

Autoanticuerpos anti-galectina-8 en pacientes con lupus eritematoso sistémico

Evelyn Pardo^a, Claudia Cárcamo, Loreto Massardo, Verónica Mezzano, Sergio Jacobelli, Alfonso González, Andrea Soza G^b.

Antibodies against galectin-8 in patients with systemic lupus erythematosus

Background: The family of lectins known as galectins (galectins 1-14) are involved in the regulation of the immune system and in oncogenesis. During a search for antigens recognized by antibodies produced by a patient with systemic lupus erythematosus (SLE) we found reactivity against galectin-8, for which autoantibodies have not been previously described. **Aim:** To determine the frequency of autoantibodies against galectin-8 in lupus patients compared with healthy controls. **Patients and Methods:** Galectin-8 was purified from a bacterial expression system and used in immunoblot assays as antigen to screen the sera of 55 SLE patients and matched controls. Disease activity was evaluated using the Mexican Modification of the Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (MEX-SLEDAI). **Results:** Reactivity against galectin-8 was detected in 30% of SLE patients, compared to 7% of controls ($p=0.003$). We could not detect any particular SLE manifestation associated to the presence of these autoantibodies. **Conclusions:** This is the first description of autoantibodies against galectin-8. Its higher frequency in patients with SLE suggests a pathogenic role. Further studies are needed to determine their clinical relevance (Rev Méd Chile 2006; 134: 159-66). (**Key words:** Autoantibodies; Galectin 8; Lupus erythematosus, systemic)

Trabajo financiado por el proyecto Fondecyt #1020592.

Departamento de Inmunología Clínica y Reumatología, Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

^aEstudiante PhD

^bPhD

Correspondencia a: Dra. Andrea Soza Gajardo. Marcoleta 367, Santiago, Chile. Fax: 6324937. Fonos: 6397750-6862780. E-mail: amsoza@med.puc.cl

El lupus eritematoso sistémico (LES) es el prototipo de enfermedad autoinmune multisistémica crónica que evoluciona con períodos de actividad e inactividad, correlacionados con la presencia y título de ciertos autoanticuerpos¹, que parecen ser determinantes en su patogenia. Los anticuerpos anti-ADN se asocian a nefritis lúpica² y los anticuerpos antifosfolípidos se asocian a complicaciones tales como el daño focal cerebral secundario a vasculopatías y trombosis³. La mayor parte de los autoanticuerpos descritos en el LES están dirigidos contra antígenos intracelulares inaccesibles a anticuerpos. Aunque se piensa que los autoanticuerpos pueden entrar a las células e interferir con antígenos intracelulares, no existe un mecanismo plausible que explique su paso a través de la barrera de la membrana plasmática^{4,5}. Por lo tanto, en la mayoría de los casos es difícil visualizar mecanismos patogénicos para antígenos intracelulares¹. Es posible que los autoanticuerpos originalmente identificados como dirigidos contra antígenos intracelulares, también reconozcan epítomos compartidos por proteínas de la superficie celular o asociadas a algún elemento de la superficie celular. También podrían existir autoanticuerpos dirigidos contra proteínas citosólicas que fueran secretadas por mecanismos no convencionales, exponiéndose así a los autoanticuerpos.

Con el fin de buscar nuevos antígenos reconocidos por autoanticuerpos de pacientes con LES, rastreamos un banco de muestras de expresión de cADN de cerebro de rata y encontramos reactividad anti-galectina-8 en el suero de un paciente. Las galectinas constituyen una familia de lectinas de mamífero que comparten un dominio de unión a β -galactósido y se las ha involucrado recientemente en el control del sistema inmune y en oncogénesis^{6,7}. Estas lectinas se encuentran en el compartimiento intracelular, pero también se consideran proteínas extracelulares, debido a que se secretan por una vía no convencional^{6,7}. Una vez secretadas tienen la capacidad de unirse a glicoproteínas de la superficie celular y de la matriz extracelular^{8,9}, participando en procesos de adhesión, migración, quimiotaxis, proliferación y apoptosis^{6,7,10-12}. En el sistema inmune, las galectinas parecen tener funciones tanto pro- como anti- inflamato-

rias, dependiendo del tipo de galectina y del contexto celular⁶. Es interesante que en diversas enfermedades autoinmunes se hayan descrito autoanticuerpos contra ciertas galectinas⁶. Hasta ahora se han encontrado autoanticuerpos contra galectina-1 en esclerosis múltiple¹³, galectina-3 en enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, cirrosis biliar primaria, hepatitis autoinmune¹⁴ y LES¹⁵. La función de estos autoanticuerpos es desconocida. Sin embargo, la evidencia disponible hace pensar que podrían tener implicaciones clínicas. Por ejemplo, el 70% de los pacientes con enfermedad de Crohn desarrollan anticuerpos anti-galectina-3 y el título de estos anticuerpos se correlaciona negativamente con la actividad de la enfermedad¹⁴. Los autoanticuerpos anti-galectina-3 se han asociado a compromiso renal en pacientes con LES¹⁵. Todo esto indica que las galectinas pueden constituir autoantígenos y podrían contribuir, eventualmente, a la patogenia de las enfermedades autoinmunes. Por lo tanto, es importante determinar el rango de galectinas contra las que el sistema inmune podría producir autoanticuerpos.

El propósito de este trabajo es demostrar si los anticuerpos dirigidos contra galectina-8 tienen una frecuencia diferente en pacientes con LES, comparado con individuos sanos.

PACIENTES Y MÉTODOS

Pacientes. Se estudiaron 55 enfermos, 52 mujeres y 3 hombres, con LES diagnosticado de acuerdo con los criterios de clasificación diagnóstica del *American College of Rheumatology*¹⁶. La actividad de la enfermedad se estimó por MEX-SLEDAI¹⁷. La mediana de edad fue 36 años (intervalo 18-72 años), de duración de la enfermedad, 37 meses (intervalo 0,23-394 meses) y de MEX-SLEDAI, 2 (intervalo 0-14). Como grupo control, se utilizaron 55 sujetos sanos igualados por sexo y edad.

El análisis estadístico se realizó mediante los métodos de chi-cuadrado o de ANOVA, según correspondía, utilizando el programa EPI INFO versión 6.0.

Esta investigación fue aprobada por el Comité de Ética de la Facultad de Medicina de la Pontificia Universidad Católica de Chile y los enfermos otorgaron consentimiento informado.

Clonamiento de la galectina-8 humana en un sistema de expresión bacteriana de proteínas quiméricas unidas a la enzima glutatión-S-transferasa (GST). La región codificante del cADN de Gal-8 fue amplificado mediante PCR con los partidores sentido 5'-ACGCGTCGACATGTTGTCCTTAAACAAC-3' y antisentido 5'-ATAGTTTAGCGGCCCTACCAGCTCCTTACTTC-3', utilizando como templado un banco de muestras de cADN de cerebro humano. El producto de PCR se introdujo en el vector de expresión pGEX-4T-3 entre los sitios de restricción SalI y NotI y se transformaron bacterias TOP 10 mediante procedimientos establecidos.

Purificación de galectina-8 mediante cromatografía de afinidad y corte proteolítico. Las bacterias se cultivaron hasta una OD₆₀₀ 0,8 nm y luego fueron incubadas por 4 h con 0,2 mM isopropil-1-tiobeta-D-galactopiranosido (IPTG), para inducir la expresión de GST-Gal-8. Para purificar galectina-8, primero aislamos la proteína de fusión GST-Gal-8 desde un extracto de estas bacterias utilizando cromatografía de afinidad en columna de glutatión-Sepharose 4B, según las recomendaciones del productor. La proteína de fusión contiene un sitio de reconocimiento por trombina que permite remover la galectina-8 dejando unida la GST a la columna. Un tratamiento de 5 h a temperatura ambiente, con 10 unidades de trombina por mg de proteína unida fue suficiente para obtener alrededor de 0,5 µg de galectina-8 purificada a partir de 200 ml de bacterias. Una vez aislada, la galectina-8 se mantuvo a 4°C en PBS, pH= 6,4, suplementado con 2 mM EDTA y 4 mM β-mercaptoetanol.

Ensayo de detección de autoanticuerpos contra galectina-8 por inmunoblot. El ensayo de detección de autoanticuerpos se montó probando distintas cantidades de galectina-8 y un suero con el cual observamos intensa reactividad anti-galectina-8. Para liberarse de la GST residual sometimos la galectina-8 (0,5 µg) a electroforesis en geles de poliacrilamida-SDS en condiciones reductoras. La proteína fue luego electro-transferida a nitrocelulosa y la reactividad anti-galectina-8 se detectó mediante inmunoblot y quimioluminiscencia

(ECL), siguiendo métodos establecidos y de uso corriente en nuestro laboratorio¹⁸.

RESULTADOS

La detección de reactividad contra galectina-8 en un paciente con LES nos llevó a montar un procedimiento basado en inmunoblot para determinar la frecuencia de estos autoanticuerpos en enfermos con LES e individuos sanos. Subclonamos el cADN de galectina-8 humana en un vector de expresión bacteriano y purificamos la proteína mediante cromatografía de afinidad y corte proteolítico con trombina (Figura 1). Con esta proteína purificada, realizamos un rastreo preliminar y detectamos un suero que dio intensa reactividad anti-galectina-8 en inmunoblot. Este suero sirvió para montar un ensayo de detección aplicable a los demás sueros. Variando la concentración de galectina-8 y las diluciones del suero determinamos un rango de detección lineal (Figura 2), con el cual decidimos utilizar 0,5 µg de galectina-8 y una dilución de 1/500 para cada suero.

Con el ensayo de inmunoblot encontramos una diferencia significativa en la reactividad anti-galectina-8 entre los sueros de pacientes con LES (n=55) y de individuos sanos (n=55), pareados por sexo y edad. Los pacientes con LES mostraron (16/55) 30% de reactividad anti-galectina-8 en comparación con un (4/55) 7% de los sujetos sanos (p=0,003). En este estudio de sección cruzada, no observamos una relación entre la presencia de autoanticuerpos anti-galectina-8 y las características clínicas de los pacientes, tomando en cuenta los criterios de lupus y el índice de actividad de la enfermedad.

DISCUSIÓN

En este trabajo identificamos, por primera vez, a la galectina-8 como un autoantígeno, contra el cual desarrollan autoanticuerpos 30% de los pacientes con LES y 7% de los controles. El análisis de las características clínicas de los pacientes registradas en el momento en que se tomó la muestra de suero, no reveló una relación aparente entre la

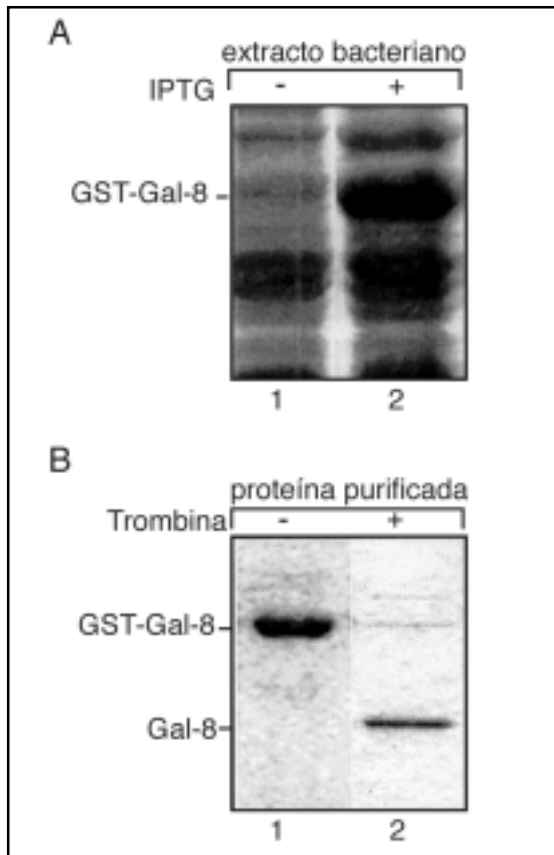


FIGURA 1. Producción de GST-galectina-8 en bacteria y purificación de la galectina-8. Las bacterias transformadas con el vector de expresión que contiene el cADN para galectina-8 fueron cultivadas a 37°C en un volumen de 200 ml de LB (Luria Bertoni) hasta alcanzar una OD₆₀₀ de 0,8 nm y luego fueron inducidas con 0,2 mM IPTG por 4 h. A) Las proteínas de 50 µl de extractos bacterianos antes (carril 1) y después (carril 2) de la inducción con IPTG se resolvieron por electroforesis en un gel SDS-PAGE al 10% teñido con azul de Coomassie. Por efecto de la inducción se observa una intensa banda correspondiente a la proteína recombinante GST-galectina-8; B) Un extracto de las bacterias inducidas se sometió a cromatografía de afinidad en una columna de glutatión-Sepharosa que une fuertemente al GST de la proteína recombinante. Luego, la proteína GST-galectina-8 unida a la columna se incubó con 10 U/mg de trombina para liberar la galectina-8 mientras el GST queda unido a la columna. La tinción de azul de Coomassie de un gel SDS-PAGE al 10% muestra la GST-galectina-8 unida a la columna (carril 1) y la galectina-8 liberada por proteólisis (carril 2).

presencia de anti-galectina-8 y manifestaciones particulares de la enfermedad. Tampoco se observó una relación aparente con la actividad del lupus o con la duración de la enfermedad o la edad del paciente.

Varias evidencias vinculan la familia de las galectinas al sistema inmune⁶. Entre éstas, se incluye la apoptosis inducida por galectina-1 sobre timocitos y linfocitos T activos^{12,19,20}, así como también los autoanticuerpos descritos contra ciertas galectinas en diversas enfermedades autoinmunes^{13-15,21}. Las galectinas también se han involucrado en procesos oncogénicos⁷, donde, además, se han descrito autoanticuerpos contra alguna de ellas. Por ejemplo, se han encontrado

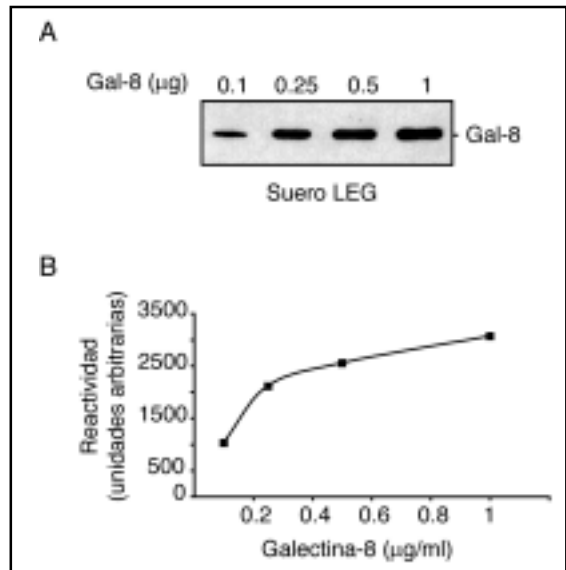


FIGURA 2. Detección de la galectina-8 por inmunoblot con el suero de un paciente con LES. A) Cantidades crecientes (0,1 µg - 1 µg/carril) de galectina-8 libre de GST fueron sometidas a electroforesis en un gel SDS-PAGE, transferidas a nitrocelulosa y analizadas en inmunoblot con el suero de un paciente que previamente había mostrado reactividad anti-galectina-8. El suero se utilizó en una dilución 1:500; B) Una imagen digital del inmunoblot se utilizó para cuantificar la intensidad relativa de las bandas y se graficó contra la cantidad de galectina-8 en cada carril. Dentro del rango lineal, se consideró la cantidad de 0,5 µg de proteína como óptima para analizar la reactividad anti-galectina-8 de 55 sueros de pacientes con LES y de individuos sanos.

autoanticuerpos anti-galectina-9 en el linfoma de Hodgkin²² y anti-galectina-3 en un individuo aparentemente sano en el cual, posteriormente, se detectó adenocarcinoma de colon²³. Sin embargo, no se ha aclarado el significado de los autoanticuerpos anti-galectina en patologías del sistema inmune o en cáncer.

Los estudios sobre galectina-8 se han enfocado más bien hacia el cáncer^{7,24,25}. La galectina-8 se describió como una proteína sobreexpresada en cáncer de próstata, aumentando su secreción y distribución en la superficie celular en células tumorales malignas, a diferencia de la hipertrofia prostática benigna²⁶. También se ha encontrado sobreexpresión de galectina-8 en alrededor de 50 tipos distintos de tumores²⁷. Las funciones de la galectina-8 se han relacionado, principalmente, con su capacidad de unir integrinas tipo $\beta 1$ ²⁸, que son receptores para proteínas de la matriz extracelular, tales como fibronectina, colágeno y laminina²⁹. En células adherentes, tales como células CHO y células HeLa, la galectina-8 induce adhesión y gatilla sistemas de señalización intracelular que llevan a remodelación del citoesqueleto y estimulación de la migración celular^{28,30}. Galectina-8 es capaz de inhibir la proliferación celular e inducir apoptosis³¹. Las integrinas a las que se une galectina-8 juegan un papel central no sólo en cáncer, sino también en el sistema inmune, mediando procesos de adhesión y migración celular^{29,32,33}. Experimentos en monocitos sugieren que la galectina-8 podría regular la función de neutrófilos³⁴. Sin embargo, hasta ahora, no existe mayor información sobre la función de galectina-8 en el sistema inmune y tampoco se han descrito autoanticuerpos contra ella.

Nuestro hallazgo de autoanticuerpos contra galectina-8 hace pensar que esta galectina podría participar en funciones inmunológicas, quedando por definirse la relevancia clínica de estos anticuerpos, tal como ocurre para la mayoría de los autoanticuerpos conocidos en LES. Una característica de los pacientes con LES, es la producción de gran variedad de autoanticuerpos contra distintos componentes celulares que aparecen aun antes que se manifieste la enfermedad³⁵. Del gran número de autoanticuerpos conocidos en esta enfermedad, sólo unos pocos presentan una manifestación clínica característica o una asociación

con algún fenotipo clínico particular. Entre los que tienen potencial patogénico o utilidad clínica, se encuentran los anticuerpos anti-dsADN, que se asocian con nefritis lúpica, los anti-Ro asociados con lupus cutáneo subagudo, fotosensibilidad, lupus neonatal, enfermedad pulmonar intersticial y ausencia de nefritis lúpica y los anti-RNP, asociados con Raynaud, miositis y ausencia de nefritis lúpica³⁶. En otros casos, la asociación de autoanticuerpos con manifestaciones clínicas puede mantenerse como una controversia por largo tiempo. Por ejemplo, el anticuerpo antiproteína P ribosomal, descrito en 1985, no demostró inicialmente una clara asociación con alguna manifestación clínica determinada. Posteriormente, algunos autores han asociado estos anticuerpos con psicosis, nefritis y hepatitis lúpica, mientras otros autores no han encontrado estas asociaciones^{37,38}.

En la búsqueda de asociaciones clínicas con autoanticuerpos particulares se deben considerar diversos factores. Primero, un periodo de observación suficientemente largo, de al menos 5 años desde el inicio del primer síntoma, puede ser necesario para que la manifestación se haga visible. El diagnóstico del LES se hace por reunión de criterios clínicos y de laboratorio que generalmente suelen ir apareciendo durante los primeros 5 años de enfermedad. Sin embargo, como se trata de una enfermedad crónica que cursa con periodos de actividad y remisión, donde los brotes no son idénticos, la aparición de ciertas manifestaciones puede ocurrir en plazos muchos más largos. Por otro lado, el LES no es una enfermedad prevalente en la población y presenta numerosos subgrupos clínicos. Esto hace difícil encontrar un número elevado de pacientes con una manifestación poco común. Si la manifestación clínica de un cierto autoanticuerpo fuera poco frecuente, su asociación con la clínica requeriría un esfuerzo multicéntrico. Finalmente, otro aspecto que se debe considerar es la etnia. El lupus es menos grave en caucásicos de Estados Unidos de Norteamérica (EE.UU) y Europa en comparación con afroamericanos e hispanicos en EE.UU y con mestizos latinoamericanos³⁹. Además, la respuesta a ciclofosfamida de la nefritis lúpica depende, entre otros factores, del grupo étnico^{40,41}. En este sentido, es interesante destacar que el anticuerpo anti-proteína P ribosomal es más frecuente en

orientales (24-46%) que en otras regiones del mundo (6-25%)^{42,43}. En pacientes chilenos con lupus hemos descrito que este autoanticuerpo se encuentra en 15%⁴². Estas consideraciones muestran la dificultad de encontrar en un primer estudio asociaciones clínicas relevantes para un autoanticuerpo particular.

En conclusión, hemos descrito un nuevo autoanticuerpo en el LES. Su relevancia clínica y función en la patogenia de esta enfermedad podría revelarse en estudios sobre un número

mayor de enfermos o en un estudio prospectivo de los pacientes que presentaron reactividad anti-galectina-8. También es importante el análisis de otras enfermedades autoinmunes y procesos inflamatorios agudos no asociados a la autoinmunidad. Otro aspecto que queda por dilucidar es si estos autoanticuerpos interfieren con posibles funciones de la galectina-8, tanto en el sistema inmune como en tumorigénesis. Si fueran bloqueadores podrían tener aplicaciones terapéuticas.

REFERENCIAS

1. HAHN BH. 1996. An overview of the pathogenesis of systemic lupus erythematosus. In *Dubois' lupus erythematosus*. D.J. Wallace and B.H. Hahn, editors. Lea&Febiger, Philadelphia. 67-70.
2. LEFKOWITH JB, KIEHL M, RUBENSTEIN J, DIVALERIO R, BERNSTEIN K, KAHL L ET AL. Heterogeneity and clinical significance of glomerular-binding antibodies in systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest* 1996; 98: 1373-80.
3. DENBURG SD, DENBURG JA. Cognitive dysfunction and antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus. *Lupus* 2003; 12: 883-90.
4. REICHLIN M. Cellular dysfunction induced by penetration of autoantibodies into living cells: cellular damage and dysfunction mediated by antibodies to dsDNA and ribosomal P proteins. *J Autoimmun* 1998; 11: 557-61.
5. RUIZ-ARGUELLES A, RIVADENEYRA-ESPIÑOZA L, ALARCÓN-SEGOVIA D. Antibody penetration into living cells: pathogenic, preventive and immuno-therapeutic implications. *Curr Pharm Des* 2003; 9: 1881-7.
6. RABINOVICH GA, TOSCANO MA, ILARREGUI JM, RUBINSTEIN N. Shedding light on the immunomodulatory properties of galectins: novel regulators of innate and adaptive immune responses. *Glycoconj J* 2004; 19: 565-73.
7. LIU FT, RABINOVICH GA. Galectins as modulators of tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 29-41.
8. LEVI G, TEICHBERG VI. Selective interactions of electrolectins from eel electric organ and mouse thymus with mouse immature thymocytes. *Immunol Lett* 1983; 7: 35-9.
9. RABINOVICH GA, ARIEL A, HERSHKOVIZ R, HIRABAYASHI J, KASAI KI, LIDER O. Specific inhibition of T-cell adhesion to extracellular matrix and proinflammatory cytokine secretion by human recombinant galectin-1. *Immunology* 1999; 97: 100-6.
10. PERILLO NL, MARCUS ME, BAUM LG. Galectins: versatile modulators of cell adhesion, cell proliferation, and cell death. *J Mol Med* 1998; 76: 402-12.
11. PERILLO NL, UITTENBOGAART CH, NGUYEN JT, BAUM LG. Galectin-1, an endogenous lectin produced by thymic epithelial cells, induces apoptosis of human thymocytes. *J Exp Med* 1997; 185: 1851-8.
12. PERILLO NL, PACE KE, SEILHAMER JJ, BAUM LG. Apoptosis of T cells mediated by galectin-1. *Nature* 1995; 378: 736-9.
13. LUTOMSKI D, JOUBERT-CARON R, LEFEBURE C, SALAMA J, BELIN C, BLADIER D ET AL. Anti-galectin-1 autoantibodies in serum of patients with neurological diseases. *Clin Chim Acta* 1997; 262: 131-8.
14. JENSEN-JAROLIM E, NEUMANN C, OBERHUBER G, GSCHIEDLINGER R, NEUCHRIST C, REINISCH W ET AL. Anti-Galectin-3 IgG autoantibodies in patients with Crohn's disease characterized by means of phage display peptide libraries. *J Clin Immunol* 2001; 21: 348-56.
15. LIM Y, LEE DY, LEE S, PARK SY, KIM J, CHO B. Identification of autoantibodies associated with systemic lupus erythematosus. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 295: 119-24.
16. TAN EM, COHEN AS, FRIES JF, MASI AT, MCSHANE DJ, ROTHFIELD NF ET AL. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25: 1271-7.
17. GUZMÁN J, CARDIEL MH, ARCE-SALINAS A, SÁNCHEZ-GUERRERO J, ALARCÓN-SEGOVIA D. Measurement of disease activity in systemic lupus erythematosus. Prospective validation of 3 clinical indices. *J Rheumatol* 1992; 19: 1551-8.

18. SALAZAR G, GONZÁLEZ A. Novel mechanism for regulation of epidermal growth factor receptor endocytosis revealed by protein kinase A inhibition. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 1677-93.
19. RABINOVICH GA, IGLESIAS MM, MODESTI NM, CASTAGNA LF, WOLFENSTEIN-TODEL C, RIERA CM ET AL. Activated rat macrophages produce a galectin-1-like protein that induces apoptosis of T cells: biochemical and functional characterization. *J Immunol* 1998; 160: 4831-40.
20. RABINOVICH GA, ALONSO CR, SOTOMAYOR CE, DURAND S, BOCCO JL, RIERA CM. Molecular mechanisms implicated in galectin-1-induced apoptosis: activation of the AP-1 transcription factor and down-regulation of Bcl-2. *Cell Death Differ* 2000; 7: 747-53.
21. GIORDANENGO L, GEA S, BARBIERI G, RABINOVICH GA. Anti-galectin-1 autoantibodies in human *Trypanosoma cruzi* infection: differential expression of this beta-galactoside-binding protein in cardiac Chagas' disease. *Clin Exp Immunol* 2001; 124: 266-73.
22. TURECI O, SCHMITT H, FADLE N, PFREUNDSCHUH M, SAHIN U. Molecular definition of a novel human galectin which is immunogenic in patients with Hodgkin's disease. *J Biol Chem* 1997; 272: 6416-22.
23. MATHEWS KP, KONSTANTINOV KN, KUWABARA I, HILL PN, HSU DK, ZURAW BL, LIU FT. Evidence for IgG autoantibodies to galectin-3, a beta-galactoside-binding lectin (Mac-2, epsilon binding protein, or carbohydrate binding protein 35) in human serum. *J Clin Immunol* 1995; 15: 329-37.
24. BIDON N, BRICHORY F, BOURGUET P, LE PENNEC JP, DAZORD L. Galectin-8: a complex sub-family of galectins (Review). *Int J Mol Med* 2001; 8: 245-50.
25. BIDON-WAGNER N, LE PENNEC JP. Human galectin-8 isoforms and cancer. *Glycoconj J* 2004; 19: 557-63.
26. SU ZZ, LIN J, SHEN R, FISHER PE, GOLDSTEIN NI, FISHER PB. Surface-epitope masking and expression cloning identifies the human prostate carcinoma tumor antigen gene PCTA-1 a member of the galectin gene family. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; 93: 7252-7.
27. LAHM H, ANDRE S, HOEFELICH A, FISCHER JR, SORDAT B, KALTNER H ET AL. Comprehensive galectin fingerprinting in a panel of 61 human tumor cell lines by RT-PCR and its implications for diagnostic and therapeutic procedures. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001; 127: 375-86.
28. HADARI YR, ARBEL-GOREN R, LEVY Y, AMSTERDAM A, ALON R, ZAKUT R ET AL. Galectin-8 binding to integrins inhibits cell adhesion and induces apoptosis. *J Cell Sci* 2000; 113: 2385-97.
29. GIANCOTTI FG, RUOSLAHTI E. Integrin signaling. *Science* 1999; 285: 1028-32.
30. LEVY Y, RONEN D, BERSHADSKY AD, ZICK Y. Sustained induction of ERK, protein kinase B, and p70 S6 kinase regulates cell spreading and formation of F-actin microspikes upon ligation of integrins by galectin-8, a mammalian lectin. *J Biol Chem* 2003; 278: 14533-42.
31. ARBEL-GOREN R, LEVY Y, RONEN D, ZICK Y. Cyclin-dependent kinase inhibitors and JNK act as molecular switches, regulating the choice between growth arrest and apoptosis induced by galectin-8. *J Biol Chem* 2005; 280: 19105-14.
32. HOGG N, LASCHINGER M, GILES K, MCDOWALL A. T-cell integrins: more than just sticking points. *J Cell Sci* 2003; 116: 4695-705.
33. PRIBILA JT, QUALE AC, MUELLER KL, SHIMIZU Y. Integrins and T cell-mediated immunity. *Annu Rev Immunol* 2004; 22: 157-80.
34. NISHI N, SHOJI H, SEKI M, ITOH A, MIYANAKA H, YUUBE K ET AL. Galectin-8 modulates neutrophil function via interaction with integrin alphaM. *Glycobiology* 2003; 13: 755-63.
35. ARBUCKLE MR, MCCLAIN MT, RUBERTONE MV, SCOFIELD RH, DENNIS GJ, JAMES JA ET AL. Development of autoantibodies before the clinical onset of systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med* 2003; 349: 1526-33.
36. SAWALHA AH, HARLEY JB. Antinuclear autoantibodies in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 2004; 16: 534-40.
37. REICHLIN M, WOLFSON-REICHLIN M. Correlations of anti-dsDNA and anti-ribosomal P autoantibodies with lupus nephritis. *Clin Immunol* 2003; 108: 69-72.
38. REICHLIN M. Ribosomal P antibodies and CNS lupus. *Lupus* 2003; 12: 916-8.
39. PONS-ESTEL BA, CATOGGIO LJ, CARDIEL MH, SORIANO ER, GENTILETTI S, VILLA AR ET AL. The GLADEL multinational Latin American prospective inception cohort of 1,214 patients with systemic lupus erythematosus: ethnic and disease heterogeneity among «Hispanics». *Medicine (Baltimore)* 2004; 83: 1-17.

40. VELÁSQUEZ X, VERDEJO U, MASSARDO L, MARTÍNEZ ME, ARRIAGADA S, ROSENBERG H ET AL. Outcome of Chilean patients with lupus nephritis and response to intravenous cyclophosphamide. *J Clin Rheumatol* 2003; 9: 7-14.
41. CONTRERAS G, PARDO V, LECLERCQ B, LENZ O, TOZMAN E, O'NAN P, ROTH D. Sequential therapies for proliferative lupus nephritis. *N Engl J Med* 2004; 350: 971-80.
42. MASSARDO L, BURGOS P, MARTÍNEZ ME, PÉREZ R, CALVO M, BARROS J ET AL. Antiribosomal P protein antibodies in Chilean SLE patients: no association with renal disease. *Lupus* 2002; 11: 379-83.
43. ARNETT FC, REVELLE JD, MOUTSOPOULOS HM, GEORGESCU L, ELKON KB. Ribosomal P autoantibodies in systemic lupus erythematosus. Frequencies in different ethnic groups and clinical and immunogenetic associations. *Arthritis Rheum* 1996; 39: 1833-9.
44. LEVY Y, ARBEL-GOREN R, HADARI YR, ESHHAR S, RONEN D, ELHANANY E ET AL. Galectin-8 functions as a matricellular modulator of cell adhesion. *J Biol Chem* 2001; 276: 31285-95.

Agradecimientos

Agradecemos a la EU Paula García Mejías, por su ayuda en recolectar los datos clínicos y excelente atención a los pacientes. Este trabajo fue financiado en parte por el proyecto FONDECYT #1020592.