

REVISIÓN - ACTUALIZACIÓN

Polimorfismos de citoquinas en lupus eritematoso sistémico

Pilar Guarnizo¹, Gloria Vásquez²

Resumen

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad poligénica, caracterizada por la activación policlonal de las células B, formación de inmunocomplejos, alteración de la depuración de éstos y una respuesta inflamatoria multisistémica.

La influencia genética en LES ha sido reconocida a través de múltiples estudios, inicialmente por la variabilidad del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), y actualmente en genes asociados con inmunidad fuera de este complejo, donde las citoquinas han adquirido especial importancia.

Los polimorfismos en los genes de citoquinas se relacionan con diferentes niveles de expresión y producción de las mismas, participando en la fisiopatología de la enfermedad en tres aspectos básicos:

1. **Disbalance Th1/Th2.** Se han documentado niveles elevados de IL-4, IL-6, e IL-10 en LES, lo que favorecería la respuesta Th2. Participa también en este proceso IFN γ , cuyos niveles séricos variables durante el curso de la enfermedad favorecen Th1 al inicio

y Th2 en fases tardías. Finalmente TGF β , que coestimula las células reguladoras T naive activadoras para ser células Th1 o Th2.

2. **Activación persistente de las células B,** relacionada con el factor activador de célula B (BAFF), el cual es regulado positivamente por IFN- γ e IL-10, IL-6.
3. **Defectos en la tolerancia IFN γ** han sido implicados, alterando la tolerancia a autoantígenos por aumento de la expresión de MHC clase II.

Adicionalmente, se han descrito asociaciones con manifestaciones de la enfermedad, así TNF α e IFN γ e IL-10 con nefritis lúpica, IL-6 -174 G/C con lupus discoide cutáneo.

Esta revisión muestra la participación de los polimorfismos de citoquinas en LES, una enfermedad con una incidencia creciente, considerada modelo de autoinmunidad.

Palabras clave: lupus eritematoso sistémico, citoquinas, polimorfismo.

Summary

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a polygenic complex trait disease, characterized by polyclonal B-cell activation, consequent auto

1 Médico cirujano Universidad del Norte Barranquilla, médico Pediatra Universidad del Rosario Bogotá y Residente primer año de Reumatología Pediatría Universidad de Antioquia.

2 MD, DSc Docente- investigadora grupo de reumatología Universidad de Antioquia. Grupo de inmunología celular e inmunogenética Facultad de Medicina Universidad de Antioquia.

Recibido para publicación: junio 25 de 2004.
Aceptado en forma revisada: agosto 20 de 2004.

antibody formation and multisystemic autoimmune disease.

The importance of genetic influences on SLE has been recognized throughout cumulative studies, early genetic studies were focused on major histocompatibility complex (MHC) because their polymorphous features, nowadays others genes have been studied, in this group the cytokines have an important role.

Cytokine gene polymorphism has been related with different levels of expression, they may be involved in three steps of the SLE pathogenesis:

1. The balance of cytokines Th1/Th2. The presence of elevated serum levels of IL-4, IL-6 and IL-10 in patients who have SLE, suggest that it should be considered as Th2 disease. Other evidence shows that Th1 cytokines, particularly IFN γ may play an important role, especially in the early state of the disease. Finally TGF β co-stimulates activated naïve T cells to become regulatory T cells.
2. Overt B-cell activation, it's related with BAFF over expression. BAFF is up-regulated by IFN γ , IL-10 and IL-6.
3. Break down of tolerance, in SLE patients there is an over expression of MHC II, where IFN γ has been involved.

On the other hand, the different clinical manifestations of SLE are associated with certain pattern of cytokines. TNF α , IFN γ , and IL-10 have been related with lupus nephritis and IL-6 promoter polymorphism (-174 G/C), predisposes to discoid skin lesions.

This review shows the cytokines polymorphism role in the SLE pathogenesis.

Key words: systemic lupus erythematosus, cytokine, polymorphism.

Introducción

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad poligénica, prototipo de auto inmunidad, caracterizada por una activación policlonal de las

células B, con producción de autoanticuerpos, especialmente IgG, contra antígenos nucleares, y formación de inmunocomplejos que se depositan a nivel tisular; asociado a una alteración en la depuración de éstos últimos y una respuesta inflamatoria multisistémica¹.

Para la clasificación de esta enfermedad se han utilizado múltiples criterios desde 1971 hasta nuestros días, actualmente se utilizan los criterios del Colegio Americano de Reumatología (ACR), revisados en 1997².

En cuanto a la epidemiología, la prevalencia de LES en los Estados Unidos se ha reportado en rangos muy variables, desde 14,6 hasta 122 casos por cada 100.000 habitantes³, dependiendo del lugar de evaluación y las características étnicas de cada grupo, y siendo más prevalente en hispanos y afroamericanos⁴. En un meta-análisis realizado con base en 16 estudios poblacionales de Europa y Norte América, Jacobson *et al.*⁵ estimaron una prevalencia media de 23,8 por cada 100.000 habitantes. Aplicando estos datos al censo poblacional de Estados Unidos de 1996, se estima que 63.052 personas podrían padecer la enfermedad en ese país, en ese período. Para la cohorte de 1980-1992, se ha establecido una incidencia de 5,56 por cada 100.000 habitantes, sugiriendo un aumento en la incidencia (reportada en 1,5 entre 1950-1979) y por ende en la prevalencia; posibles explicaciones para estos hallazgos son el reconocimiento temprano de la enfermedad, el aumento a la exposición de estrógenos, ya sea por el uso de anticonceptivos o por terapia de reemplazo hormonal, y, finalmente, un aumento en la exposición a los rayos ultravioleta, secundario a la degeneración en la capa de ozono⁶. Por último, en cuanto a la distribución por sexo, existe un predominio del sexo femenino, especialmente en edad reproductiva, 15-64 años, en este grupo el riesgo es 10 veces mayor que en los hombres, porcentaje que disminuye en mujeres menores de 14 o mayores de 64 años, siendo sólo cuatro veces mayor que en el sexo opuesto⁷⁻⁸.

La importancia de la influencia genética en el lupus eritematoso sistémico ha sido reconocida a través de múltiples estudios epidemiológicos. Con modelos de gemelos monocigóticos se encontró una concordancia de 24-58%, aproximadamente diez

veces más que entre hermanos y parientes⁹; la no concordancia del 100% sugiere que hay factores adicionales requeridos para desarrollar la enfermedad¹⁰, probablemente la presencia de estímulos ambientales u hormonales que actúen sobre ciertos genes, los cuales a su vez confieran susceptibilidad para desarrollar la enfermedad².

Los estudios iniciales se concentraron en la variabilidad de los genes del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), ya que las moléculas de clase I y II son consideradas las proteínas más polimórficas conocidas hasta ahora; dentro de esta región, en el cromosoma 6, se localizaron genes de susceptibilidad como DR2, DR3, TNF α y deficiencia de C2, C4. Algunos estudios mostraron una asociación positiva con HLA-B8 y LES¹¹, otros más recientes con HLA-DRB1*0301¹², y con HLA-DRB1*1501¹³⁻¹⁴.

Posteriormente se inició el estudio de otros genes en la patogénesis de la enfermedad y alelos de genes asociados con la inmunidad, como polimorfismos de citoquinas (IL-10, IL-6, IL-4) deficiencias del complemento (C1q-CR1), y alteración de los receptores TNFR2, Fc γ RIIIa, Fc γ RIIIb, TCR ζ .

Se ha considerado entonces, que el LES es una enfermedad poligénica compleja, con contribución de genes tanto del complejo mayor de histocompatibilidad como de otros por fuera de éste, se estima que más de cien genes pueden estar comprometidos en la susceptibilidad a la enfermedad¹⁵. Alteraciones en la expresión de estos genes pueden participar en diferentes vías fisiopatológicas de la enfermedad, se plantean tres hipótesis básicas: 1) paradigma Th1 y Th2, de acuerdo al tipo de respuesta estimulada: humoral o celular; 2) defectos en la tolerancia de los pacientes con LES; y 3) hiperactividad de células B e inmunidad celular alterada. En cada una de ellas, múltiples estudios muestran la participación de diferentes citoquinas.

Paradigma de Th1/Th2 en lupus eritematoso sistémico

En 1986, Mossman *et al.* mostraron que los linfocitos T CD4+, podían ser clasificados de acuerdo al patrón de producción de citoquinas; clones que producían IL-2 e IFN γ fueron designados como

linfocitos ayudadores tipo 1 [T helper 1 (Th1)], y aquellos que producían IL-4, IL-5, fueron designados como linfocitos ayudadores tipo 2 [T helper 2 (Th2)]¹⁶. El patrón de diferenciación celular está determinado por estímulos antigénicos y no antígenos específicos presentes en las fases iniciales de la inmunidad¹⁷. Otras citoquinas descubiertas posteriormente se continuaron clasificando como Th1 o Th2, de acuerdo con sus funciones efectoras, así IL-12 se clasificó dentro del primer grupo e IL-6, IL-9, IL-10, e IL-13 se clasificaron dentro del segundo. Sin embargo, algunas citoquinas importantes en la polarización hacia los brazos de la inmunidad no son producidas por células T; es el caso de IL-12, producida por macrófagos y que participa en la vía proinflamatoria, e IL-10, producida por monocitos que participan en la respuesta Th2, anti-inflamatoria. De acuerdo con lo anterior, se ha considerado clasificarlas teniendo en cuenta su actividad biológica y no la célula de origen, ésta es: Th1-like: IL-12, IL-2, IFN γ , TNF α , y Th2 like: IL-10, IL-4, IL-5, IL-6, IL-13. Quedarían IL-1 y TGF β , que participan en fenómenos inflamatorios y reparativos, y no se ajustan a las características de ninguno de los dos grupos².

En LES se ha planteado un desbalance entre las citoquinas Th1-Th2, con un predominio en esta entidad de Th2. Sin embargo, no se puede considerar que el LES es simplemente una alteración en la producción de citoquinas, ya que en modelos murinos se ha documentado que al inicio de la enfermedad predominan la citoquinas Th1, mientras que las Th2 predominan en las fases tardías de la misma¹⁸. Otros estudios plantean que la presencia de unos péptidos de las histonas pueden estimular los linfocitos T para producir citoquinas Th1, mientras otros pueden estimular la respuesta hacia Th2¹⁹. En pacientes con LES la presencia de niveles elevados de IL-4, IL-6, e IL-10, se ha considerado como un desbalance hacia Th2. La presencia de hipergammaglobulinemia e hiperactividad de células B soporta esta hipótesis, sin embargo, la principal fuente de IL-6 e IL-10 en los pacientes con LES son los monocitos, no los linfocitos Th2.

Por otra parte, observaciones sobre el papel de IL-4 en modelos murinos arrojan resultados contradictorios. Mientras que el tratamiento de ratones

MRL-lpr/lpr con anticuerpos anti-IL4 disminuía las manifestaciones de la enfermedad y la mortalidad²⁰, un subgrupo de ratones transgénicos que sobreexpresan IL-4 se encontraron menos manifestaciones de la enfermedad; esta respuesta estaba relacionada con el “background” genético²¹. En cuanto a IL-10, los niveles elevados se correlacionaron con la actividad de la enfermedad y los niveles de anti-dsDNA²²⁻²³; los complejos inmunes en suero de pacientes con LES inducen producción de IL-10 a través del receptor FcγRIIa, permitiendo la hiperactividad de células B²⁴. Por citometría de flujo intracelular la relación Th1:Th2 fue elevada en pacientes que tenían nefritis lúpica, con alta proporción de nefropatía proliferativa difusa²⁵.

Activación persistente de células B y citoquinas

La activación persistente de las células B resulta en hipergammaglobulinemia policlonal y producción de auto anticuerpos. La interacción de CD40L con su receptor CD40 en las células B, induce la proliferación y formación de centros germinales, y dentro de éstos, permite la maduración de la afinidad de las inmunoglobulinas, el cambio de isotipo, mutación somática y expansión clonal de células B específicas. El papel potencial de CD40/CD40L en lupus se sustenta en experimentos de modelos animales, a los cuales al administrarles anticuerpos contra CD40L, manifiestan un retraso de la enfermedad y una disminución en la progresión de nefritis lúpica²⁶⁻²⁷.

Otra vía estudiada se relaciona con el factor activador de células B (BAFF), el cual es regulado positivamente por IFNγ e IL-10²⁸, y es un mediador crucial en la supervivencia de las células B, tanto maduras como inmaduras. De ahí que una sobreexpresión de BAFF podría producir hiperplasia de células B y auto inmunidad, similar a la que ocurre en lupus con anticuerpos anti DNA y depósito renal de inmunocomplejos²⁹.

Por último, se proponen como explicación para la activación persistente de células B los elevados niveles de IL-6, en los pacientes con LES, posiblemente asociados a polimorfismos en el gen de esta citoquina.

Citoquinas y defectos en la tolerancia en LES

Varios estudios han implicado al IFNγ en la patogénesis del LES. Niveles elevados de esta citoquina al inicio de la enfermedad pueden aumentar la expresión de moléculas de histocompatibilidad clase II, alterando la tolerancia a los auto antígenos². Por otra parte, IL-18, un nuevo miembro de Th1, se encuentra elevado en pacientes con LES e induce la producción de IFNγ, actuando de manera sinérgica con IL-1; estos niveles se han correlacionado directamente con actividad de la enfermedad³⁰. La importancia de IFNγ en la cepa de ratones (NZB x NZW) F1 sugiere una aceleración de la enfermedad renal luego de la administración de IFNγ, mientras que ratones neutralizados con anticuerpos anti-interferón gamma, en estados iniciales de la enfermedad, presentaron un retardo en la presentación de los síntomas y la progresión de la enfermedad³¹.

Otra hipótesis sobre la participación de las citoquinas está relacionada con el papel de los reactantes de fase aguda en la tolerancia, ya que éstos últimos podrían promover la remoción de los autoantígenos. Las citoquinas pro inflamatorias, IL-6, TNFα, IL-1, inducen la liberación de reactantes de fase aguda por parte del hígado, proteína C reactiva y proteína amiloide sérica, cuya unión con el RNAm de los nucleosomas y el DNA, respectivamente, determina la pérdida de inmunogenicidad de estos antígenos. En LES, los pacientes, a pesar de tener niveles elevados de citoquinas pro inflamatorias, tienen niveles relativamente bajos de proteína C reactiva, lo que no permitiría la unión a todo el RNAm, quedando fragmentos inmunogénicos, contra los que se generarían anticuerpos que finalmente pueden tener reacción cruzada con el DNA³².

Citoquinas implicadas en la patogénesis de LES

Factor de necrosis tumoral alfa (TNFα)

Dentro de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase III están los *loci* que codifican para el TNFα, TNFβ y linfotoxina b, implicados en la susceptibilidad a LES. En la región

promotora del gen TNF α se han descrito varios polimorfismos³³, el más asociado a LES, ya sea de manera independiente o como parte de un haplotipo HLA1, B8 DRB1*0301- DQ2²⁸ es -308 A TNF; este alelo confiere una mayor actividad transcripcional que el alelo -308G³⁴. En un estudio colombiano, realizado en la ciudad de Medellín, se encontró una asociación positiva entre la presencia del alelo TNF2 y susceptibilidad a LES (OR 2.4), artritis reumatoide (OR 1.6) y síndrome de Sjögren (OR 2.8)³⁵. Otros estudios en poblaciones diferentes no han corroborado estos hallazgos³⁶.

En modelos murinos susceptibles a LES, (NZB x NZW) F1, la administración de TNF α temprana tuvo efectos benéficos sobre el inicio de la nefritis lúpica; esto sugiere que TNF α puede modular la respuesta inmune³⁷. Ratones *Knockout* para TNF α presentan nefritis lúpica fatal, en una prole no susceptible (cruce entre ratones NBZ y B6/129)³⁸. Se requieren estudios adicionales para aclarar el papel de los polimorfismos de TNF α en LES.

Interleucina 6

La IL-6 es una citoquina pro inflamatoria, importante factor de crecimiento y diferenciación para células B, e inductor de la producción de IgG. Existen evidencias de que la IL-6 mantiene la hiperreactividad de las células B en los pacientes con LES. Al evaluar niveles de IL-6 en pacientes con LES, se ha encontrado elevación de éstos cuando el paciente presenta actividad de la enfermedad, comparado con los períodos de inactividad de la misma³⁹.

Polimorfismos en el extremo 3' y alelos de mini satélites ricos en AT en el gen de la IL-6, han sido asociados con susceptibilidad a LES en pacientes caucásicos y afroamericanos, ya que éstos puede aumentar la estabilidad del mRNA, y así contribuir con los elevados niveles de IL-6 en lupus⁴⁰.

La presencia de un polimorfismo en la región promotora -174 (G/C), se ha asociado con niveles aumentados de IL-6. Sin embargo, en un estudio de 211 pacientes alemanes con LES, Schotte *et al.*⁴¹ no encontraron diferencias en la presencia del alelo G con respecto a la población general; llama la atención que este alelo si se asoció con lesiones discoides cutáneas y con anticuerpos anti-histonas.

Interleucina 10

Es una citoquina del grupo Th2, que regula negativamente la presentación de antígenos y la depuración de complejos inmunes. IL-10 juega un papel importante en la patogénesis del lupus. Diferentes estudios han demostrado su participación: a) el aumento de IL-10 promueve la hiperactividad de células B y la producción de auto-anticuerpos⁴², b) la frecuencia de células secretoras de IL-10 en sangre periférica está aumentada en pacientes con LES⁴³, y c) estudios en pacientes y familiares sugieren una influencia genética en la producción de IL-10⁴⁴. El mecanismo molecular que causa el aumento de IL-10 en estos pacientes ha sido motivo de gran interés, así los niveles aumentados de IL-10 se han correlacionado con haplotipos específicos que contienen dos marcadores microsátélites o tres polimorfismos de nucleótidos únicos dentro del promotor⁴⁵. Mehrian *et al.*⁷ también reportaron el efecto sinérgico entre IL-10 y genotipos bcl-2, para susceptibilidad de LES. Recientemente, polimorfismos nuevos han sido identificados en la región distal del promotor, entre -1,3 Kb y -4,0 Kb del sitio de inicio de la transcripción, los cuales podrían relacionarse con la producción de IL-10⁴⁶.

Estudios en gemelos sugieren que aproximadamente 75% de la variación en la producción de IL-10 está determinada genéticamente. En familias donde por lo menos un miembro presenta la enfermedad se ha documentado la no ocurrencia de niveles elevados de IL-10; un incremento similar se da cuando sólo es un miembro de la familia el afectado⁴³. Lazarus *et al.*⁴⁷ encontraron que los haplotipos IL-10 -1082G, IL-10-819C, e IL-10 -592C, estaban asociados con autoanticuerpos anti-Ro y compromiso renal en pacientes de raza blanca con LES. En pacientes chinos se encontró asociación con enfermedad renal pero no con anti-Ro⁴⁸. Gibson *et al.* encontraron un polimorfismo de nucleótido único en la región promotora que se asocia con susceptibilidad a LES, en pacientes afroamericanos⁴⁵.

Interferón gamma

Es una glicoproteína de 20-25 KD, producida y secretada por las células T y NK en respuesta a una variedad de estímulos; su presencia durante la respuesta inmune favorece la expansión de células Th1.

Hay evidencia que $IFN\gamma$ tiene un papel importante en el daño tisular que ocurre en LES. En ratones susceptibles de desarrollar lupus, péptidos de las histonas del nucleosoma estimulan linfocitos T auto reactivos para producir $IFN\gamma$ ¹⁹. Jacob *et al.* mostraron que la administración de $IFN\gamma$ acelera el desarrollo de nefritis lúpica³¹, y en humanos Graninger *et al.* y Machold *et al.*⁴⁹ mostraron que la administración de $IFN\gamma$ en un paciente con diagnóstico presuntivo de artritis reumatoide inducía aparición de LES⁴⁸⁻⁴⁹.

En cuanto a la producción de $IFN\gamma$, un grupo reportó aumento en los niveles con la actividad de la enfermedad⁵⁰, y correlación con un índice de actividad de la enfermedad, SLAM⁵¹; mientras otro no encontró relación con la actividad de la enfermedad, pero sí con los niveles de $TNF\alpha$ e $IL-6$ ⁵².

Los niveles de $IFN\gamma$ pueden cambiar de acuerdo al estado de la enfermedad, siendo altos al inicio, lo cual favorecería la pérdida de la tolerancia, y bajos al final, lo cual permitiría el aumento de las citoquinas Th2 y aumentar la activación de las células B. Una forma de demostrar esta conexión sería demostrando la relación entre los alelos que codifican $IFN\gamma$ o su receptor, y su relación con el desarrollo de la enfermedad.

Recientemente se han identificado varios polimorfismos para el gen de $IFN\gamma$: a) en el Intrón 1 posición +874 A/T: las personas homocigotos para T se consideran altos productores; y b) el número de repeticiones de CA en el primer Intrón del gen: a mayor número de repeticiones más producción de $IFN\gamma$ ⁵³.

TGF Beta

Los $TGF\beta$ s son una familia de citoquinas multifuncionales que actúan en la reparación tisular, inflamación, e inmunoregulación. Asociado a estos efectos hay evidencia de que $TGF\beta$ también coestimula células T naive activadas, para ser células reguladores en vez de células efectoras Th1 o Th2; esta función jugaría un papel importante en la patogenia de LES⁵⁴.

En pacientes con LES se han descrito bajos niveles de $TGF\beta$, tanto constitutivo como inducible, posiblemente secundario a altos niveles de $IL-10$, ya que ésta última suprime la producción de $TGF\beta$ en

las células NK. La presencia de niveles bajos conlleva a una inadecuada supresión de la producción de IgG, lo que explicaría en parte la alta producción de IgG en los pacientes con LES⁵⁵.

Se han descrito polimorfismos en el gen $TGF\beta$, en la posición 10 T/C y 25 C/G, que alteran la expresión de esta citoquina. Los pacientes homocigotos para C y G se consideran altos productores con respecto a los homocigotos para T y C, espectros intermedios se encuentran dependiendo de las variaciones en los alelos. Otras variaciones se han reportado en nt915 (Arg25Pro), con una expresión elevada de $TGF\beta$ ⁵⁴.

El lupus es una patología con una influencia genética importante, que se extiende más allá de las leyes mendelianas, y del complejo mayor de histocompatibilidad, y donde la combinación de polimorfismos de citoquinas juegan un papel fundamental, favoreciendo la respuesta inflamatoria multisistémica característica de la enfermedad; por estos hallazgos parte de la investigación básica en lupus se centra actualmente en este tópico, de ahí la importancia de esta revisión. Quedan muchos interrogantes por resolver, por lo que seguirá siendo un campo atractivo para la investigación básica y en un futuro, esperemos no muy lejano, para intervenciones terapéuticas.

Referencias

1. Arend WP, Gabay C. Cytokines in the rheumatic diseases. *Rheum Dis Clin North Am* 2004; 30: 41-67.
2. Wallace DJ, Hann BH; Dubois. *Lupus Erythematosus*; 6a ed. Philadelphia: Lippincott Williams Wilkins; 2002.
3. Jonsson H, Nived O, Sturfelt G. Outcome in systemic lupus erythematosus: a prospective study of patients from a defined population. *Medicine (Baltimore)* 1989; 68:141-150.
4. Hochberg MC. Prevalence of systemic lupus erythematosus in England and Wales. *Ann Rheum Dis* 1981-2; 46 (9): 664-666.
5. Jacobson DL, Gange SJ, Rose NR et al. Epidemiology and estimated population burden of select autoimmune diseases in the United States. *Clin Immunol Immunopathol* 1997; 84: 223-243.
6. Uramoto KM, Michet CJ Jr, Thumboo J, sunkus J, O'Fallon WM, Gabriel SE. Trends in the incidence and mortality of systemic lupus erythematosus, 1950-1992. *Arthritis Rheum* 1998; 42(1): 46-50.
7. Mehrian R, Quismorio FP Jr, Strassmann G, Stimmler MM, Horwitz DA, Kitridou RC et al. Synergistic effect between $IL-10$ and $bcl-2$ genotypes in determining susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1998; 41(4): 596-602.

8. Bynoe MS, Grimaldi CM, Diamond B. Estrogen up-regulates Bcl-2 and blocks tolerance induction of naive B cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 2000; 97(4): 2703-2708.
9. Deapen D, Escalante A, Weinrib L et al. A revised estimate of twin concordance in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1992; 35(3): 311-318.
10. Gregersen PK. Discordance for autoimmunity in monozygotic twins. Are "identical" twins really identical? *Arthritis and Rheum* 1993; 36(9): 1185-1192.
11. Waters H, Konrad P, Walford RL. The distribution of HLA histocompatibility factors and genes in patients with systemic lupus erythematosus. *Tissue Antigens* 1971; 1(2): 68-73.
12. Skarsvag S, Hansen KE, Holst A, Moen T. Distribution of HLA class II alleles among Scandinavian patients with systemic lupus erythematosus (SLE): an increased risk of SLE among non (DRB1*03,DQA1*0501,DQB1*0201) class II homozygotes? *Tissue Antigens* 1992; 40(3): 128-133.
13. Drake CG, Rozzo SJ, Hirschfeld HF, Smarnworawong NP, Palmer E, Kutzin BL. Analysis of the New Zealand Black contribution to lupus-like renal disease. Multiple genes that operate in a threshold manner. *J Immunology* 1995; 154(5): 2441-2447.
14. Ibnou-Zekri N, Iwamoto M, Gershiwn ME, Izui S. Protection of murine lupus by the Ead transgene is MHC haplotype-dependent. *J Immunol* 2000; 164(1): 505-511.
15. Sullivan KE. Genetics of systemic lupus erythematosus: Clinical implications. *Rheum Dis Clin North Am* 2000; 26(2): 229-256.
16. Mosmann TR, Cherwinski H, Bond MW, Giedlin MA, Coffman RL. Two types of murine helper T cell clone. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *J Immunol* 1986; 136(7): 2348-2357.
17. Abbas Abul K, Lichman A. *Inmunología celular y molecular* 5ta Ed. Saunders. 2004.
18. Segal R, Bermas BL, Dayan M, Kalush F, Shearer GM, Mozes E. Kinetics of cytokine production in experimental systemic lupus erythematosus: involvement of T helper cell 1/T helper cell 2-type cytokines in disease. *J Immunol* 1997; 158(6): 3009-3016.
19. Lu L, Kaliyaperumal A, Boumpas DT, Datta SK. Major peptide autoepitopes for nucleosome-specific T cells of human lupus. *J Clin Invest* 1999; 104(3): 345-355.
20. Schorlemmer HU, Dickneite G, Kanzy EJ, Enssle KH. Modulation of the immunoglobulin dysregulation in GvH- and SLE- like diseases by the murine IL-4 receptor (IL-4R). *Inflamm Res*. 1995; 44suppl2: S194-196.
21. Erb KJ, Ruger B, Von Breven M, Ryffel B, Schimpl A, Rivett K. Constitutive expression of interleukin (IL)-4 in vivo causes autoimmune-type disorders in mice. *J Exp Med* 1997; 185(2): 329-339.
22. Park YB, Lee SK, Kim DS, Lee CH, Song CH. Elevated interleukin-10 levels correlated with disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol* 1998; 16(3): 283-288.
23. Grondal G, Gunnarsson I, Ronnelid J, Rogberg J, Klareskog L, Lundberg I. Cytokine production, serum levels and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Rheumatol*. 2000; 18(5): 565-570.
24. Ronnelid J, Tejde A, Mathsson L, Nilsson B, Ekdahl K. Immune complexes from SLE sera induce IL-10 production from normal peripheral blood mononuclear cells by an Fcγ RII dependent mechanism: implications for a possible vicious cycle maintaining B cell hyperactivity in SLE. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 37-42.
25. Akahoshi M, Nakashima H, Tanaka Y, et al. Th1/Th2 balance of peripheral T helper cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1644-1648.
26. Mohan C, Shi Y, Lamman JD, Datta SK. Interaction between CD40 and its ligand gp39 in the development of murine lupus nephritis. *J Immunol* 1995; 154(3): 1470-1480.
27. Kalled SL, Culter AH, Datta SK, Thomas Dw. Anti CD-40 ligand antibody treatment of SNF1 mice with established nephritis: preservation of kidney function. *J Immunol* 1998; 160(5): 2158-2165.
28. Nardelli B, Belvedere O, Roschke V et al. Synthesis and release of B- lymphocyte stimulator from myeloid cells. *Blood* 2001; 97: 198-204.
29. Mackay F, Browning JL. BAFF: a fundamental survival factor for B cells: *Nat Rev Immunol* 2002; 2(7): 465-475.
30. Amerio P, Frezzolini A, Abeni D, et al. Increased IL-18 in patients with systemic lupus erythematosus: relation with Th1, Th2, pro-inflammatory cytokines and disease activity. IL-18 is a marker of disease activity but does not correlate with pro-inflammatory cytokines. *Clin Exp Rheumatol* 2002; 20: 535-538.
31. Jacob CO, Van Der Meide PH, McDevitt HO. In vivo treatment of (NBZxNZW)F1 lupus-like nephritis with monoclonal antibody to gamma interferon. *J Exp Med* 1987; 166: 798-803.
32. Lacki JK, Leszczynski P, Kelemen J, Muller W, Mackiewicz SH. Cytokine concentration in serum of lupus erythematosus patients: the effect on acute phase response. *J Med* 1997; 28: 99-107.
33. Bidwell J, Keen L, Gallager G, et al. Citokine gene polymorphism in human disease: on line data base. *Genes immunity* 1999; (1)1: 3-19.
34. Wilson Ag, Symons JA, Mc Dowell TL, Mc Devitt HO, Duff GW. Effects of a polymorphism in the human tumor necrosis factor alpha promoter on transcriptional activation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1997; 94(7): 3195-3199.
35. Correa P, Gómez L, Cadena J, Anaya JM. Asociación diferencial del polimorfismo del TNFα con autoinmunidad y tuberculosis. *Resúmenes IX Congreso Colombiano de reumatología. Rev. Col. Reumatología* 2003; 10(2): 175.
36. Chen CY, Yen JH, Tsai WC, Wu CS, Chiang W, Tsai JJ et al. The TNF2 allele does not contribute towards susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Immunol Lett* 1997; 55: 1-3.
37. Jacob CO, Mc Devitt HO. Tumor necrosis factor-alpha In murine autoimmune "lupus" nephritis. *Nature* 1998; 331: 356-358.
38. Davas EM, Tsirogianni A, Kappou I, Karamitsos D, Economidou I, Dantis PC. Serum IL-6, TNFα, p55srTNFα, p75srTNFα levels and disease activity in systemic lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 1999; 18(1): 17-22.
39. Linker-Israeli M, Wallace DJ, Prehn J et al. Association of IL-6 gene alleles with systemic lupus erythematosus and with elevated IL-6 expression. *Genes Immunity* 1999; 1(1): 45-52.
40. Schotte H, Schülter B, Rust S, Assman G, Domschke W, Gaubitz M. Interleukin-6 promoter polymorphism (-174 G/C) in Caucasian German patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40(4): 393-400.

41. Llorente L, Zou W, Levy Y et al. Role of interleukin 10 in the B lymphocyte hyperactivity and autoantibody production of human systemic lupus erythematosus. *J Exp Med* 1995; 181(3): 839-844.
42. Hagiwara E, Gourley MF, Lee S, Klinman DK. Disease severity in patients with systemic lupus erythematosus correlates with an increased ratio of interleukin 10: interferon gamma secreting cells in the peripheral blood. *Arthritis Rheum* 1996; 39 (3): 379-385.
43. Llorente L, Richaud-Patin Y, Couderc J et al. Dysregulation of inteleukin-10 production in relatives of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1997; 40(8): 1429-1435.
44. Turner DM, Williams DM, Sankaran D, Lazarus M, Sinnott PS, Hutchinson IV. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *Eur J Immunogenet* 1997; 24(1): 1-8.
45. Gibson AW, Edberg JC, Wu J, Westendorp RG, Huizinga TW, Kimberly RP. Novel single nucleotide polymorphism in the distal IL-10 promoter affect IL-10 production and enhance the risk of systemic lupus erythematosus. *J Immunol* 2001; 166(6): 3915-3922.
46. Lazarus M, Hajeer, Turner D et al. Genetic variation in the interleukin 10 gene promoter and systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 2003; 24(12): 2314-2317.
47. Graninger WB, Hassfeld WB, Pesau BB, Machold KO, Zielinski CC, Smolen JS. Induction of systemic lupus erythematosus by interferon-gamma in a patient with rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1991; 18(10): 1621-1622.
48. Machold KP, Smolen JS. Interferon gamma induced exacerbation of systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol* 1990; 17(6): 831-832.
49. al-Janadi M, al-Balla S, al-Dalaan A, Raziuddin S. Cytokine profile in systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, and other rheumatic diseases. *J Clin Immunol* 1993; 13: 58-67.
50. Robak E, Sysa-Jedrzejewska A, Dzionkowska B, Torzecka D, Chojnowski, Robak T. Association of interferon-gamma, tumor necrosis alpha and interleukin 6 serum levels with systemic lupus erythematosus activity. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*; 46(6): 375-380.
51. Viillard JF, Pellegrin JL, Ranchin V, Schaefferbeke T, Dehais J, Longy-Boursier M et al. Th1 (IL-2, interferon-gamma) and Th2 (IL-10, IL-4) cytokine production by peripheral blood mononuclear cells (PBMC) from patients with systemic lupus erythematosus (SLE). *Clin Exp Immunol* 1999; 8: 189-195.
52. Lee JY, Goldman D, Pilirol M, Petri M, Sullivan KE. Interferon-gamma polymorphism in systemic lupus erythematosus. *Genes Immun* 2003; 2: 254-257.
53. Horwitz DA, Cousar JB. A relationship between impaired cellular immunity humoral suppression of lymphocyte function and severity of systemic lupus erythematosus. *Am J Med* 1975; 58(6): 829-835.
54. Award MR, El-Gamel A, Hasleton P, Turner DM, Sinnott P. Genotypic variation in Transforming growth factor-beta 1Gbb1: association with Transforming growth factor-beta 1 production, fibrotic lung disease, and graft fibrosis after lung transplantation. *Transplantation* 1998; 66(8): 1014-1020.
55. Dean GS, Tyrrell-Prices, Crawley E, Isenberg DA. Cytokines and systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2000; 59(4): 243-251.