un núcleo con 3 anillos de 6 carbonos unidos a un grupo ciclopentanoperhidrofenantreno (19).

Los 3 tipos de estrógenos clásicos son: estrona, estradiol y estriol. Estos al igual que la progesterona, tienen una variación constante con el ciclo ovulatorio / menstrual.

Un ciclo menstrual inicia el primer día de sangrado menstrual y termina justo antes del siguiente sangrado. La duración de un ciclo en promedio es de 28 días, pero ciclos ovulatorios normales pueden durar de 21 a 40 días. Se divide en 3 fases: folicular, ovulatoria y lútea. El ciclo cumple con el propósito fisiológico de madurar un folículo dominante, para que alrededor del día 14 éste se rompa y tenga lugar la salida del óvulo para la eventual concepción (20).

Así, la hormona folículo estimulante (FSH), juega un papel predominante durante la primera mitad del ciclo. Cerca del 80% de los 500<sup>u</sup>g de estradiol producido a diario justo antes de la ovulación está dado por el folículo dominante; esto desencadena en una señal al eje hipotálamo-hipofisario, lo cual traduce en el pico de LH (hormona

Luteinizante) y la ovulación. Posteriormente si no hubo ovulación, decaen los niveles de estrógenos (duran elevados máximo 48 h) y LH y comienzan a elevarse los de progesterona (20). Los valores aproximados de acuerdo con estas variaciones están establecidos. Es importante tomar en cuenta que existen otros factores que pueden modificar estos niveles como la tasa de producción y la tasa de aclaramiento metabólico de la hormona(19).



**Figura 2** (*J Clin Endocrinol Metab* 76:1080, 1993., modificado)

**Tabla 1. Concentraciones Plasmáticas (C), Tasa de Aclaramiento Metabólico (TAM), y Tasa de Producción (TP) durante el Ciclo Mestrua.**

Hormona Esteroidea	Fase del Ciclo	Concentración Plasmática			Tasa de Aclaramiento Metabólico Plasmático (L/día)	Tasa de Producción (MG/Day) (TP = C × TAM)	
		Media	Rango	Unidades		Media	Rango
Estradiol	Folicular	44	20–120	pg/mL	1350	0.059	0.027–0.162
	Preovulatoria	250	150–600	pg/mL	1350	0.338	0.203–0.810
	Lútea	110	40–300	pg/mL	1350	0.149	0.054–0.405
Progesterona	Folicular	0.2	0.06–0.37	ng/mL	2300	0.46	0.14–0.85
	Lútea	8.9	4.3–19.4	ng/mL	2300	20.5	9.9–45.0

*Traducido de: Stanczyk FZ: Steroid hormones. In Mishell DR Jr, Davajan V, Lobo RA (eds): Infertility, Contraception and Reproductive Endocrinology, 3rd ed. Cambridge, MA, Blackwell Scientific, 1991 (modificado)*

Los receptores de E2 son miembros de la súper familia de receptores hormonales-nucleares y tienen varios dominios funcionales (21).

Hay 2 subtipos de receptores y varias isoformas de cada uno. El primero es el tipo  $\alpha$  y el segundo  $\beta$ . Varían en estructura y sus genes codificantes se encuentran en diferentes cromosomas:  $\alpha$  cromosoma 6,  $\beta$  cromosoma 14. De manera que sus dominios-ligando tienen diferentes afinidades (21).

Tienen además una distribución predominante a nivel de diferentes tejidos, así por ejemplo, el receptor estrogénico (RE)  $\alpha$  se encuentra en endometrio, estroma ovárico y en células cancerígenas del cáncer de mama. El RE  $\beta$  en la granulosa ovárica, espermatides en desarrollo y en tejidos “no clásicos”: riñón, mucosa intestinal, parénquima pulmonar, médula ósea, hueso, cerebro, células endoteliales y próstata (22).

Respecto al sistema inmune, existen RE en la inmunidad celular que se expresan en los monocitos, células NK, LB y asociados a membrana en linfocitos T y macrófagos. Se desconoce el papel específico, aunque se ha relacionado con algunas funciones (22).

## **LES Y ESTRÓGENOS (E2)**

Debido al llamativo predominio del LES en mujeres y de observaciones de exacerbaciones asociadas a estados fisiológicos que cursan con aumento de niveles de estrógenos como la ovulación y embarazo (con el primer reporte de casos en 1944) (23), se ha estudiado el papel inmunomodulador de esta y otras hormonas sexuales (5).

Respecto al papel de los estrógenos en la autoinmunidad, se ha determinado que en los pacientes con LES: se encuentra disminuida la expresión de RE  $\beta$  en células mononucleares periféricas, en tanto se encuentra un aumento de los RE  $\alpha$  en comparación con controles sanos(22).

Análisis de la expresión genómica de Linfocitos B de modelos murinos tratados con estrógenos o placebo, muestran que el E2 favorece la expresión de moléculas de la vía antiapoptótica (Bcl-2) y moléculas de señalización BCR (SHP1 y CD22) (24).

El Bcl-2, es una molécula antiapoptótica que tiene un elemento de respuesta a E2 en su región promotora, ya que se ha demostrado la presencia de RE $\alpha$ . Con esto, se promueve la supervivencia y activación de linfocitos B marginales (24).

Estudios demuestran que el E2 disminuye la linfopoyesis de células B, así como induce atrofia tímica a través de ligarse al RE $\alpha$ , reduciendo así la linfopoyesis de células T, además de causar un incremento en la relación de CD8 sobre CD4 (22).

El E2 afecta también la diferenciación de monocitos, induce apoptosis (dependiente de RE  $\beta$ , incrementa la expresión de FasL), aumenta la síntesis de TNF alfa y disminuye la síntesis de IL10 (22).

Un aumento de los niveles de E2 rompe la tolerancia de linfocitos B reactivos de alta afinidad al ADN; facilita la maduración de células B “naive” autorreactivas y dificulta el desarrollo de las células B protectoras (25).

Un metaanálisis que incluye 8 estudios en mujeres y 11 en hombres(26), tras ajustes estadísticos determina que hay niveles de estradiol persistentemente elevados en mujeres con LES respecto a sus controles sanos, pero no encuentra diferencia estadísticamente significativa en hombres. Esto puede estar relacionado con un aumento en la actividad de la hidroxilasa aromática o el aumento de producción de LH, lo que tiene un efecto de aromatización de la testosterona en mujeres. Por otro lado, se ha reportado que la actividad de la aromatasa está aumentada en pacientes con LES, pero tiene una relación inversamente proporcional a la actividad de la enfermedad (27).

Las principales investigaciones resultan de modelos murinos como la generación F1 híbrida de New Zealand Black con New Zealand White (NZB/NZW F1) en la cual presentan una constelación de signos que asemeja el LES en humanos (28).

En el modelo NZB/NZW F1, al retirar el estímulo de E2 y la adición de andrógenos aumentó la supervivencia. También se ha visto que al administrar E2 se acelera la enfermedad en ambos sexos, mientras que esta se disminuye con la administración de testosterona (28).

E2 causa aumento de autoanticuerpos en ratones no autoinmunes y aumento de inmuno-complejos en la glomerulonefritis (29).

Se ha demostrado en varios modelos murinos que parte de los efectos del E2 sobre los linfocitos B pueden ser bloqueados por la administración de un antiestrógeno como el tamoxifen. Así por ejemplo se ha visto que previene la producción de anticuerpos anti-DNA y de la formación de inmunocomplejos de depósito renal (22).

Por otro lado, se ha reportado un “switch” de patrón de secreción de citoquinas tipo Th1 a Th2 durante periodos de aumento de E2 como el embarazo(30). Esto deriva principalmente de un modelo murino que es espontáneamente resistente a la infección por Leishmania por predominio Th1 (22).

En general el espectro de citoquinas inducido por la presencia de E2 es complejo y dependiente de la combinación de factores activadores (22).

## **PROLACTINA (PRL)**

Es una hormona polipeptídica producida por las células lactotropas de la hipófisis. Es responsable de la iniciación y mantenimiento de la lactancia. Su secreción generalmente se mantiene en niveles bajos por la acción inhibitoria de la dopamina producida por el hipotálamo (31).

Hay una secreción continua de PRL, a la cual se superpone una secreción episódica, pulsátil (cada 8-10 minutos) durante todo el día, y más marcada durante el sueño y luego de la ingestión de alimentos. El nivel sérico aumentado de PRL durante el sueño puede no disminuir inmediatamente al despertar, y por tanto el nivel antes de las 8 a.m. puede ser un 20% más elevado que más tarde durante el día (alcanzando el máximo entre las 3 y las 5 a.m. y disminuye a la hora de levantarse) (31). Existen varios otros factores que actúan como estímulos para la producción de PRL, mencionados en la tabla 2(32).

Debido a estos factores y a que la vida media de la PRL en suero es de 26 – 47 minutos, es recomendable la obtención de tres muestras con un intervalo de 20 – 30 minutos. Estos resultados pueden ser analizados por separado y sus resultados promediados o alternativamente una alícuota de cada muestra puede ser unificada en una muestra final para finalmente ser analizada. La PRL es medida por ensayo inmunométrico (33).

Circula en diferentes tamaños moleculares: monomérica (pequeña) (mol wt 22,000 daltons), polimérica (grande) (mol wt 50,000 daltons) y una forma polimérica más grande (grande-grande) (mol wt > 100,000 daltons). La pequeña es la forma activa y representa el 80% de la secreción total de esta hormona (34).

El valor de referencia de la PRL sérica es de 1-25 ng/mL (1-25 µg/L) para mujeres y 1-20 ng/mL (1-20 µg/L) en hombres. Usualmente la cantidad de elevación se correlaciona con la probabilidad de la presencia de tumor y niveles que exceden 200 ng/mL casi siempre implican la presencia de prolactinoma (35).

**Tabla 2. Causas de hiperprolactinemia:****Fisiológicas:**

Postprandial, estrés, sueño, embarazo, lactancia, actividad sexual, estimulación mamaria

**Patológicas:****Hipofisarias**

Tumor hipofisario: prolactinoma, Macroadenoma/Microadenoma, Síndrome de silla turca vacía  
Sección del tallo hipofisario

**SNC:**

Craniofaringiomas, Irradiación,  
Otros tumores, lesiones de médula espinal,  
Epilepsia

**Endocrinas:**

Ovario poliquístico  
Acromegalia, Síndrome de Cushing  
Hipotiroidismo Primario ( descompensado)  
Tumores secretores de estrógenos

**Miscelaneas:**

Lesiones en la pared torácica  
Enfermedad renal crónica (en Hemodiálisis)  
Cirrosis

**Medicación** (Mencionada en criterios de exclusión)

Idiopática

*Traducido y modificado de: (32) Madhusoodanan S, Parida S, Jimenez C. Hyperprolactinemia associated with psychotropics--a review. Hum Psychopharmacol. 2010 Jun;25(4):281-297.*

Estudios muestran que se observa hiperprolactinemia hasta en el 70% de pacientes con Enfermedad Renal Crónica (ERC) en hemodiálisis (HD). Esto se ha explicado por una disminución del clearance de PRL, pero en mayor proporción por un aumento de su producción. La poca respuesta a la infusión de dopamina en pacientes con ERC en HD sugiere resistencia lactotropa a la dopamina, por lo cual sugiere que este es el mecanismo principal (36).

**LES Y PROLACTINA**

Desde 1930 hay evidencia que respalda el rol de la PRL en la estimulación y modulación del sistema inmune (37).

El receptor de la PRL se ha clasificado como un miembro de la superfamilia de receptores de citoquinas que incluye IL-2, IL-3 y receptores de interferon.

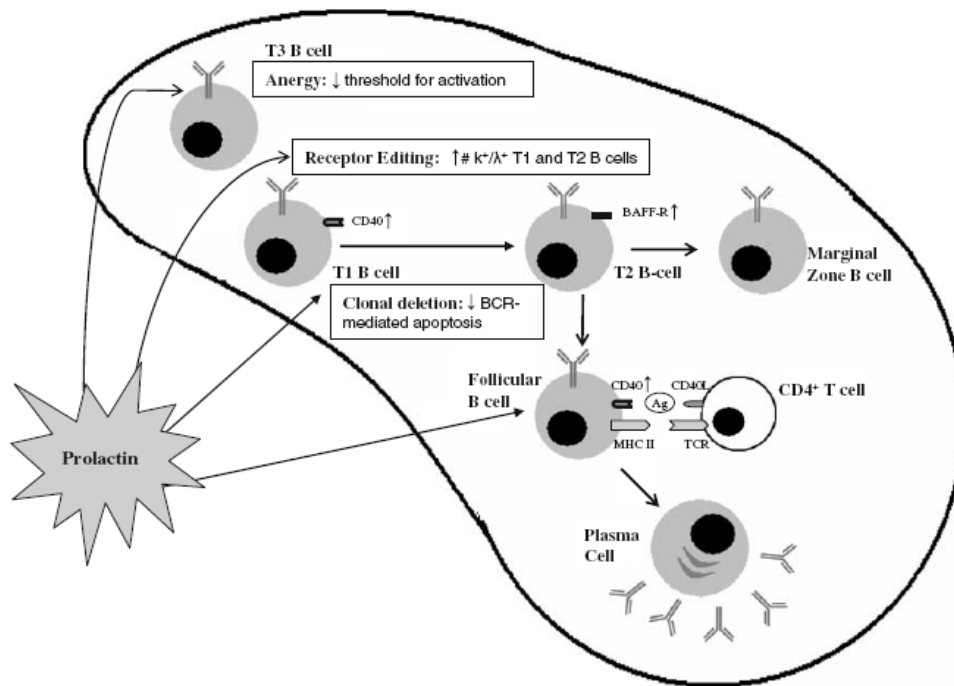


Se encuentra en linfocitos, monocitos, neutrófilos, NK y células epiteliales del timo(37,38).

La PRL es producida también a nivel extrahipofisiario por linfocitos B, T, el corion humano, neuronas, glándulas mamarias, próstata y piel(37,39). Si la PRL producida por los linfocitos es fisiológicamente significativa, particularmente en pacientes con enfermedad autoinmune, ha sido debatido(37).

Actualmente, la mejor evidencia de relación está en el LES. Se ha demostrado que una alta proporción de pacientes con LES cursan con hiperPRL (hasta el 40%) y que estos niveles se correlacionan con aumento de la actividad clínica de la enfermedad, así como con aumento de títulos de ANAs y anti-DNA (37,40–42).

El mecanismo predominante a nivel celular es la inducción de la pérdida de tolerancia de los linfocitos B. Esto ocurre a través de 3 vías: supresión clonal, edición de receptor y anergia (43).



**Figura 3.** Saha S, Tieng A, Pepeljugoski KP, Zandamn-Goddard G, Peeva E. Prolactin, Systemic Lupus Erythematosus, and Autoreactive B Cells: Lessons Learnt from Murine Models. *Clinic Rev Allerg Immunol.* 2009 11;40(1):8-15

### Supresión clonal

Los linfocitos B autorreactivos que sobreviven a la selección negativa a nivel medular, son eliminados en el estado transicional T1/T2 en el bazo, lo cual es mediado por el receptor de linfocitos B (BCR), promoviendo la apoptosis. La PRL reduce la apoptosis a este nivel, a través de incrementar la expresión de CD40, lo que de manera secundaria aumenta la expresión de Bcl – 2, IFN - RII y Trp63, moléculas antiapoptóticas. También aumenta la expresión de moléculas coestimuladoras como BAFF, que promueven la supervivencia (43,44).

### Edición de receptor

Los linfocitos B pueden escapar a la supresión clonal, a través de la coexpresión de más de una cadena ligera en su superficie. La edición de receptor es el intento de rescatar a los linfocitos B autorreactivos de la supresión reemplazando las inmunoglobulinas de cadenas ligeras o pesadas con unas no autorreactivas. Se encontró que los ratones tratados con PRL tenían mayor número de cadenas  $\kappa+$   $\lambda+$  en los linfocitos B de transición que los tratados con placebo. Se determinó además que la influencia de la PRL aceleraba el proceso edición de receptores (43,45–47).

### Anergia

Los linfocitos B autorreactivos de baja afinidad no son sujetos a supresión o a edición de receptor, si no que permanecen anérgicos conservando su capacidad de unirse a antígenos pero no responden a esta unión bajo condiciones óptimas de estimulación(48). Para permanecer en anergia requieren presentación continua de autoantígenos. En ausencia de esta condición pueden convertirse en autorreactivos. La cantidad de linfocitos B anérgicos es alta (30 – 50% de los nuevos producidos) y constituyen la mayoría de la población T3 transicionales. La PRL no aumenta el número de esta población, pero disminuye el umbral para su activación(43,49,50).

A través de estos mecanismos lo que se logra es perpetuar la existencia de linfocitos B autorreactivos, los de la zona marginal y aumenta el nivel de autorreactividad.

## 5. MATERIALES Y MÉTODOS

- **Diseño:** Estudio de corte transversal, descriptivo, serie de casos
- **Hipótesis (nula):** La concentración de estradiol y prolactina en pacientes con diagnóstico de Lupus Eritematoso Sistémico es diferente en las mujeres con LES activo que en aquellas con la enfermedad inactiva.
- **Población de Estudio:** Pacientes con LES activo e inactivo que acudieron al Hospital Universitario de la Samaritana.
- **Criterios de Inclusión**
  - Pacientes con Dx establecido de LES (criterios ACR)
  - Pacientes mayores de 16 años
  - Solo mujeres
- **Criterios de Exclusión**
  - Pacientes que estén bajo terapia hormonal
  - Pacientes con Dx de Prolactinoma
  - Pacientes en edad fértil que hayan tenido histerectomía total (ooforectomía incluida)
  - Mujeres Embarazadas o en lactancia
  - Pacientes con DX de otra enfermedad reumática
  - Pacientes con Enfermedad renal crónica y/o en hemodiálisis (HD)
  - Pacientes con hipotiroidismo descompensado
  - Pacientes que no deseen participar y no firmen el consentimiento informado
- Pacientes con en tratamiento con:
  - Ansiolíticos y antisicóticos como: haloperidol, olanzapina, risperidona, domperidona, inhibidores de la MAO, fluoxetina
  - Antihipertensivos como: Labetalol, reserpina, verapamilo y  $\alpha$ -metildopa
  - Gástricos: Ranitidina, metoclopramida, cimetidina

- **Tamaño de la Muestra:** El cálculo de la muestra determinó un número aproximado de 60 pacientes por grupo (activo y no activo), sin embargo se estableció la meta de 60 pacientes en un año (total), basado en una prueba piloto realizada en los primeros meses del estudio que reveló que no se alcanzaría la meta original dadas las características que requerían las pacientes para ingresar al estudio. Se obtuvo 180 muestras de sangre periférica.
- **Muestreo:** Consecutivo, de pacientes que acudieron al hospital ( Consulta externa, Urgencias, Hospitalización)
- **Métodos:** Entre los meses de Enero/2011 y Diciembre/2011 se atendió a las pacientes con LES (confirmado previamente por criterios ACR) en consulta externa, urgencias y hospitalización, se realizó las escalas de clinimetría SLEDAI y BILAG, y simultáneamente se obtuvieron muestras de sangre periférica y se procesaron para determinar los niveles de hormonas: E2, PRL y progesterona de acuerdo al procedimiento técnico establecido para pruebas por quimioluminiscencia.

La finalidad de la toma de progesterona fue determinar en qué fase del ciclo menstrual se encontraba la paciente, pre o post ovulatoria, pero no hace parte del estudio per se.

Adicionalmente se utilizaron otras estrategias de captación de pacientes, a través de la organización de una jornada de Lupus Eritematoso Sistémico, en la cual en el mismo día, a las pacientes previamente identificadas como idóneas, se les realizó la toma de muestras, las clinimetrías y se proporcionó charlas informativas.

**Toma de muestras:** Bajo normas de asepsia y antisepsia, se extrajo un total de 9 ml de sangre periférica para la realización de estudios de clinimetría (Anti DNA, C3, C4, cuadro hemático, función renal) y hormonales (PRL, E2, progesterona), así como TSH en el caso de que la paciente no se habría realizado esta prueba en los últimos 4 meses. Las muestras fueron tomadas de manera fraccionada, 3 ml cada 30 minutos de acuerdo al protocolo. Estas muestras fueron tomadas antes de las 9 de la mañana. Todas las pacientes

trajeron al momento de la evaluación la recolección de la orina de 24h y una muestra de orina aislada.

**Condiciones del paciente:** La noche previa no mantuvieron relaciones sexuales, no ingerieron proquinéticos, tranquilizantes, antidepresivos (ver criterios de exclusión), ni bebidas alcohólicas. Acudieron en ayuno de más de 8 horas. Reposaron al menos 30 minutos antes de la toma de la muestra.

**Procesamiento de muestras:** Las muestras de sangre se centrifugaron a 3500 Revoluciones por Minuto (RPM) por 10 minutos a temperatura ambiente; se recolectó el suero en viales debidamente marcados y se almacenaron a -20°C hasta el momento del análisis. Para el procesamiento las muestras fueron descongeladas siguiendo la cadena de frío y fueron procesadas por la técnica de quimioluminiscencia siguiendo el protocolo de análisis de la casa comercial Siemens Healthcare Diagnostics proveedora de Kits. Se realizó el procesamiento en el equipo ADVIA Centaur® XP para inmunoensayos de las 3 muestras por separado para la prolactina, obteniendo los valores respectivos a cada toma y finalmente un promedio. Estradiol y progesterona se tomaron de la primera muestra obtenida.

**Rangos de normalidad:** Basados en los rangos de referencia dados por la casa comercial para cada prueba, los que coinciden con los estudios revisados.

- Complemento: C3: 90-170 mg/dl; C4: 12-36 mg/dl.
- PRL: 2,8-20 ng/ml.
- E2: Fase Folicular: 18,9-246,7 pg/ml; punto medio del ciclo: 35,5-570,8 pg/ml; Fase lutea: 22,4 - 256 pg/ml; posmenopausicas: 0-44,5 pg/ml.
- Progesterona: Fase folicular: N.D. (No detectable) – 1,40 ng/ml; Fase lútea: 3,34 – 35,56 ng/ml.
- Anti DNA: títulos positivos desde 1/10.
- **Instrumento:** Ficha clínica para cada paciente en la que se registraron datos personales, tiempo de evolución de la enfermedad, puntuación de SLEDAI y BILAG, sistemas comprometidos en el SLEDAI y BILAG, niveles hormonales, dosis de prednisolona, DMARDS y nivel acumulativo de ciclofosfamida. (VER ANEXO 4).

- **Consideraciones Éticas:**

Se explicó a las pacientes claramente y con lenguaje comprensible, en qué consiste el estudio, llenaron un consentimiento informado para la autorización de la toma de muestra de sangre periférica y del manejo y conservación de las mismas. (VER ANEXO 5).

En el caso de las pacientes menores de edad, fueron sus representantes legales quienes lo firmaron.

El estudio se realizó teniendo en cuenta todos los aspectos éticos enunciados en la resolución 008430 capítulo I de 1993 expedida por el ministerio de salud sobre “Los aspectos éticos de la investigación en seres humanos”.

- **Impacto Ambiental:** La ejecución de este proyecto no representa ningún riesgo ambiental ya que las muestras de sangre periférica recolectada, reactivos e insumos serán manipuladas y desechadas según el Manual de manejo de desechos establecido por el laboratorio del HUS.

## 6. PLAN DE ANÁLISIS

- La información se digitó por duplicado en una base de datos de Excel, de la cual se exportó a Stata 10.0 para su análisis.
- Estadística descriptiva: medidas de tendencia central y de dispersión para variables cuantitativa, medidas de frecuencia para variables cualitativas.
- Análisis bivariado: Diferencia de medias, de niveles de prolactina y estradiol entre los pacientes con LES activo e inactivo, usando prueba de t de student, previo cumplimiento de supuesto de normalidad. Luego de revisar las variables cuantitativas, y realizar pruebas de normalidad, la mayoría de ellas no tenían distribución normal, por lo tanto el análisis de las variables cuantitativas se presentó en medianas, con rango intercuartil. El estadístico de prueba (cálculo de la p) se realizó con una prueba no paramétrica de Mann-Whitney. Se realizó análisis estratificado según fase del ciclo menstrual, acorde con los niveles de progesterona. Se realizó pruebas de

asociación entre variables categorías utilizando las pruebas de Pearson (Chi2) y Fisher según corresponda.

### 6.1. OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	TIPO	INDICADOR
Edad	Razón	Años
Tiempo de Evolución Enfermedad	Razón	Años
Niveles de Prolactina	Razón	ng/ml
Estradiol	Razón	pg/ml
Progesterona	Razón	Pg/ml
Fase ciclo menstrual	Nominal	Preovulatoria Postovulatoria
SLEDAI	Intervalo	Puntaje: 0-105  < 6  > 6
<b>Sistema comprometido:</b>		
SNC	Nominal	SI / NO

Vascular	Nominal	SI / NO
Renal	Nominal	SI / NO
Musculoesquelético	Nominal	SI / NO
Serosas	Nominal	SI / NO
Dermatológico	Nominal	SI / NO
Constitucional	Nominal	SI / NO
Inmunológico	Nominal	SI / NO
Hematológico	Nominal	SI / NO
<b>BILAG</b>	Nominal	A: Muy Activo B: Moderado C: Leve D: Actualmente inactivo pero alguna vez afectado E: Nunca activo
General,	Nominal	A,B,C,D,E
Mucocutáneo,	Nominal	A,B,C,D,E
Neuropsiquiátrico,	Nominal	A,B,C,D,E
Musculoesquelético,	Nominal	A,B,C,D,E
Cardiorespiratorio,	Nominal	A,B,C,D,E
Vasculitis,	Nominal	A,B,C,D,E
Renal	Nominal	A,B,C,D,E



Hematológico	Nominal	A,B,C,D,E
Prednisolona >10mg/d	Nominal	SI / NO
DMARD	Nominal	SI / NO
Terapia biológica	Nominal	SI / NO
Ciclofosfamida	Nominal	SI / NO
Dosis acumulativa > 12g/m2		

## 7. RESULTADOS

### A. Descripción Demográfica de la Población de estudio (60 pacientes)

Característica	Mediana (RIC)*
Edad (a)(rango)	37 ± 14 (16 – 65)
Edad fértil, n (%)	43 (72)
Menopáusicas, n (%)	17 (28)
Duración de la Enfermedad (a)	5.5 (1-8)
Fase del ciclo	
Preovulatoria (n) (%)	30 (70)
Posovulatoria (n) (%)	13 (30)
Anti DNA (dilución)	10 (0 - 80)
C3 (mg/dl)	98.05(78-118)
C4 (mg/dl)	18.25 (12.3- 24.5)
Niveles de Prolactina (ng/ml)	7.07 (5.05- 10.4)
Niveles de Estradiol (pg/ml)	51.3 (16.8 – 120.8)
Prednisolona > 10 mg/d (n) (%)	36 (60)
Uso de DMARD (n) (%)	48 (80)
Uso de Terapia Biológica (n) (%)	1 (1.67)
Dosis acumulada ciclofosfamida > 12g/m2 SCT (n) (%)	2 (3.3)

Tabla 1. \*RIC: Rango Intercuartil (a menos que se especifique)

La población de estudio estuvo constituida por 60 mujeres, cuya mediana de edad fue de 37 ± 14 años (rango de 16 a 65) y la mediana de la duración de la enfermedad fue de 5.5 años, con un rango general de 0 a 20 años. 43 pacientes (72%) son mujeres en edad fértil y 17 (28%) en menopausia. Se determinó en las mujeres en edad fértil que

30 (70%) se encontraban en la fase del ciclo menstrual preovulatoria y 13 (30%) en fase posovulatoria.

Con respecto al perfil inmunológico de la población, se encontró que la mediana del título de anti DNA es de 1/10, con títulos que oscilaron de 0 a 2560. El complemento, C3 y C4 evidenciaron una mediana de 98 y 18 mg/dl respectivamente.

En el perfil hormonal, se determinó que la prolactina presentó una mediana de 7.07 ng/ml, registrándose como máximo nivel alcanzado 30.2 ng/ml. El estradiol mostró una mediana de 51.3 pg/ml, con un rango general de 0 a 339 pg/ml.

El perfil farmacológico evidenció que el 60% de las pacientes recibían más de 10 mg de prednisolona, 80% utilizaban algún tipo de droga modificadora de la enfermedad (DMARD) y menos del 3% estaban bajo terapia biológica o habían utilizado dosis acumulativas de ciclofosfamida mayores de 12g/m<sup>2</sup> de superficie corporal total.

### B. Descripción de Sistemas comprometidos en la población de estudio de acuerdo a BILAG

Sistema	A	B	C	D	E
Constitucional	0	1 (1,67%)	12 (20%)	43 (71,7%)	4 (6,67%)
Mucocutaneo	0	8 (13,3%)	15 (25%)	34 (56,7%)	3 (5%)
Neuropsiquiátrico	0	5 (8,33%)	1 (1,66%)	3 (5%)	51(85%)
Musculoesquelético	0	1 (1,67%)	12 (20%)	44 (73,3%)	3 (5%)
Cardiorespiratorio	2 (3,33%)	1 (1,67%)	0	28 (46,6%)	29 (48,33%)
Gástrico	0	1 (1,66%)	0	1 (1,67%)	58 (96,6%)
Oftalmológico	0	0	0	2 (3,33%)	58 (96,6%)
Renal	4 (6,6%)	1 (1,67%)	6 (10%)	22 (36,6%)	27 (45%)
Hematológico	1 (1,67%)	0	10 (16,6%)	15 (25%)	34 (56,6%)

**Tabla 2. Número de pacientes y porcentajes correspondientes a cada categoría de BILAG**

En la tabla 2, se observa la actividad del LES en la población, de manera órgano – específica medida a través de BILAG. Así se determina que las pacientes que presentan alta actividad de LES (categoría A) son: 2 en el sistema cardiorespiratorio, 4 a nivel renal y 1 hematológico. La actividad se encontró moderada (categoría B) en la mayoría de sistemas excepto en el oftalmológico y hematológico. Se registró actividad leve (categoría C) en gran parte de los sistemas descritos, principalmente en el mucocutáneo, seguido del musculoesquelético y compromiso constitucional. No se evidenció actividad leve en los sistemas cardiorespiratorio, gástrico y oftalmológico. Todas las pacientes mencionaron haber tenido algún sistema activamente

comprometido en algún momento anterior al estudio (categoría D) o bien esto estaba registrado en la historia clínica del hospital, pero no presentaban actividad en ese momento. Se puede observar que los sistemas principalmente comprometidos en el pasado fueron músculoesquelético, constitucional y mucocutáneo. De igual forma todas afirmaron no haber presentado nunca actividad en ciertos órganos o sistemas (categoría E), siendo los principales: gástrico, oftalmológico, neuropsiquiátrico y hematológico.

### C. Caracterización de la población de estudio, comparación de grupo con LES activo y no activo \*

60 pacientes	LES activo n=13 (22%)	LES no activo n = 47 (78%)	P
<b>Edad (a)</b>	31 (23 a 39)	37 (26 a 51)	0.07
<b>Edad Fértil (n) (%)</b>	12 (20%)	31 (52%)	0.09
<b>Menopáusicas (n) (%)</b>	1 (2%)	16 (26%)	
<b>Duración de la Enfermedad (a),</b>	3 (1 a 6)	6 (1 a 9)	0.17
<b>Fase del ciclo</b>			
<b>Preovulatoria (n= 30) (69.7 %)</b>	8 (19%)	22 (51%)	0.07
<b>Posovulatoria (n= 13) (30.2%)</b>	4 (9%)	9 (21%)	

Tabla 3. \* Datos se expresan en mediana y rango intercuartil, excepto que se especifique.

En la tabla 3 se puede ver la comparación de los grupos de LES activo y no activo, con respecto a las características generales de la población, y aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas, se evidenció que fue mayor el porcentaje de mujeres en edad fértil que presentaban actividad de la enfermedad, con respecto al grupo de mujeres menopáusicas. Así como fue mayor el porcentaje de mujeres en fase preovulatoria que presentaban LES inactivo.

**D. Perfil Inmunológico y Hormonal de la población \***

60 pacientes	LES activo n=13 (22%)	LES no activo n = 47 (78%)	P
Anti DNA	40 (0-40)	10 (0-80)	0.72
C3	78.1 (68-98.8)	101.9 (79.6-118)	0.07
C4	12 (10-14.1)	19.8 (14-24.9)	0.01
Niveles de Prolactina (ng/ml)	9.7 (5-11.25)	7.06 (5.1-10.2)	0.7
Niveles de Estradiol (pg/ml)	104.2 (52.2-147.6)	36.7 (10.9-114)	0.07

Tabla 4. \* Valores correspondientes a Mediana y rango intercuartil

En la tabla 4, se realiza la comparación del perfil inmunológico y hormonal en la población total entre los grupos LES activo y no activo, determinándose que no existe una asociación estadísticamente significativa, excepto en lo que se refiere al complemento C4 ( $p= 0.01$ ), el cual estuvo más consumido en el grupo activo.

**E. Perfil Farmacológico de la población en estudio**

60 pacientes	LES activo n=13 (22%)	LES no activo n = 47 (78%)	P
Prednisolona > 10 mg/d	10 (16.6%)	26 (43.3%)	0.2
Uso de DMARD	12 (20%)	36 (60%)	0.4
Uso de Terapia Biológica	0	1 (1.67%)	0.2
Dosis acumulada ciclofosfamida	1 (1.67%)	1 (1.67%)	0.3

Tabla 5. Comparación de la población LES activo vs. No Activo. Perfil Farmacológico.

Continuando la comparación de LES activo y no activo, en cuanto al perfil farmacológico que tenía la población en el momento del estudio, como podemos ver en la tabla 5, no hay diferencias significativas. Sin embargo, se determinó que la mayor parte de las pacientes con actividad de la enfermedad se encontraban utilizando dosis de prednisolona superiores a 10 mg al día y alguna droga modificadora de la enfermedad.

### F. Sistemas comprometidos (SLEDAI) y relación con Niveles Hormonales\*

Sistema	Prolactina (ng/ml)		p	Estradiol (pg/ml)		p
	Activo	No activo		Activo	No activo	
<b>SNC</b>	7.9 (3.9 - 11.5)	7.07 (5.12 - 10.3)	0.8	88.8 (61.2 – 147)	40.9 (14.5 – 120)	0.2
<b>Vascular</b>	N.A	N.A		N.A.	N.A.	
<b>Musc – Esqueletico</b>	9.3 (3.8 - 11.2)	7.06 (5.2-10.3)	0.9	123 (15 – 164.2)	41.9 (18.7 – 104)	0.3
<b>Renal</b>	9.8 (6.7 - 11.5)	7.02 (5 - 10.2)	0.16	111.5 (101-186)	38.3 (14 – 107)	0.04
<b>Dermatológico</b>	7.5 (3.6 - 10.3)	7.07 (5.2 – 10.6)	0.59	67.3 (23 -145)	39.3 (11.7 – 116)	0.4
<b>Serositis</b>	9.7 (3 – 30.2)	7.06 (5 -10.3)	0.6	18.9 (15-251.7)	52.2 (18.7 – 118)	0.9
<b>Inmunológico</b>	8.9 (5.5 – 11.2)	7.02 (5 – 10.2)	0.6	85.4 (5 – 148)	46 (18.9 – 108)	0.9
<b>Constitucional</b>	N.A	N.A		N.A.	N.A.	
<b>Hematológico</b>	3.8 (3.8 – 3.8)	7.09 (5 -10.4)	0.2	142 (142 – 142)	50 (15 – 118)	0.3

Tabla 6. Relación de Niveles Hormonales y sistemas comprometidos (Determinados por SLEDAI).

\*Valores correspondientes a Mediana y rango intercuartil; N.A. (No Aplica)

En la tabla 6, se busca determinar si hay asociación de los niveles de prolactina (PRL) y Estradiol (E2), con la actividad del LES en los diferentes órganos y sistemas que el SLEDAI especifica. Así, se encontró que ninguna paciente del estudio mostró actividad en el sistema vascular, ni en el aspecto constitucional. Solo una paciente presentó actividad en el sistema hematológico. No se encontró que hubiera asociación con los niveles hormonales estudiados, excepto en el sistema renal, donde se determinó una asociación estadísticamente significativa ( $p= 0.04$ ) con los niveles de estradiol.

### G. Diferentes fases del ciclo menstrual, subgrupo de mujeres con menopausia, actividad de la enfermedad y relación con Niveles Hormonales

	Prolactina (ng/ml)			Estradiol (pg/ml)		
	LES activo	No activo	p	LES activo	No activo	p
Fase preovulatoria	11.27(5.02-13.9)	9.7 (6.04-10.2)	0.96	95.7(48.9-144.7)	93.92(35.3-123)	0.41
Fase posovulatoria	8.3 (6.2-10.5)	8.08 (6.7-10.4)	0.87	147.92(76.7-219.1)	144.42(61.8-192.8)	0.75
Menopausia	3.06 (3.06-3.06)	6.93 (3.56 – 9.81)	0.27	15.03(15.03-15.03)	10.19(4.8-16.3)	0.74

*Tabla 7. Relación del ciclo menstrual, actividad de la enfermedad y Niveles hormonales. \*Valores correspondientes a Mediana y rango intercuartil*

En la tabla 7, se realiza el cruce de 3 variables: Fases del ciclo menstrual (y subgrupo menopausia), actividad de la enfermedad y los niveles de prolactina y estradiol; con el fin de determinar si existe alguna relación del influjo hormonal sobre las otras variables en nuestra población de estudio.

Se encontró niveles discretamente más elevados de estradiol en las pacientes con LES activo, sin embargo no se encontró ninguna asociación estadísticamente significativa en todos los cruces.

## **8. DISCUSIÓN**

Actualmente existe diversa literatura que intenta describir el papel de la influencia hormonal, particularmente de los estrógenos (E2) y la prolactina (PRL), como desencadenante de enfermedad autoinmune y de la actividad de las mismas, teniendo como prototipo principal de éstas al Lupus Eritematoso Sistémico (LES) (39,51–56).

Ya que existe todavía controversia con estudios a favor y en contra, se decidió investigar en el presente estudio la relación entre la actividad de la enfermedad, los niveles hormonales y las fases del ciclo menstrual en una cohorte de mujeres colombianas con distintos tiempos de evolución de la enfermedad y tratamientos, tratando de controlar al máximo los agentes perturbadores hormonales. Se realizó además una medición simultánea o inmediata de las hormonas con las pruebas de laboratorio, de manera que los índices de actividad se correspondan con los niveles hormonales. Hasta ahora es el primer estudio que cuenta con estos rasgos particulares.

En cuanto a las características generales de la población no se encontró algo que llame especialmente la atención. La mayor parte de pacientes se encontraban en una fase no activa de la enfermedad, lo cual se debe a que los pacientes con altos índices de actividad probablemente requerían hospitalización y medidas invasivas, así como uso de medicación que correspondían a criterios de exclusión ya que pueden elevar por sí mismos la PRL e inmediatamente se descalificaban para ingresar al estudio.

Se utilizaron 2 escalas para medir actividad de la enfermedad, con el fin de determinar la actividad de manera global y órgano- específica. Como bien describe Isenberg et al. (57), el BILAG es una escala diseñada para la “intención – a – tratar” y nos ayudó a definir de manera más objetiva quienes se beneficiaban de un ajuste de dosis y/o cambio de tratamiento. Se evidenció que dentro del grupo con actividad, los sistemas más afectados fueron el renal, cardiorespiratorio y hematológico, que si bien son de frecuente afectación, llama la atención que el mucocutáneo no figure entre estos ya que se describe un compromiso entre 50-100% en los pacientes con LES(58).

Se habría esperado una asociación significativa con marcadores de actividad en el grupo con LES activo, sin embargo la única encontrada fue con el consumo de complemento C4, lo cual está ampliamente descrito, en especial en relación a la actividad renal (59–61).

Por otro lado se evidenció que nuestra población tiene un mínimo porcentaje de uso de terapia biológica, probablemente debido a la condición económica de la mayoría de pacientes que concurren a nuestro hospital y a la falta de cobertura de los seguros de salud para este tipo de terapias.

Solo dos pacientes tuvieron una dosis acumulada de ciclofosfamida igual a 12g/m<sup>2</sup>/ Superficie Corporal Total, lo cual las podría poner en riesgo de insuficiencia ovárica de acuerdo a Mersereau et al.(62), sin embargo no sobrepasó este nivel y las pacientes no presentaban irregularidades menstruales, por lo que no se las excluyó del estudio.

Consideramos que este estudio tiene la principal limitación en el número de pacientes que constituye su universo, por lo que no se alcanza significancia estadística en muchos de los cruces efectuados. Esto se debe principalmente a que además de que el LES como la mayoría de enfermedades autoinmunes no es una enfermedad de alta incidencia, en este estudio se utilizaron estrictos y amplios criterios de exclusión. Quizá en un estudio de más largo plazo se pudiera reunir mayor número de pacientes con las condiciones establecidas.

### **Actividad de la Enfermedad y Estrógeno (E2)**

Nuestro estudio determinó que los niveles de E2 se encontraron más elevados en el grupo activo, sin embargo no hubo una diferencia estadísticamente significativa.

Sí se encontró una asociación significativa con la actividad órgano-específica a nivel renal ( $P = 0.04$ ), donde la mediana de E2 en el grupo activo casi triplica a la del grupo sin actividad. En el resto de sistemas se vio también niveles superiores, excepto en el compromiso de serosas. La diferencia no fue estadísticamente significativa probablemente debido al tamaño de la muestra.

Con respecto a los niveles de E2 en pacientes con LES entre la literatura más reciente, existen estudios como el de Tehseen et al.(63) que muestran que estos son más elevados respecto a controles sanos aunque no hace referencia a la actividad de la enfermedad; sin embargo hay otros, como muestra S.S. Shabanova et al.(64) en el que en el 25% de pacientes se evidenció niveles reducidos de E2 con respecto a controles sanos y no se encontró relación con la actividad. Por otro lado, hay otros autores que sugieren que un estado de hipoestrogenismo estaría más relacionado con una tendencia al desarrollo de Síndrome Antifosfolípido en pacientes con LES(65).

En el metaanálisis publicado por McMurray et al. (26), se concluye de los estudios publicados hasta ese momento, que los niveles de E2 en mujeres con LES son significativamente más elevados comparados con controles, sin embargo no sucedió lo mismo en estudios realizados en hombres con LES. De esto se ha deducido, apoyado por estudios como el publicado por Folomeev et al.(27) que las pacientes con LES tienen aumentada la actividad de la enzima hidroxilasa aromática, llevando a la aromatización de la testosterona en mujeres. Igualmente se ha reportado alteración en el metabolismo del E2, comprobándose mayores niveles de  $16 \alpha$ -hidroxiestróna (metabolito altamente estrogénico) en sangre(55) y en orina (66), con niveles superiores a otros metabolitos como 2-hidroxiestróna (bajo poder estrogénico). Relacionado con esto J. Wang et al.(67) investigó polimorfismos de la aromatasa, así como de los receptores de E2, sin encontrar asociación con la primera, pero determinó que polimorfismos en los genes del receptor  $\alpha$  están relacionados con el LES, lo que aporta con mayor evidencia de que el E2 como sus metabolitos median en el incremento de riesgo para esta enfermedad en la mujeres.



A nivel molecular y principalmente derivado de estudios en modelos murinos, actualmente se conoce que el E2 genera autoinmunidad al actuar principalmente a nivel de los linfocitos B y T. En los primeros influye sobre genes como CD22, shp-1, bcl-2 y VCAM-1(68), bloqueando la inducción de tolerancia de los linfocitos B naive, resistencia a la apoptosis de los linfocitos B de la zona de transición y expande la población de los linfocitos B marginales; rompe la tolerancia de los linfocitos B de alta afinidad al DNA(5,25). También es interesante que se ha demostrado que aumenta los niveles de mRNA del gen que decodifica el BAFF (factor de supervivencia de la células B), que a su vez aumenta la supervivencia de los linfocitos B autorreactivos y por ende la generación de anticuerpos(25,69,70). En los linfocitos T se ha visto que el E2 incrementa la expresión de calcineurina y CD40L(71,72). También como recientemente lo describe Kim et al.(73) inhibe la apoptosis provocando la disminución de la expresión del Fas ligando en los linfocitos T activados, permitiendo la persistencia de linfocitos T autoreactivos.

Con respecto a la relación encontrada de niveles elevados de E2 con la actividad de la enfermedad específicamente a nivel renal, no hemos encontrado descripciones en modelos humanos, solo en modelos murinos hasta el momento. Al parecer, de acuerdo a lo que demuestran autores como Feng et. al.(74) y Bynote et. al.(75), la inducción de nefritis por E2 estaría mediada por el receptor de estrógenos  $\alpha$  (ER $\alpha$ ). Esto se concluyó al estudiar modelos genéticamente modificados en los que no se expresaba este receptor (ER $\alpha$  -/-), comparado con grupo control sin alteración. Ambos recibieron E2. El grupo ER $\alpha$  -/- presentó una glomerulonefritis muy leve, escasos depósitos de inmunocomplejos y mayor supervivencia. Lo opuesto ocurrió en el grupo que expresaba el receptor.

Se ha determinado la presencia de ER  $\alpha$  y  $\beta$  tanto a nivel glomerular, como en células mesangiales y se ha visto que existe relación con la progresión hacia glomeruloesclerosis(76). Sin embargo los modelos murinos en los que se han hecho dichos hallazgos no corresponden a modelos autoinmunes. De hecho inicialmente se consideró que el E2 podría tener un papel protector basado en que las mujeres después de la menopausia presentan mayor incidencia de enfermedad renal y en

modelos murinos los roedores hembras ovariectomizados mostraban lo mismo(76). Pero esto fue desechado por los mismos autores al realizar pruebas en modelos con propensión al desarrollo de gloméruloesclerosis(77,78).

Se encontró en la literatura que solo el estudio de Shim et. al.(79) se contrapone al efecto deletéreo del E2 y de la mediación del ER $\alpha$  en el proceso en modelos murinos autoinmunes. Sin embargo, además de lo que concluye en su estudio, las investigaciones en los que este autor se apoya no están relacionadas con modelos de autoinmunidad ni LES(76,80), por lo que no se consideran representativos para este estudio y ha sido ampliamente contrapuesto por autores como Feng et. al.(74).

Más recientemente Irsik et. al.(81) investigó la presencia de ER $\alpha$  y  $\beta$  y las variantes de empalme (splice variants) del ER  $\alpha$  en diferentes órganos y específicamente en los diferentes tipos de células renales en ratones. Determinó que ER $\alpha$ 66 (receptor "original") está presente principalmente en órganos reproductivos pero también en tejidos no reproductivos en niveles bajos. ER  $\beta$  por el contrario se encontró más abundante en tejidos no reproductivos y ovario. A nivel renal se encontró que ER $\alpha$ 66 está presente a nivel vascular, glomérulo, en el borde en cepillo del túbulo proximal y en el túbulo colector de ratones hembra. ER  $\alpha$ 36 se encuentra en células mesangiales y túbulo-epiteliales en ambos sexos, así como en podocitos en hembras y no en machos. ER  $\beta$  principalmente en podocitos de hembras y en células mesangiales de ambos sexos. Con estos reveladores hallazgos se precisan estudios posteriores para determinar el papel de estos receptores en la respuesta al E2.

El papel de los ER a nivel renal es corroborado por estudios como el de Wu WM et. al. (82), que demuestra la efectividad del uso de tamoxifeno (antiestrógeno sintético de gran afinidad con el receptor de estrógeno), en el modelo murino NZB/W F1 donde el grupo que recibió la droga mostró menor proteinuria, glomérulos intactos o depósitos limitados a nivel de capilares. La injuria glomerular fue mucho menor, solo se encontró leve expansión mesangial y pocos depósitos de complejos inmunes. En general este grupo tuvo una supervivencia mayor en comparación con el grupo control que no recibió tamoxifeno. Lo mismo se evidenció en otro estudio murino(83), en donde a los 6 meses de edad el 40% del grupo control había muerto de manera espontánea y todos

los que habían recibido tamoxifeno continuaban vivos. Tampoco presentaron trombocitopenia y la proteinuria fue mínima comparada con el grupo control.

Resulta interesante la implementación del uso de antiestrógenos en el control de la enfermedad, sin embargo casi no existen estudios realizados en población humana. Investigaciones reportadas como la de Abdou et. al. (84) demuestran que el uso de antiestrógenos selectivos como el Fulvestrant en mujeres con LES disminuye la actividad de la enfermedad de manera general, las pacientes requieren menor uso de medicación para control de la misma y se hallaron valores significativamente menores de marcadores de activación de linfocitos T CD154 y calcineurina.

De estos hallazgos se puede deducir que el bloqueo de receptores de estrógeno in vivo es efectivo para la modulación de la enfermedad. Existen también trabajos publicados en los que los autores deduciendo de la fisiopatología conocida del LES y los estrógenos, así como el mecanismo de acción del tamoxifeno, proponen su uso como terapia para el mismo(85,86).

De manera que se considera que el uso de antiestrógenos podría ser una nueva terapia de uso relativamente seguro en pacientes con LES, sin embargo se requieren estudios de mayores proporciones y tiempo de seguimiento para implementarla. Debido al hallazgo en nuestra población, podríamos especular que ésta se beneficiaría de su uso.

### **Actividad de la Enfermedad y Prolactina (PRL)**

En este estudio no se encontró hiperprolactinemia en ninguna paciente con LES. No se evidenció una diferencia significativa en los niveles de PRL entre el grupo de LES con actividad y sin actividad de la enfermedad, así como tampoco se encontró relación a nivel órgano-específico.

Estos hallazgos se contraponen a lo descrito por varios estudios realizados en los últimos 20 años, en los que se afirma que se encuentra al menos hiperprolactinemia leve a moderada en los pacientes con LES en una frecuencia entre 2- 40% (40,63,64,87–92).

Con respecto a la actividad de la enfermedad, también son varios los estudios que encontraron que existía relación con los niveles de PRL(40,63,64,87,88,93), más que los que no encontraron asociación alguna(89,92,94,95).

Estudios como el de Haghghi et. al. (88), identifican que en los pacientes con hiperprolactinemia los sistemas más afectados son el renal, sistema nervioso central, presencia de vasculitis; también fue más frecuente la leucopenia y la trombocitopenia. Por otro lado Jacobi et. al.(40) encuentra relación con la presencia de fiebre, anemia, consumo de C3, fatiga y compromiso renal.

El papel de la PRL como inmunomoduladora ha sido descrito: es producida por los linfocitos B y T(37,96,97), sus receptores hacen parte de la superfamilia de citoquinas(37,38), influye en procesos intracelulares como transcripción genética y señalización(39). Específicamente se sabe que la interacción PRL – receptor lleva a la dimerización del mismo y a la activación de la vía JAK-STAT: JAK -2 fosforila a STAT-1, -3 y -5 lo que en última instancia activa la transcripción; por otro lado activa vías de señalización como Src y Tec, de la familia de las tirosin quinanasas, SHP-2 fosfatasa, ZAP-7, MAPK y Fyn(98–100).

Se conoce además que la producción de PRL por los linfocitos es regulada por un promotor genético distinto al de la PRL hipofisiaria(96).

En lo que refiere al LES y PRL, en modelos murinos se ha demostrado que la PRL tiene un claro papel deletéreo. Aumenta significativamente la mortalidad e induce autoinmunidad no solo en poblaciones proclives a tener LES (NZB/W F1), sino también en otras(39). Se ha determinado que la hiperprolactinemia interfiere en los tres mecanismos conocidos que inducen tolerancia en los linfocitos B: supresión mediada por BCR, edición de receptores y anergia(43). Esto traduce en aumento de supervivencia de linfocitos B autorreactivos, con la subsecuente producción de anticuerpos anti – DNA, así como el depósito de IgG a nivel renal(39,43).

Por todo lo mencionado se esperaría es que existiera una relación directamente proporcional (a mayor cantidad, mayor actividad y lesión de órgano). Sin embargo en nuestra población esto no sucedió.

Una de las características a destacar de este estudio es que las pacientes fueron estrictamente seleccionadas y se trató de controlar al máximo cualquier agente que pudiera alterar los valores de la prolactina, ya que es una hormona sensible, muy propensa a cambios por agentes fisiológicos y externos (32,33). Además se utilizó el método en el que se determina los niveles de la hormona en tres muestras diferentes, tomadas de manera consecutiva con un intervalo de 30 minutos, lo que hace que el resultado de los niveles sea más consistente y real (33). En ninguna de las 3 muestras (180 en total analizadas) se encontró hiperprolactinemia. En un estudio realizado en Brasil(65), aunque los objetivos fueron distintos a los nuestros, se evaluó los niveles de PRL en una cohorte de mujeres lúpicas, sin encontrar hiperprolactinemia. No mencionan control tan estricto de criterios de exclusión, ni método especial de recolección de muestra.

Se podría sospechar que en los demás estudios la toma de las muestras podría no haber sido en condiciones óptimas y que el control de noxas que falseen los niveles de PRL no fue tan estricto, ya que no lo describen. En el único estudio encontrado en el que se utilizó la toma de 3 muestras consecutivas (101), se concluyó que el 41% pacientes con LES presentó hiperprolactinemia. Sin embargo solo menciona que excluyen del estudio a pacientes que tomen medicación que pueda alterar los resultados, 2-3 horas después de despertar y procuran que estén relajados, no controlan más factores. No encontró relación con la actividad de la enfermedad, pero encuentra que los niveles de PRL son más altos en la primera toma en pacientes con LES y AR y declina en las siguientes, lo cual no ocurre en los controles sanos. Sin embargo no se puede determinar si esto se debe a la presencia de enfermedad autoinmune.

Una explicación alternativa, es que definitivamente nuestra población se comporta diferente a las de otras partes del mundo, ya que es el primer estudio de este tipo realizado en Sudamérica. Aunque no se trata de un universo de pacientes muy grande justamente por lo estricto de los criterios de exclusión, es una muestra comparable a la de muchos estudios que sirvieron de base para estudios mayores y este estudio aporta valiosa información que serviría de base para estudios con universo mayor de pacientes y seguimiento de largo plazo.

Con lo determinado podríamos hasta el momento especular que nuestra población no se beneficiaría del uso de antagonistas de la PRL, contrario a lo establecido por algunos estudios (102–105) en el que se usa bromocriptina, un agonista dopaminérgico, en pacientes con LES, objetivándose una disminución de la actividad de la enfermedad y de recaídas.

Con este estudio tampoco se considera que la PRL puede ser usada como biomarcador de la enfermedad, lo cual ha sido sugerido por otros estudios(106).

### **Actividad de la Enfermedad y Ciclo ovulatorio**

Nuestro estudio tenía como uno de sus objetivos el determinar si el ciclo ovulatorio influía en alguna manera sobre la actividad del LES. No se encontró ninguna asociación significativa en ninguno de los 3 grupos: preovulatorio, posovulatorio y menopausia. Así como tampoco se encontró relación del influjo hormonal (PRL y E2), fase del ciclo y actividad de la enfermedad.

Curiosamente, aunque existe gran interés en el papel de las hormonas sexuales en la fisiopatología del LES, existen pocos estudios acerca del impacto del ciclo menstrual sobre la actividad de la enfermedad(107). En la literatura se encuentra solo un estudio que intenta documentar esto y reporta que las pacientes experimentaban empeoramiento de los síntomas durante la fase lútea (108). Esto llama la atención ya que es precisamente cuando se esperaría una disminución de los niveles de estradiol, del que como se ha comentado anteriormente, por lo general se asocia con aumento de actividad de la enfermedad. Aunque no hubo una significancia estadística, sí fue llamativo en nuestro estudio que los niveles de estradiol fueran más altos en la fase posovulatoria.

La mayoría de estudios encontrados se enfocan en determinar el impacto del LES sobre el ciclo menstrual y no al revés como fue nuestro propósito. Estos en general concluyen que un subgrupo de pacientes presentan alteraciones del ciclo menstrual como oligomenorrea o amenorrea y en algunos casos dichas alteraciones son más

frecuentes cuando la enfermedad está más activa (64,109). Otros como Medeiros et. al. (110) reportan que los desórdenes menstruales son más frecuentes en LES juvenil.

Colangelo et. al. (111) intenta en un estudio descriptivo determinar la fase del ciclo en el que habría más actividad, concluyendo que es mayor previo a la menstruación, pero tiene la limitación de no ser muy objetivo porque usa reportes personales de las pacientes y cuestionarios. No queda claro si las pacientes pudieron haber confundido los síntomas con los de un síndrome premenstrual.

## 9. CONCLUSIONES

- Nuestra población mostró niveles de E2 más elevados en las pacientes con LES activo, aunque alcanzando una significancia estadística solo en la actividad órgano – específica a nivel renal, lo que coincide con otros estudios publicados.
- Podría especularse que nuestra población se beneficiaría de la implementación de medicación alternativa como el uso de antiestrógenos (p.e. tamoxifen).
- En nuestra población no se encontró hiperprolactinemia, ni elevación de la prolactina asociada a la actividad del LES, lo cual se contrapone a la mayoría de estudios hasta hoy publicados.
- Se puede especular que nuestra población no se beneficiaría del uso de antagonistas de la prolactina, como medida terapéutica alternativa a la tradicional.
- Nuestro estudio no encontró ninguna relación entre la fase del ciclo menstrual y la actividad del LES.
- En muchos aspectos probablemente no se alcanzó significancia estadística debido al limitado número de pacientes incluidos. Cabe recalcar que esta limitación estuvo dada principalmente por los estrictos criterios de exclusión que fueron establecidos con el fin de limitar al máximo factores modificadores hormonales, los cuales no han sido tomados en cuenta en la mayoría de estudios hasta hoy publicados.
- Este estudio puede servir de base para estudios igualmente descriptivos de larga duración en el que se pueda captar mayor número de pacientes o para estudios experimentales.

## **10. AGRADECIMIENTOS**

Al grupo de investigación del Hospital de La Samaritana, por su apoyo sobretodo en la realización de la jornada de LES.



## **H. ANEXOS**

1. CRITERIOS DE CLASIFICACION DEL LES (ACR)
2. SLEDAI
3. BILAG
4. HOJA DE INSTRUMENTO
5. CONSENTIMIENTOS INFORMADOS

## ANEXO 1

The 1982 revised criteria for classification of systemic lupus erythematosus	
Criterion	Definition
Malar rash	Fixed erythema, flat or raised, over the malar eminences, tending to spare the nasolabial folds
Discoid rash	Erythematous raised patches with adherent keratotic scaling and follicular plugging; atrophic scarring may occur in older lesions
Photosensitivity	Skin rash as a result of unusual reaction to sunlight, by patient history or physician observation
Oral ulcers	Oral or nasopharyngeal ulceration, usually painless, observed by physician
Arthritis	Nonerosive arthritis involving two or more peripheral joints, characterized by tenderness, swelling, or effusion
Serositis	Pleuritis—convincing history of pleuritic pain or rubbing heard by a physician or evidence of pleural effusion or pericarditis—documented by ECG or rub or evidence of pericardial effusion
Renal disorder	Persistent proteinuria greater than 0.5 g/d (or > 3+ if quantitation not performed) or cellular casts—may be red cell, hemoglobin, granular, tubular, or mixed
Neurologic disorder	Seizures in the absence of offending drugs or known metabolic derangements (eg, uremia, ketoacidosis, or electrolyte imbalance) or psychosis in the absence of offending drugs or known metabolic derangements (eg, uremia, ketoacidosis, or electrolyte imbalance)
Hematologic disorder	Hemolytic anemia with reticulocytosis or leukopenia less than 4000/mm <sup>3</sup> total on two or more occasions, or lymphopenia less than 1500/mm <sup>3</sup> on two or more occasions, or thrombocytopenia less than 100,000/mm <sup>3</sup> in the absence of offending drugs
Immunologic disorder	Positive lupus erythematosus cell preparation or anti-DNA antibody to native DNA in abnormal titer, or presence of anti-Sm nuclear antigen, or false-positive serologic test for syphilis known to be positive for at least 6 months and confirmed by Treponema pallidum immobilization or fluorescent treponemal antibody absorption test
Antinuclear antibody	An abnormal titer of antinuclear antibody by immunofluorescence or an equivalent assay at any point in time and in the absence of drugs known to be associated with drug-induced lupus syndrome

## ANEXO 2

(Arthr and Rheum, Vol. 35, No. 6, 1992) – Traducido

Grado	Puntos	Signo	Definición
8	_____	Convulsión	Reciente (excluir metabólico, drogas, infecciones)*
8	_____	Psicosis	Perturbación grave de la percepción de la realidad, alucinación, incoherencia, disociación, hipoacusia, catatonía
8	_____	S. cerebral orgánico	Alteración Fx mental/intelectual. Pérdida de la conciencia, atención, incoherencia, insomnio, mareos*
8	_____	Alteración visual	Cambios retina LES, excluir HTA*
8	_____	Alteración de los nervios craneales	Neuropatía motora N. C.
8	_____	Cefalea LES	Cefalea intensa, persistente, migraña; no responde al tratamiento
8	_____	Accidente cerebral vascular	Excluir hipertensión arterial, trombocitopenia
8	_____	Vasculitis	Ulceración, gangrena, nódulos blandos, dedos, infarto periungueal, hemorragias en llamas, biopsia (+)
4	_____	Artritis	Más de dos articulaciones
4	_____	Miositis	Mialgia/debilidad proximal, CPK, aldolasa elevada, electromiografía alterada, biopsia (+)
4	_____	Cilindros	Hialinos, hemáticos, granulares orina
4	_____	Hematuria	> 5 g/c*
4	_____	Proteinuria	> 0.5 mg/24 h o elevada
4	_____	Piuria	> 5 gb/c
2	_____	Erupción	Episodio nuevo o recurrente; erupción inflamatoria
2	_____	Alopecia	Nueva o recurrente
2	_____	Úlcera mucosa	Idem, oral/nasal
2	_____	Pleuresia	Dolor pleurítico + frote, derrame, engrosamiento pleural
2	_____	Pericarditis	Dolor pericárdico + frote, derrame, alteración en EKG, ECO
2	_____	Hipocomplementemia	Disminución CH50, C3, C4,
2	_____	Aumento unión ADN	> 25%
1	_____	Fiebre	> 38%
1	_____	Trombocitopenia	< 100,000/mm <sup>3</sup>
1	_____	Leucopenia	< 3,000/mm <sup>3</sup>

Total \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_

## ANEXO 3

## BILAG

<b>Only record items due to SLE disease activity.</b>			
Each assessment refers to manifestation occurring in the last 4 weeks (compared with the previous visit).			
Scoring: 0 = Not Present, 1 = Improving, 2 = Same, 3 = Worse, 4 = New or Recurrence			
<b>There must be detailed documentation for all descriptors scored 1 – 4</b>			
<b>CONSTITUTIONAL</b>	Score	Detail findings/changes for all descriptors scored 1 - 4	
1. Pyrexia – documented > 37.5° C			
2. Weight loss – unintentional > 5%			
3. Lymphadenopathy / splenomegaly			
4. Anorexia			
<b>MUCOCUTANEOUS</b>	Score	Draw / specify area(s) and note approximate BSA	
5. Skin eruption – severe (Must involve >18% BSA)			
6. Skin eruption – mild (≤18% BSA)			
7. Angio-oedema – severe			
8. Angio-oedema - mild			
9. Mucosal ulceration – severe			
10. Mucosal ulceration – mild			
11. Panniculitis / Bullous lupus – severe (> 9% BSA)			
12. Panniculitis / Bullous lupus – mild (≤ 9% BSA)			
13. Major cutaneous vasculitis / thrombosis			
14. Digital infarcts or nodular vasculitis			
15. Alopecia – severe			
16. Alopecia – mild			
17. Peri-ungual erythema / chilblains			
18. Splinter hemorrhages			
<b>NEUROPSYCHIATRIC</b>	Score		Detail findings/changes for all descriptors scored 1 - 4
19. Aseptic meningitis			
20. Cerebral vasculitis			
21. Demyelinating syndrome			
22. Myelopathy			
23. Acute confusional state			
24. Psychosis			
25. Acute inflammatory demyelinating polyradiculoneuropathy			
26. Mononeuropathy (single / multiplex)			
27. Cranial neuropathy			
28. Plexopathy			
29. Polyneuropathy			
30. Seizure disorder			
31. Status epilepticus			
32. Cerebrovascular disease (not due to vasculitis)			
33. Cognitive dysfunction			
34. Movement disorder			
35. Autonomic disorder			
36. Cerebellar ataxia (isolated)			
37. Lupus headache – severe unremitting			
38. Headache from IC hypertension			
<b>MUSCULOSKELETAL</b>	Score	Detail findings/changes for all descriptors scored 1 - 4	
39. Myositis – severe			
40. Myositis – mild			
41. Arthritis – severe			
42. Arthritis – moderate / Tendonitis / Tenosynovitis			
43. Arthritis – mild / Arthralgia / Myalgia			

Screening / Randomization / _____ Week Visit & Date of Assessment: _____ - _____ - 20____					
(Circle visit type &/or enter visit week)			(Day Month Year)		
<b>CARDIORESPIRATORY</b>		Score	<b>Detail findings/changes for all descriptors scored 1 - 4</b>		
44. Myocarditis – mild					
45. Myocarditis / Endocarditis + Cardiac failure					
46. Arrhythmia					
47. New valvular dysfunction					
48. Pleurisy / Pericarditis					
49. Cardiac tamponade					
50. Pleural effusion with dyspnoea					
51. Pulmonary haemorrhage / vasculitis					
52. Interstitial alveolitis / pneumonitis					
53. Shrinking lung syndrome					
54. Aortitis					
55. Coronary vasculitis					
<b>GASTROINTESTINAL</b>		Score	<b>Detail findings/changes for all descriptors scored 1 - 4</b>		
56. Lupus peritonitis					
57. Abdominal serositis or ascites					
58. Lupus enteritis / colitis					
59. Malabsorption					
60. Protein-losing enteropathy					
61. Intestinal pseudo-obstruction					
62. Lupus hepatitis					
63. Acute lupus cholecystitis					
64. Acute lupus pancreatitis					
<b>OPHTHALMIC</b>		Score	<b>Detail findings/changes for all descriptors scored 1 - 4</b>		
65. Orbital inflammation / proptosis					
66. Keratitis – severe					
67. Keratitis - mild					
68. Anterior uveitis					
69. Posterior uveitis / retinal vasculitis – severe					
70. Posterior uveitis / retinal vasculitis – mild					
71. Episcleritis					
72. Scleritis – severe					
73. Scleritis – mild					
74. Retinal / choroidal vaso-occlusive disease					
75. Isolated cotton wool-spots (cytoid bodies)					
76. Optic neuritis					
77. Anterior ischaemic optic neuropathy					
<b>RENAL</b>		Value	SLE related?	<b>HAEMATOLOGICAL</b>	
78. Systolic BP > 140mmHg			Y / N	90. Haemoglobin (g/dl)	Y / N
79. Diastolic BP > 90 mmHg			Y / N	91. Total white cell count	Y / N
80. Accelerated hypertension	Yes / No			92. Neutrophils	Y / N
81. Urine dipstick (protein) (+=1, +=2, +++=3)			Y / N	93. Lymphocytes	Y / N
82. Urine albumin-creatinine ratio (mg/mmol)			Y / N	94. Platelets	Y / N
83. Urine protein-creatinine ratio (mg/mmol)			Y / N	95. TTP	Y / N
84. 24 hour urine protein			Y / N	96. Evidence of active haemolysis	Yes / No
85. Nephrotic syndrome	Yes / No			97. Coombs' test positive (isolated)	Yes / No
86. Creatinine (plasma/serum) (µmol/l)			Y / N	Specify lab findings / additional comments:	
87. GFR			Y / N		
88. Active urinary sediment	Yes / No				
89. Active nephritis	Yes / No				
Investigator Signature		Date			

## ANEXO 4

## ESTUDIO LES, PRL, E2 Y ACTIVIDAD

2010-2011

Fecha:

C.C.:

Nombre:	Edad:
Dirección:	Teléfono:

Tiempo de evolución de la enfermedad: \_\_\_\_\_

Lista Pre- Check:  

- Diagnóstico Confirmado de LES
- Firma del Consentimiento Informado

**CRITERIOS DE EXCLUSIÓN:**

- Terapia hormonal
- Dx de Prolactinoma

**Medicación (Exclusión):**

- Haloperidol, olanzapina, risperidona, domperidona, inhibidores de la MAO, fluoxetina

- Histerectomía total (ooforectomía)
- Embarazo
- DX de otra colagenosis
- Enfermedad renal crónica en HD
- Ciclofosfamida > 8g/m<sup>2</sup>
- Hipotiroidismo descompensado

- Labetalol, reserpina, verapamilo y  $\alpha$ -metildopa
- Ranitidina, metoclopramida, cimetidina

CLINIMETRIA	Sistemas Comprometidos					
<b>SLEDAI:</b> - Anti DNA: - C3: - C4: - CH: - P.Orina:	<input type="checkbox"/> SNC <input type="checkbox"/> Vascular <input type="checkbox"/> Renal <input type="checkbox"/> Musculoesquelético <input type="checkbox"/> Dermatológico <input type="checkbox"/> Inmunológico <input type="checkbox"/> Hematológico <input type="checkbox"/> Serosas					
BILAG	General	A	B	C	D	E
	Mucocutáneo					
	Neuropsiquiátrico					
	Musculoesquelético					
	Cardiorespiratorio					
	Vasculitis					
	Renal					
	Hematológico					

ESTUDIO LES, PRL, E2 Y ACTIVIDAD 2010-2011

**Medicación:**

Prednisolona	
DMARD	
Terapia Biológica	
Ciclofosfamida	

LABORATORIOS	VALOR
PROLACTINA	
ESTRADIOL	
PROGESTERONA	
<b>FASE DEL CICLO MENSTRUAL</b>	
PREOVULATORIA	
POSTOVULATORIA	

**Fecha de toma de muestra:****Próxima cita:**

Día	Fecha

## ANEXO 5

**TÍTULO:** “ASOCIACIÓN DE NIVELES DE ESTRADIOL Y PROLACTINA CON LA ACTIVIDAD DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO EN PACIENTES DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA SAMARITANA”

**Tipo de Consentimiento:** Toma de muestra de sangre periférica

**Grupos de investigación:** Grupo de investigación en Inmunología clínica Hospital Universitario de la Samaritana.

### CONSENTIMIENTO / ASENTIMIENTO INFORMADO

Reciba un cordial saludo y por medio de este documento la invitamos a participar en el estudio “**ASOCIACIÓN DE NIVELES DE ESTRADIOL Y PROLACTINA CON LA ACTIVIDAD DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO EN PACIENTES DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA SAMARITANA**” que tiene como objeto estudiar el comportamiento de las hormonas sexuales en la enfermedad que se le diagnosticó como Lupus Eritematoso Sistémico (LES). Esta se caracteriza por periodos de recaída y control; se ha observado que afecta más a mujeres, sobre todo en edad de tener hijos y se desconoce la causa de esto, pero se sospecha que podría estar en relación con los niveles de las hormonas sexuales, principalmente de estrógeno y prolactina. Este estudio pretende determinar si esto ocurre en nuestra población.

Su participación es absolutamente voluntaria, no afectará la calidad de su atención médica, sin importar la razón en cualquier momento si desea se puede retirar y ninguno de los investigadores le pedirán razones del motivo de su retiro del estudio.

#### Procedimientos del Estudio

Si usted acepta participar, primero se le hará un examen físico completo para determinar si la enfermedad está activa o no y luego se le tomarán tres muestras de sangre de aproximadamente 3ml en el laboratorio de inmunología del HUS antes de las 9:00 am.

#### Beneficios

Los exámenes relacionados con el estudio son completamente gratuitos. Usted no tendrá que incurrir en ningún gasto por participar en este estudio y no recibirá un beneficio económico, sin embargo, la información obtenida en este estudio podría ayudarnos en el futuro a mejorar la prevención y el control de los periodos de actividad de la enfermedad en usted y en otros pacientes.



## Riesgos

El único riesgo del estudio será el mismo que cuando a usted se le extrae una toma de sangre, por ejemplo puede producirse un poco de dolor y quedar un pequeño morado que se resolverá sin tratamiento en los próximos días, o infección en el sitio de punción. La toma de las muestras se harán bajo condiciones de estricta limpieza y cuidado para minimizar los riesgos. La cantidad total de sangre necesitada es similar a la necesitada en las pruebas de laboratorio usuales y no representa un riesgo para su salud.

## Confidencialidad

La información será manejada exclusivamente por el Grupo de investigación de Inmunología clínica del Hospital Universitario de la Samaritana, a cargo del Dr. Alberto Dezubiría y solo él y sus colaboradores sabrán que usted está participando en el estudio. Los registros que se hagan se harán identificándolo sólo con un código y no con el nombre. Si los resultados de este estudio son publicados, usted no será identificado por el nombre. Estos registros se guardarán en una base de datos perteneciente al grupo de investigación.

## Acceso a la información del Estudio

Usted puede tener acceso a la información que se recopile como parte del estudio solicitándola al grupo de investigación. Es posible que el director del proyecto le solicite durante el curso del estudio información adicional sobre usted o información familiar.

Usted entiende que su participación en el estudio es **VOLUNTARIA**. En cualquier momento usted puede retirar su consentimiento a participar en el estudio, sin que su tratamiento médico posterior se vea afectado. Su médico también podrá detener el estudio por razones médicas u otras razones. Con su firma acepta participar en el estudio y acepta que todas las dudas quedaron claramente respondidas.

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_

Número de identificación: \_\_\_\_\_

Firma \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

(En caso de Menor de edad)

Yo, \_\_\_\_\_, con identificación: \_\_\_\_\_  
representante legal de \_\_\_\_\_, Identificación No.  
\_\_\_\_\_ doy la autorización voluntariamente para que mi hija  
participe en este estudio habiendo leído (o escuchado) la información anterior.

Firma \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

**No aceptación:**

Yo, \_\_\_\_\_ con identificación: \_\_\_\_\_ he  
decidido voluntariamente **NO** participar en este estudio habiendo leído (o escuchado) la  
información anterior.

Nombre del Investigador: \_\_\_\_\_

Número de identificación: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

En caso de dudas e inquietudes, puede comunicarse al 312 4872456 con la Dra.  
Carolina Aulestia.

**TÍTULO:** “ASOCIACIÓN DE NIVELES DE ESTRADIOL Y PROLACTINA CON LA ACTIVIDAD DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO EN PACIENTES DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA SAMARITANA”

**Tipo de Consentimiento:** Almacenamiento de sangre periférica

**Grupos de investigación:** Grupo de investigación en Inmunología clínica Hospital Universitario de la Samaritana.

## **CONSENTIMIENTO / ASENTIMIENTO INFORMADO**

Reciba un cordial saludo y por medio de este documento la invitamos a participar en el estudio “**ASOCIACIÓN DE NIVELES DE ESTRADIOL Y PROLACTINA CON LA ACTIVIDAD DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO EN PACIENTES DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO DE LA SAMARITANA**” que tiene como objeto estudiar el comportamiento de las hormonas sexuales en la enfermedad que se le diagnosticó como Lupus Eritematoso Sistémico (LES).

Su participación es absolutamente voluntaria, no afectará la calidad de su atención médica, sin importar la razón en cualquier momento si desea se puede retirar y ninguno de los investigadores le pedirán razones del motivo de su retiro del estudio.

### **Uso de las muestras de sangre**

Es posible que las muestras almacenadas por el Grupo de investigación de Inmunología Clínica del Hospital Universitario de la Samaritana se necesiten para otros estudios, ya que puede ser que la información que se logre obtener en éste estudio permita realizar nuevas investigaciones moleculares y/o genéticas (como la medición de otras hormonas o anticuerpos, así como qué tipos de genes están involucrados en el desarrollo de la enfermedad), sobre las muestras de sangre preservadas en el Hospital Universitario de la Samaritana, y por lo tanto, este consentimiento y su aprobación nos permita almacenarlas para usarlas en otros proyectos similares.

Las muestras serán almacenadas a  $-20^{\circ}\text{C}$ , debidamente rotuladas con los códigos pertenecientes a la paciente, en un espacio reservado exclusivamente para muestras de este proyecto. Se mantendrán así por un año.

En caso de volver a utilizarlas se le notificará para que usted autorice su utilización o no.

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_

Número de identificación: \_\_\_\_\_

Firma \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

(En caso de Menor de edad)

Yo, \_\_\_\_\_, con identificación: \_\_\_\_\_  
representante legal de \_\_\_\_\_, Identificación No.  
\_\_\_\_\_ doy la autorización voluntariamente para que mi hija  
participe en este estudio habiendo leído (o escuchado) la información anterior.

Firma \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

**No aceptación:**

Yo, \_\_\_\_\_ con identificación: \_\_\_\_\_ he  
decidido voluntariamente **NO** participar en este estudio habiendo leído (o escuchado) la  
información anterior.

Nombre del Investigador: \_\_\_\_\_

Número de identificación: \_\_\_\_\_

Firma: \_\_\_\_\_

Fecha: \_\_\_\_\_

Estos consentimientos informados han sido aprobados por el Comité de Ética del Hospital Universitario de la Samaritana el día 10 de Noviembre de 2010.

**REFERENCIAS**

1. Clowse MEB. Lupus activity in pregnancy. *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 2007 May;33(2):237–252, v.
2. Kotzin BL. Systemic lupus erythematosus. *Cell.* 1996 May;85(3):303–6.
3. Szyper-Kravitz M, Zandman-Goddard G, Lahita RG, Shoenfeld Y. The neuroendocrine-immune interactions in systemic lupus erythematosus: a basis for understanding disease pathogenesis and complexity. *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 2005 Feb;31(1):161–175, x.
4. Nikpour M, Urowitz MB, Ibañez D, Gladman DD. Frequency and determinants of flare and persistently active disease in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2009;61(9):1152–8.
5. Petri M. Sex hormones and systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2008 May;17(5):412–5.
6. Crow MK. Developments in the clinical understanding of lupus. *Arthritis Res. Ther.* 2009;11(5):245.
7. Cabrera JMA, D CAC, S RC, V PAC. Autoinmunidad y enfermedad autoinmune. *Corporación para Investigaciones Biológicas;* 2005. p. 557.
8. Lim SS, Drenkard C. Epidemiology of systemic lupus erythematosus: capturing the butterfly. *Curr. Rheumatol. Rep.* 2008 Aug;10(4):265–72.
9. Pons-Estel GJ, Alarcón GS, Scofield L, Reinlib L, Cooper GS. Understanding the epidemiology and progression of systemic lupus erythematosus. *Semin. Arthritis Rheum.* 2010 Feb;39(4):257–68.
10. Tikly M, Navarra S V. Lupus in the developing world--is it any different? *Best Pract. Res. Clin. Rheumatol.* 2008 Aug;22(4):643–55.
11. Vasudevan A, Krishnamurthy AN. Changing worldwide epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 2010 Feb;36(1):1–13, vii.
12. 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 Nov;25(11):1271–7.
13. Crow MK. MD Consult: Goldman: Cecil Medicine, 23rd ed. [Internet]. 2007 [cited 2011 Jan 15]. Available from: <http://www.mdconsult.com/books/page>
14. Petri M, Genovese M, Engle E, Hochberg M. Definition, incidence, and clinical description of flare in systemic lupus erythematosus. A prospective cohort study. *Arthritis Rheum.* 1991 Aug;34(8):937–44.

15. Bombardier C, Gladman DD, Urowitz MB, Caron D, Chang CH. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The Committee on Prognosis Studies in SLE. *Arthritis Rheum.* 1992 Jun;35(6):630–40.
16. Gladman DD, Goldsmith CH, Urowitz MB, Bacon P, Bombardier C, Isenberg D, et al. Sensitivity to change of 3 Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Indices: international validation. *J. Rheumatol.* 1994 Aug;21(8):1468–71.
17. Ramsey-Goldman R, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus measures: British Isles Lupus Assessment Group (BILAG), European Consensus Lupus Activity Measurement (ECLAM), Systemic Lupus Activity Measure (SLAM), Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Measure (SLEDAI), and Systemi. *Arthritis Rheum.* 2003;49(S5):S225–S233.
18. Symmons DP, Coppock JS, Bacon PA, Bresnihan B, Isenberg DA, Maddison P, et al. Development and assessment of a computerized index of clinical disease activity in systemic lupus erythematosus. Members of the British Isles Lupus Assessment Group (BILAG). *Q. J. Med.* 1988 Nov;69(259):927–37.
19. Rogerio A. Lobo. MD Consult: Katz: Comprehensive Gynecology, Chapter 4 – Reproductive Endocrinology : Neuroendocrinology, Gonadotropins, Sex Steroids, Prostaglandins, Ovulation, Menstruation, Hormone Assay. Ovarian Steroids [Internet]. 2007 [cited 2011 Jan 16]. Available from: <http://www.mdconsult.com/books>
20. Demura R, Suzuki T, Tajima S, Mitsunashi S, Odagiri E, Demura H, et al. Human plasma free activin and inhibin levels during the menstrual cycle. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993 Apr;76(4):1080–2.
21. Gruber CJ, Tschugguel W, Schneeberger C, Huber JC. Production and actions of estrogens. *N. Engl. J. Med.* 2002 Jan;346(5):340–52.
22. Cohen-Solal JFG, Jeganathan V, Grimaldi CM, Peeva E, Diamond B. Sex hormones and SLE: influencing the fate of autoreactive B cells. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2006;305:67–88.
23. Edward Rose, Donald Pillsbury. LUPUS ERYTHEMATOSUS (ERYTHEMATODES) AND OVARIAN FUNCTION: OBSERVATIONS ON A POSSIBLE RELATIONSHIP, WITH REPORT OF SIX CASES\*. 1944 Dec;21(6):1022–34.
24. Cohen-Solal JFG, Jeganathan V, Hill L, Kawabata D, Rodriguez-Pinto D, Grimaldi C, et al. Hormonal regulation of B-cell function and systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2008 Jun;17(6):528–32.
25. Grimaldi CM. Sex and systemic lupus erythematosus: the role of the sex hormones estrogen and prolactin on the regulation of autoreactive B cells. *Curr. Opin. Rheumatol.* 2006 Sep;18(5):456–61.

26. McMurray RW, May W. Sex hormones and systemic lupus erythematosus: Review and meta-analysis. *Arthritis Rheum.* 2003;48(8):2100–10.
27. Folomeev M, Dougados M, Beaune J. Plasma sex hormones and aromatase activity in tissues of patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 1992 May;1(3):191–5.
28. Roubinian J, Talal N, Siiteri PK, Sadakian JA. Sex hormone modulation of autoimmunity in NZB/NZW mice. *Arthritis Rheum.* 1979;22(11):1161–9.
29. Verthelyi D, Ansar Ahmed S. Characterization of estrogen-induced autoantibodies to cardiolipin in non-autoimmune mice. *J. Autoimmun.* 1997 Apr;10(2):115–25.
30. Kassi E, Moutsatsou P. Estrogen receptor signaling and its relationship to cytokines in systemic lupus erythematosus. *J. Biomed. Biotechnol.* 2010 Jan;2010:1–14.
31. Gomez, G, Posada, G, Martinez, C. Prolactina Y Prolactinomas: Una vision global. *Rev. Colomb. Menopaus.* 2000;6(3):244–69.
32. Madhusoodanan S, Parida S, Jimenez C. Hyperprolactinemia associated with psychotropics--a review. *Hum. Psychopharmacol.* 2010 Jun;25(4):281–97.
33. Guber HA, Farag AF, Tumors P. Evaluation of Endocrine Function. In: McPherson RA, Pincus MR, editors. *Henry's Clin. Diagnosis Manag. by Lab. Methods.* Twenty sec. Philadelphia: Elsevier Inc.; 2011. p. 365–401.
34. Lobo, R. MD Consult: Katz: *Comprehensive Gynecology.* Chapter 39 – Hyperprolactinemia, Galactorrhea, and Pituitary Adenomas : Etiology, Differential Diagnosis, Natural History, Management. 5th ed. Mosby Elsevier; 2007.
35. McPherson RA, Pincus MR, Henry JB. *Henry's clinical diagnosis and management by laboratory methods.* 21st ed. Saunders Elsevier; 2007. p. 1484.
36. SIEVERTSEN GD, LIM VS, NAKAWATASE C, FROHMAN LA. Metabolic Clearance and Secretion Rates of Human Prolactin in Normal Subjects and in Patients with Chronic Renal Failure. *J Clin Endocrinol Metab.* 1980 May;50(5):846–52.
37. Chuang E, Molitch ME. Prolactin and autoimmune diseases in humans. *Acta Bio-Medica Atenei Parm.* 2007;78 Suppl 1:255–61.
38. Russell DH. New aspects of prolactin and immunity: a lymphocyte-derived prolactin-like product and nuclear protein kinase C activation. *Trends Pharmacol. Sci.* 1989 Jan;10(1):40–4.

39. Saha S, Tieng A, Pepeljugoski KP, Zandamn-Goddard G, Peeva E. Prolactin, systemic lupus erythematosus, and autoreactive B cells: lessons learnt from murine models. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2011 Feb;40(1):8–15.
40. Jacobi a., Rohde W, Ventz M, Riemekasten G, Burmester G-R, Hiepe F. Enhanced serum prolactin (PRL) in patients with systemic lupus erythematosus: PRL levels are related to the disease activity. *Lupus.* 2001 Aug 1;10(8):554–61.
41. Jara LJ, Gomez-Sanchez C, Silveira LH, Martinez-Osuna P, Vasey FB, Espinoza LR. Hyperprolactinemia in systemic lupus erythematosus: association with disease activity. *Am. J. Med. Sci.* 1992 Apr;303(4):222–6.
42. Rovenský J, Juránková E, Rauová L, Blazicková S, Lukác J, Veselková Z, et al. Relationship between endocrine, immune, and clinical variables in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.* 1997 Dec;24(12):2330–4.
43. Saha S, Gonzalez J, Rosenfeld G, Keiser H, Peeva E. Prolactin alters the mechanisms of B cell tolerance induction. *Arthritis Rheum.* 2009 Jun;60(6):1743–52.
44. Peeva E, Michael D, Cleary J, Rice J, Chen X, Diamond B. Prolactin modulates the naive B cell repertoire. *J. Clin. Invest.* 2003 Jan;111(2):275–83.
45. Rezanka LJ, Kenny JJ, Longo DL. Dual isotype expressing B cells  $[[\kappa](+)/[\lambda](+)]$  arise during the ontogeny of B cells in the bone marrow of normal nontransgenic mice. *Cell. Immunol.* 2005 Nov;238(1):38–48.
46. Rice JS, Newman J, Wang C, Michael DJ, Diamond B. Receptor editing in peripheral B cell tolerance. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2005 Mar 1;102(5):1608–13.
47. Radic MZ, Erikson J, Litwin S, Weigert M. B lymphocytes may escape tolerance by revising their antigen receptors. *J. Exp. Med.* 1993 Apr 1;177(4):1165–73.
48. Nossal GJ, Pike BL. Clonal anergy: persistence in tolerant mice of antigen-binding B lymphocytes incapable of responding to antigen or mitogen. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1980 Mar;77(3):1602–6.
49. Merrell KT, Benschop RJ, Gauld SB, Aviszus K, Decote-Ricardo D, Wysocki LJ, et al. Identification of Anergic B Cells within a Wild-Type Repertoire. *Immunity.* 2006;25(6):953–62.
50. Gauld SB, Benschop RJ, Merrell KT, Cambier JC. Maintenance of B cell anergy requires constant antigen receptor occupancy and signaling. *Nat. Immunol.* 2005 Nov;6(11):1160–7.
51. Jara LJ, Medina G, Saavedra MA, Vera-Lastra O, Navarro C. Prolactin and autoimmunity. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2011 Feb;40(1):50–9.



52. Jara LJ, Lavalle C, Espinoza LR. Does prolactin have a role in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus? *J. Rheumatol.* 1992 Sep;19(9):1333–6.
53. Walker SE, McMurray RW, Hourii JM, Allen SH, Keisler D, Sharp GC, et al. Effects of prolactin in stimulating disease activity in systemic lupus erythematosus. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1998 May;840:762–72.
54. McMurray RW. Prolactin and systemic lupus erythematosus. *Ann. Med. Interne (Paris)*. 1996;147(4):253–8.
55. Lahita RG, Bradlow HL, Kunkel HG, Fishman J. Alterations of estrogen metabolism in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1979 Nov;22(11):1195–8.
56. Zen M, Ghirardello A, Iaccarino L, Tonon M, Campana C, Arienti S, et al. Hormones, immune response, and pregnancy in healthy women and SLE patients. *Swiss Med. Wkly.* 2010 Apr;140(13-14):187–201.
57. Isenberg DA. BILAG, SLEDAI, SIS, ECLAM, WAM, SLAM .... thank you MAM. *Lupus.* 2007;16(11):849–51.
58. P. Tsao, B., Hannahs, B. Firestein: *Kelley's Textbook of Rheumatology - Part 11 Systemic Lupus Erythematosus and Related Syndromes*. 8th ed. W.B. Saunders Company; 2008. p. Ch 75.
59. Carroll M V., Sim RB. Complement in health and disease. *Adv. Drug Deliv. Rev.* Elsevier B.V.; 2011 Sep 16;63(12):965–75.
60. Julkunen H, Ekblom-Kullberg S, Miettinen A. Nonrenal and renal activity of systemic lupus erythematosus: a comparison of two anti-C1q and five anti-dsDNA assays and complement C3 and C4. *Rheumatol. Int.* 2011 Jun;
61. Amezcua-Guerra LM, Springall R, Arrieta-Alvarado AA, Rodríguez V, Rivera-Martinez E, Castillo-Martinez D, et al. C-reactive protein and complement components but not other acute-phase reactants discriminate between clinical subsets and organ damage in systemic lupus erythematosus. *Clin. Lab.* 2011;57(7-8):607–13.
62. Mersereau J, Dooley MA. Gonadal failure with cyclophosphamide therapy for lupus nephritis: advances in fertility preservation. *Rheum. Dis. Clin. North Am.* 2010 Feb;36(1):99–108, viii.
63. Tehseen I, Khemomal K, Shehnaz S, Khemomal K. SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS, FEMALE OF FERTILE AGE CHANGES IN REPRODUCTIVE HORMONES ESTROGEN AND PROLACTIN LEVELS. *Prof. Med. J.* 2011;18(2):255–8.

64. Shabanova SS, Ananieva LP, Alekberova ZS, Guzov II. Ovarian function and disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2008;26(3):436–41.
65. Tiskievicz F, Mallmann ES. Prolactina, estradiol e anticorpos anticardiolipina em amostra de mulheres pré-menopáusicas com lúpus eritematoso sistêmico: estudo-piloto. *Rev Bras Reum.* 2011;51(5):456–64.
66. Weidler C, Härle P, Schedel J, Schmidt M, Schölmerich J, Straub RH. Patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus have increased renal excretion of mitogenic estrogens in relation to endogenous antiestrogens. *J. Rheumatol.* 2004 Mar;31(3):489–94.
67. Wang J, Nuite M, McAlindon TE. Association of estrogen and aromatase gene polymorphisms with systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2010 May;19(6):734–40.
68. Dagtas A, Moussai D, Diamond B. Estrogen alters thresholds for B cell apoptosis and activation. *J. Clin.* 2002;109(12):1625–33.
69. Thien M, Phan TG, Gardam S, Amesbury M, Basten A, Mackay F, et al. Excess BAFF rescues self-reactive B cells from peripheral deletion and allows them to enter forbidden follicular and marginal zone niches. *Immunity.* 2004 Jun;20(6):785–98.
70. Venkatesh J, Peeva E, Xu X, Diamond B. Cutting Edge: Hormonal milieu, not antigenic specificity, determines the mature phenotype of autoreactive B cells. *J. Immunol.* 2006 Mar 15;176(6):3311–4.
71. Rider V, Jones SR, Evans M, Abdou NI. Molecular mechanisms involved in the estrogen-dependent regulation of calcineurin in systemic lupus erythematosus T cells. *Clin. Immunol.* 2000 May;95(2):124–34.
72. Rider V, Keltner S, Abdou NI. Increased estrogen-dependent expression of calcineurin in female SLE T cells is regulated by multiple mechanisms. *J. Gen. Specif. Med.* 2003 Jan;6(2):14–21.
73. Kim W-U, Min S-Y, Hwang S-H, Yoo S, Kim K-J, Cho C-S. Effect of oestrogen on T cell apoptosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin. Exp. Immunol.* 2010 Sep;161(3):453–8.
74. Feng F, Nyland J, Banyai M, Tatum A, Silverstone AE, Gavalchin J. The induction of the lupus phenotype by estrogen is via an estrogen receptor-alpha-dependent pathway. *Clin. Immunol. Elsevier Inc.;* 2010 Feb;134(2):226–36.
75. Bynoté KK, Hackenberg JM, Korach KS, Lubahn DB, Lane PH, Gould K a. Estrogen receptor-alpha deficiency attenuates autoimmune disease in (NZB x NZW)F1 mice. *Genes Immun.* 2008 Mar;9(2):137–52.

76. Potier M, Elliot SJ, Tack I, Lenz O, Striker GE, Striker LJ, et al. Expression and regulation of estrogen receptors in mesangial cells: influence on matrix metalloproteinase-9. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2001 Feb;12(2):241–51.
77. Potier M, Karl M, Zheng F, Elliot SJ, Striker GE, Striker LJ. Estrogen-related abnormalities in glomerulosclerosis-prone mice: reduced mesangial cell estrogen receptor expression and pro-sclerotic response to estrogens. *Am. J. Pathol.* 2002 May;160(5):1877–85.
78. Elliot SJ, Karl M, Berho M, Potier M, Zheng F, Leclercq B, et al. Estrogen deficiency accelerates progression of glomerulosclerosis in susceptible mice. *Am. J. Pathol.* 2003 May;162(5):1441–8.
79. Shim G-J, Kis LL, Warner M, Gustafsson J-A. Autoimmune glomerulonephritis with spontaneous formation of splenic germinal centers in mice lacking the estrogen receptor alpha gene. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2004 Feb 10;101(6):1720–4.
80. Han HJ, Park SH, Park HJ, Park KM, Kang JW, Lee JH, et al. Effect of various oestrogens on cell injury and alteration of apical transporters induced by tert-butyl hydroperoxide in renal proximal tubule cells. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 29(1-2):60–7.
81. Irsik DL, Carmines PK, Lane PH. Classical Estrogen Receptors and ER $\alpha$  Splice Variants in the Mouse. *PLoS One.* 2013 Jan;8(8):e70926.
82. Wu WM, Lin BF, Su YC, Suen JL, Chiang BL. Tamoxifen decreases renal inflammation and alleviates disease severity in autoimmune NZB/W F1 mice. *Scand. J. Immunol.* 2000 Oct;52(4):393–400.
83. Sthoeger ZM, Zinger H, Mozes E. Beneficial effects of the anti-oestrogen tamoxifen on systemic lupus erythematosus of (NZBxNZW)F1 female mice are associated with specific reduction of IgG3 autoantibodies. *Ann. Rheum. Dis.* 2003 Apr;62(4):341–6.
84. Abdou NI, Rider V, Greenwell C, Li X, Kimler BF. Fulvestrant (Faslodex), an estrogen selective receptor downregulator, in therapy of women with systemic lupus erythematosus. clinical, serologic, bone density, and T cell activation marker studies: a double-blind placebo-controlled trial. *J. Rheumatol.* 2008 May;35(5):797.
85. Qu X a, Gudivada RC, Jegga AG, Neumann EK, Aronow BJ. Inferring novel disease indications for known drugs by semantically linking drug action and disease mechanism relationships. *BMC Bioinformatics.* 2009 Jan;10 Suppl 5:S4.
86. Singh MN, Martin-Hirsch PL, Martin FL. The multiple applications of tamoxifen: an example pointing to SERM modulation being the aspirin of the 21st century. *Med. Sci. Monit.* 2008 Sep;14(9):RA144–8.

87. Rezaieyazdi Z, Hesamifard A. Correlation between serum prolactin levels and lupus activity. *Rheumatol. Int.* 2006 Sep;26(11):1036–9.
88. Haghghi A, Lahmi F. Hyperprolactinemia in patients with systemic lupus erythematosus: correlation with disease activity. *APLAR J. Rheumatol.* 2006 Sep;9(3):227–31.
89. Mok CC, Lau CS, Tam SC. Prolactin profile in a cohort of Chinese systemic lupus erythematosus patients. *Br. J. Rheumatol.* 1997 Sep;36(9):986–9.
90. Moszkorzová L, Lacinová Z, Marek J, Musilová L, Dohnalová A, Dostál C. Hyperprolactinaemia in patients with systemic lupus erythematosus. *Clin. Exp. Rheumatol.* 2002;20(6):807–12.
91. Jara LJ, Vera-Lastra O, Miranda JM, Alcalá M, Alvarez-Nemegyei J. Prolactin in human systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2001;10(10):748–56.
92. Jokar M, Maybodi NT, Amini A, Fard MH. Prolactin and macroprolactin in patients with systemic lupus erythematosus. *Int. J. Rheum. Dis.* 2008 Sep;11(3):257–62.
93. Jara LJ, Pacheco-Reyes H, Medina G, Angeles U, Cruz-Cruz P, Saavedra M a. Prolactin Levels Are Associated with Lupus Activity, Lupus Anticoagulant, and Poor Outcome in Pregnancy. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2007 Jun 1;1108(1):218–26.
94. Karimifar M, Tahmasebi A, Bonakdar ZS, Purajam S. Correlation of serum prolactin levels and disease activity in systematic lupus erythematosus. *Rheumatol. Int.* 2013 Feb;33(2):511–6.
95. Buskila D, Lorber M, Neumann L, Flusser D, Shoenfeld Y. No correlation between prolactin levels and clinical activity in patients with systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.* 1996 Apr;23(4):629–32.
96. Stevens a., Ray DW, Worthington J, Davis JR. Polymorphisms of the human prolactin gene—implications for production of lymphocyte prolactin and systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2001 Oct 1;10(10):676–83.
97. Sabharwal P, Glaser R, Lafuse W, Varma S, Liu Q, Arkins S, et al. Prolactin synthesized and secreted by human peripheral blood mononuclear cells: an autocrine growth factor for lymphoproliferation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 1992 Aug 15;89(16):7713–6.
98. Yu-Lee L. Stimulation of interferon regulatory factor-1 by prolactin. *Lupus.* 2001;10(10):691–9.
99. Yu-Lee LY. Molecular actions of prolactin in the immune system. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1997 May;215(1):35–52.

100. Clevenger C V, Kline JB. Prolactin receptor signal transduction. *Lupus*. 2001 Jan;10(10):706–18.
101. Dostál C, Moszkořzová L, Musilová L, Lacinová Z, Marek J, Zvářová J. Serum prolactin stress values in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann. Rheum. Dis.* 2003 May;62(5):487–8.
102. McMurray RW, Weidensaul D, Allen SH, Walker SE. Efficacy of bromocriptine in an open label therapeutic trial for systemic lupus erythematosus. *J. Rheumatol.* 1995 Nov;22(11):2084–91.
103. Alvarez-Nemegyei J, Cobarrubias-Cobos A, Escalante-Triay F, Sosa-Muñoz J, Miranda JM, Jara LJ. Bromocriptine in systemic lupus erythematosus: a double-blind, randomized, placebo-controlled study. *Lupus*. 1998;7(6):414–9.
104. Walker SE. Modulation of hormones in the treatment of lupus. *Am. J. Manag. Care.* 2001 Oct;7(16 Suppl):S486–489.
105. Jara LJ, Cruz-Cruz P, Saavedra M a, Medina G, García-Flores A, Angeles U, et al. Bromocriptine during pregnancy in systemic lupus erythematosus: a pilot clinical trial. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2007 Sep;1110:297–304.
106. Orbach H, Zandman-Goddard G, Amital H, Barak V, Szekanecz Z, Szucs G, et al. Novel biomarkers in autoimmune diseases: prolactin, ferritin, vitamin D, and TPA levels in autoimmune diseases. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2007 Aug;1109:385–400.
107. Oertelt-Prigione S. Immunology and the menstrual cycle. *Autoimmun. Rev.* Elsevier B.V.; 2012 May;11(6-7):A486–92.
108. Steinberg AD, Steinberg BJ. Lupus disease activity associated with menstrual cycle. *J. Rheumatol.* 1985 Aug;12(4):816–7.
109. Pasoto SG, Mendonça BB, Bonfá E. Menstrual disturbances in patients with systemic lupus erythematosus without alkylating therapy: clinical, hormonal and therapeutic associations. *Lupus*. 2002 Jan;11(3):175–80.
110. Medeiros PB, Febrônio M V, Bonfá E, Borba EF, Takiuti AD, Silva CAA. Menstrual and hormonal alterations in juvenile systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2009 Jan;18(1):38–43.
111. Colangelo K, Haig S, Bonner A, Zelenietz C, Pope J. Self-reported flaring varies during the menstrual cycle in systemic lupus erythematosus compared with rheumatoid arthritis and fibromyalgia. *Rheumatology (Oxford)*. 2011 Apr;50(4):703–8.