

Búsqueda de nuevos autoantígenos en el síndrome de Sjögren

I. Ferraz-Amaro^a, I. Cozar-Castellano^b, M.F. Arteaga^b, M.V. Machargo^b, E. Acosta^b, J. Ávila^b, S. Bustabad^a, E. Trujillo^a, T. González^a y P. Martín-Vasallo^b

^aServicio de Reumatología. Hospital Universitario de Canarias. Santa Cruz de Tenerife. España.

^bLaboratorio de Biología del Desarrollo. Departamento de Biología Molecular. Universidad de La Laguna. Santa Cruz de Tenerife. España.

Objetivo: Determinar la existencia de nuevos autoantígenos en el síndrome de Sjögren (SS) así como estudiar la prevalencia de éstos en pacientes y población sana.

Material y métodos: Se procedió a realizar un muestreo con el suero de una enferma afectada de SS mediante la utilización de una genoteca de cerebro humano (técnica SEREX). Se determinó que este suero expresaba autoantígenos ya conocidos y proteínas no descritas previamente, y también se confirmó la presencia de una proteína desconocida hasta ahora. De entre ellas, se seleccionó a esta última (hIscA) y a la proteína Tau (hallada en el muestreo) para ser transformadas en sendos plásmidos de expresión para conseguir su síntesis recombinante.

Resultados: Mediante técnica de inmunotransferencia se testó la existencia de anticuerpos anti-Tau y anti-hIscA en 19 pacientes y 20 sujetos sanos. No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre pacientes y controles en la expresión de anticuerpos anti-Tau y se halló que los pacientes expresaban, de forma significativa, valores inferiores de anticuerpos anti-hIscA.

Conclusión: Se ha identificado a las proteínas Tau y hIscA como nuevos autoantígenos en el SS. Se ha hallado que los pacientes con SS expresan valores inferiores de anticuerpos anti-hIscA en comparación con controles y, aunque no se ha encontrado ninguna diferencia entre sanos y enfermos en relación con la presencia de anticuerpos anti-Tau, ésta es la primera vez en que anticuerpos contra esta proteína se han detectado en el SS.

Palabras clave: Síndrome de Sjögren. Autoantígenos. Autoanticuerpos. Autoinmunidad.

The search for new autoantigens in Sjögren's syndrome

Objective: To identify new autoantigens related to Sjögren's syndrome and to determine their prevalence in patients and healthy individuals.

Material and methods: Serological sampling was performed in a patient with Sjögren's syndrome through the use of a human brain expression genotec (SEREX technique) to determine expression of known autoantigens and previously undescribed proteins. The presence of a previously unknown protein was found. Several proteins were obtained and two were selected to be studied (a human protein called Tau and an unknown protein described by our group and named hIscA). Both Tau and hIscA cDNA were transformed into an expression plasmid to obtain their recombinant proteins.

Results: Using a Western-blot technique we investigated the presence of anti-Tau and anti-hIscA autoantibodies in the sera of 19 patients with Sjögren's syndrome and in the sera of 20 controls. No statistically significant differences were found in the expression of anti-Tau antibodies between patients with Sjögren's syndrome and controls but values of anti-hIscA autoantibodies were significantly lower in patients with Sjögren's syndrome.

Conclusion: We identified Tau and hIscA proteins as new autoantigens in Sjögren's syndrome. Anti-hIscA antibody values were significantly lower in patients with Sjögren's syndrome than in healthy controls. Although no statistically significant differences in values of anti-Tau antibodies were found between Sjögren's syndrome patients and controls, this is the first time antibodies against this protein have been detected in Sjögren's syndrome.

Key words: Sjögren's syndrome. Autoantigens. Autoantibodies. Autoimmunity.

Este trabajo ha sido financiado con el Programa Sectorial de Promoción General del Conocimiento, Ministerio de Educación y Cultura y FIS grant 99/0695.

Correspondencia: Dr. I. Ferraz-Amaro.
Servicio de Reumatología. Hospital Universitario de Canarias.
Ofra, s/n. La Cuesta. 38320 Santa Cruz de Tenerife. España.
Correo electrónico: iferraz@comtf.es

Manuscrito recibido el 11-6-2004 y aceptado el 25-7-2005.

Introducción

La primera descripción del síndrome de Sjögren (SS) se atribuye a Johann Mikulicz, quien en 1888 describió el caso de un varón de 42 años con tumefacción bilateral

```

ATG TCG GCT TCC TTA GTC CGG GCA ACT GTC CGG GCT GTG AGC AAG
AGG AAG CTG CAG CCC ACC CGG GCA GCC CTC ACC CTG ACA CCT TCA
GCA GTA AAC AAG ATA AAA CAA CTT CTT AAA GAT AAG CCT GAG CAT
GTA GGT GTA AAA GTT GGT GTC CGA ACC AGG GGC TGT AAT GGC CTT
TCT TAT ACT CTA GAA TAT ACA AAG ACA AAA GGA GAT TCT GAT GAA
GAA GTT ATT CAA GAT GGA GTC AGA GTA TTC ATC GAA AAG AAA GCA
CAG CTA ACA CTT TTA GGA ACA GAA ATG GAC TAT GTT GAA GAC AAA
TTA TCC AGT GAG TTT GTG TTC AAT AAC CCA AAC ATC AAA GGG ACT
TGT GGCTGT GGA GAA AGC TTT AAT ATT TGA

```

Figura 1. cDNA de *hIscA*.

de parótidas y glándulas lacrimales asociado a la presencia en estos tejidos de infiltrados de células pequeñas. Aunque posteriormente hubo otras citas, no fue hasta 1933 que un oftalmólogo danés, Henrik Sjögren, describió con detalle las características clínicas e histológicas de 19 mujeres, 13 probablemente con artritis reumatoide, con sequedad bucal y ocular¹.

Es mucho lo que sugiere un origen autoinmunitario del SS, ya que, al igual que en otras enfermedades autoinmunitarias hay características tales como predominio en el sexo femenino, relación con determinados HLA, asociación familiar, producción de autoanticuerpos y manifestaciones clínicas comunes como artritis, síndrome de Raynaud, serositis... Del mismo modo, la presencia de autoanticuerpos, concretamente, anti-Ro/SSA y anti-La/SSB, pero también de otros, sugieren esta patología autoinmunitaria.

Dado que Ro y La también se han encontrado en otras enfermedades del tejido conectivo, se han intentado identificar autoanticuerpos específicos del SS (una posibilidad serían los anticuerpos contra alfa-fodrin² o anticuerpos antirreceptor de acetilcolina³). Debido a la importancia de estos autoanticuerpos en el diagnóstico y entendimiento de esta enfermedad, el objetivo de nuestro trabajo ha sido ahondar en la caracterización e identificación de nuevos autoanticuerpos/autoantígenos^{4,5} en enfermos con SS, haciendo especial hincapié en los que pudieran estar relacionados con manifestaciones extraglandulares concretas, así como determinar la prevalencia de estos nuevos autoanticuerpos en enfermos y población sana.

Material y métodos

Obtención del suero problema

Se obtuvo suero de una mujer de 60 años diagnosticada hacía 8 años de SS. Había presentado xerostomía y xeroftalmía desde el inicio de la enfermedad y cumplía los Criterios Europeos⁶ para el diagnóstico de SS con posi-

tividad para anticuerpos anti-La y anti-Ro, así como para factor reumatoide y biopsia de glándula salivar compatible con SS. Durante la evolución de su enfermedad había mostrado tiroiditis autoinmunitaria, anemia hemolítica y cuadro parkinsoniano junto con deterioro cognitivo, y en pruebas de imagen (resonancia magnética) se objetivó hiperintensidad en sustancia blanca de ambos centros semiovais y coronas *radiatas* especialmente en lóbulos frontales en relación con áreas de gliosis de probable origen isquémico. La paciente fue diagnosticada de SS⁷ con manifestación neurológica y sigue en control por nuestro servicio. Por tanto, se trataba de una enferma con SS y con asociaciones inusuales a éste a la que se escogió presumiendo que su suero sería el ideal para el estudio de nuevos autoantígenos.

Obtención de clones e identificación de proteínas

Para la identificación de nuevos autoantígenos se utilizó el método SEREX (*serological identification of antigens by recombinant expression cloning*). Este método consiste básicamente en un cribado con librerías de expresión de cADN (librería de expresión de cerebro humano, Clontech, CA, USA) con el suero escogido (diluido a una concentración final de 1:2000 en TBS, 0,05% Tween 20[®], 3% suero de albúmina bovina y 0,01% ácido sódico) para la obtención de clones y su posterior identificación⁸. Se procedió a la secuenciación de los clones obtenidos mediante el envío de estos a Sistemas Genómicos (Valencia, España) después de su preparación mediante *kits* Qiapren siguiendo las instrucciones del fabricante. Se comparó las secuencias obtenidas con las secuencias conocidas de ADN publicadas en los bancos de datos, a los que se accedió por los programas NCBI-BLAST para identificación de proteínas (la figura 1 muestra cADN de *hIscA*).

Así pues, se identificaron en primer lugar una proteína como autoantígeno ya conocida: proteína Tau; y otra desconocida, cuya caracterización se desarrolla en otra publicación de nuestro grupo de investigación⁹, a la que

TABLA 1. Análisis de las secuencias de ADN obtenidas en el muestreo

Autoantígenos conocidos	Relacionado con
La	Síndrome de Sjögren
NA-14 (<i>nuclear antigen 14 kD</i>)	Síndrome de Sjögren
rRNA 28s	Lupus eritematoso sistémico
CENP-B	Esclerodermia
PDC-E2	Cirrosis biliar primaria
<hr/>	
Proteína conocida, pero autoantígeno desconocido	
Proteína Tau	Enfermedades neurodegenerativas
Proteína WAVE	Síndrome de Wiskott-Aldrich
<hr/>	
Proteína desconocida	
ADN homólogo a una zona del cromosoma 19 humano (proteína hIscA)	

se denominó hIscA. No obstante, también se obtuvieron otros clones, dentro de los cuales se hallaban proteínas conocidas y asociadas al SS y proteínas conocidas pero no asociadas al SS (tabla 1). Entre las ya relacionadas con el SS se encontró que el suero problema expresaba proteína La/SS-B, implicada en la transcripción de la ARN-polimerasa III; proteína NA-14, proteína nuclear identificada recientemente; PDC-E2 (dihidrolipoamida acetil transferasa), proteína de 70 kDa componente E2 del complejo de la piruvato deshidrogenasa relacionada con la cirrosis biliar primaria; autoantígeno del centrómero CENP-B relacionada con la esclerosis sistémica, y macromolécula no proteica rARN 28s relacionada con el lupus eritematoso sistémico. Entre las no relacionadas previamente con el SS figuran: proteína Tau, proteína WAVE (relacionada en el mantenimiento de la estructura del citoesqueleto celular implicada en la patogenia del síndrome de Wiskott-Aldrich) y proteína hIscA.

Obtención de proteínas recombinantes

Se escogieron las proteínas Tau (por su importante papel en enfermedades neurodegenerativas) y la proteína hIscA (proteína no conocida hasta el momento actual en humanos) para determinar su relación con el SS, por lo que los insertos de ambas fueron (según estudio mediante el programa OMIGA) insertados en sendos plásmidos pRSET B. Posteriormente, estos plásmidos fueron transformados para su inducción proteica en bacterias *BL21 (DE3) plys S* mediante columnas de níquel de afinidad o electroelución con la obtención de sendos polipéptidos de 17 y 15 kD, respectivamente (fig. 2).

Pacientes

Se obtuvo suero de 19 enfermos con SS, que fueron cedidos por el Servicio de Reumatología del Hospital Universitario de Canarias según normativa vigente al

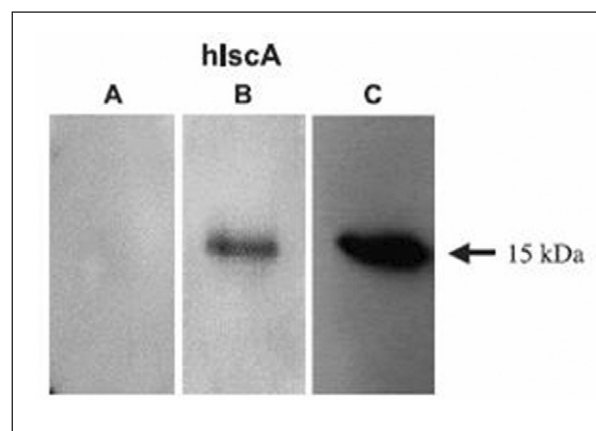


Figura 2. La proteína recombinante de hIscA es reconocida por el suero problema (B), pero no en uno de los controles (A). C muestra un extracto de 200 ng de la proteína en una electroforesis 15% SDS-PAGE.

TABLA 2. Características clínicas y de laboratorio de los 19 pacientes con síndrome de Sjögren utilizados en el muestreo

Características clínicas	
Edad al diagnóstico	39,1 años
Afectación neurológica	5 (26%)
Manifestaciones tiroideas	4 (21%)
Anemia hemolítica autoinmunitaria	3 (15%)
Neumopatía intersticial	1 (5%)
Cirrosis biliar primaria/hepatitis autoinmunitaria	2 (10%)
<hr/>	
Características de laboratorio	
Factor reumatoide	12 (63%)
Anticuerpos anti-Ro	10 (52%)
Anticuerpos anti-La	11 (57%)
Anticuerpos antimitocondriales	2 (10%)

respecto. Estos 19 sueros se escogieron entre enfermos con SS con manifestaciones inusuales de la enfermedad; se presumió que éstos podrían expresar nuevos autoanticuerpos. De la misma forma, 20 sueros de donantes sanos del Banco de Sangre del mismo hospital se utilizaron como grupo control. Las características clínicas y de laboratorio de los pacientes se resumen en la tabla 2. Cinco pacientes presentaron afectación neurológica a lo largo de la evolución de su enfermedad. Una de ellas en forma de cuadro parkinsoniano¹⁰⁻¹² y deterioro cognitivo con resonancia magnética patológica. En el segundo caso, la paciente presentó un episodio deficitario con imagen radiológica por tomografía computarizada también patológica; llamó la atención la ausencia de otros factores de riesgo para presentar un ictus isquémico, por lo cual, el cuadro se interpretó en relación con SS. La tercera paciente también desarrolló un cuadro de deterioro cognitivo asociado al SS. La cuarta y quinta pacientes con manifestaciones neurológicas presentaron clínica referida al sistema nervioso periférico: neuropatía del trigémino y parálisis facial. En lo que se refiere a características clínicas de otro tipo, 4 pacientes (21%)

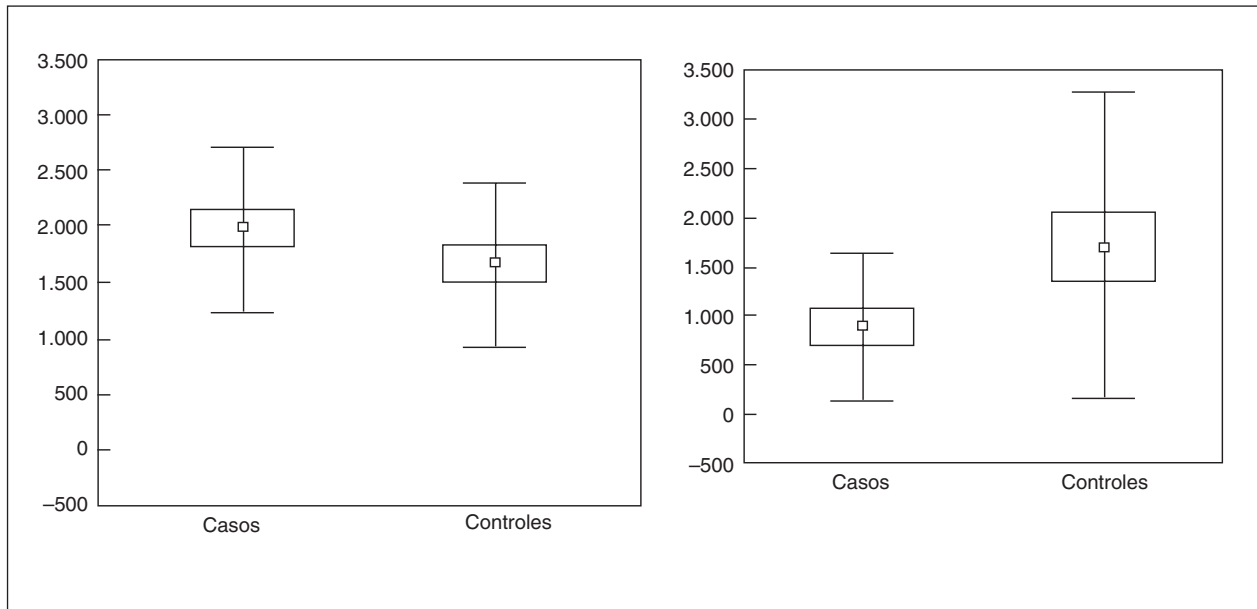


Figura 3. Valores de anti-Tau (izquierda) y anti-hIscA (derecha) medidos según bandas de inmunotransferencia en unidades de densidad óptica para enfermos y controles.

tenían manifestaciones tiroideas, las 4 en relación con hipotiroidismo y tiroiditis autoinmunitaria. Tres pacientes tuvieron manifestaciones hematológicas mayores, las 3 del tipo de anemia hemolítica autoinmunitaria. Una sola paciente desarrolló afección pulmonar en forma de neumopatía intersticial difusa. Dos pacientes desarrollaron afección hepática, una de ellas en forma de cirrosis biliar primaria y la otra como hepatitis autoinmunitaria. Los datos analíticos mostraron: 12 (63%) pacientes presentaron factor reumatoide positivo, y 10 (52%) y 11 (57%) pacientes fueron positivos para anti-Ro y anti-La, respectivamente. Dos pacientes expresaron positividad para anticuerpos antimitocondriales, una fue la mencionada que presentaba una cirrosis biliar primaria y en otro caso fue sin enfermedad hepática conocida.

Cribado de los sueros de enfermos con SS y controles

Se procedió a enfrentar, mediante técnica de inmunotransferencia, las proteínas obtenidas con los sueros de enfermos y controles para determinar la presencia de anticuerpos frente a ambas. Las bandas obtenidas en inmunotransferencia se analizaron según el programa NIH Scion Image expresando la intensidad de las bandas como unidades de densidad óptica. Para Tau los anticuerpos primarios (sueros de los pacientes) se usaron a 1:1.000 y el secundario a 1:60.000, para hIscA se utilizaron a 1:2.000 y 1:60.000, respectivamente.

Análisis estadístico

La hipótesis nula del estudio se determinó como la ausencia de diferencias entre los pacientes y controles en lo que se refiere a los valores de anticuerpos contra las proteínas estudiadas. Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS utilizando la prueba de Mann-Whitney y otros estadísticos adecuados para cada análisis. Los valores extremos fueron depurados de la sábana de datos promedio al análisis estadístico con la sustitución de estos valores por el valor correspondiente a la media más 2,5 desviaciones estándar.

Resultados

En lo que se refiere a la proteína Tau, nuestras 19 enfermas no han demostrado una diferencia estadísticamente significativa en lo que se refiere a la presencia de anticuerpos anti-Tau ($p = 0,65$). Del mismo modo, tampoco se ha encontrado que en los enfermos con manifestaciones neurológicas sea estadísticamente más frecuente la presencia de estos anticuerpos ($p = 0,75$). Igualmente, ninguna manifestación clínica (enfermedad hematológica, tiroidea, pulmonar o hepática) o analítica (presencia de factor reumatoide, anti-Ro o anti-La) se correlacionó con la presencia o ausencia de anticuerpos anti-Tau (fig. 3).

Los datos referentes a la proteína hIscA testada en enfermos y controles mostraron que los enfermos con SS expresaban valores estadísticamente diferentes de los

controles, y los valores de anti-hIscA eran significativamente inferiores en enfermos en comparación a sanos ($p = 0,002$). Tampoco en este caso, los valores de hIscA mostraron asociación a la presencia de enfermedad neurológica, tiroidea, hematológica o hepática o a la presencia o ausencia de anticuerpos anti-Ro, anti-La o factor reumatoide.

Discusión

Proteína Tau

La proteína Tau es una proteína asociada a microtúbulos que participa en el ciclo de asociación-disociación de éstos y ayuda a conferirles dinamismo. En algunas enfermedades neurodegenerativas esta proteína forma ovillos neurofibrilares que se componen de filamentos helicoidales apareados que no son otra cosa que polímeros de Tau en una forma modificada. La patología de Tau se ha correlacionado con su fosforilación anómala, la pérdida de su capacidad de unión a microtúbulos y la formación de ovillos neurofibrilares^{13,14} en un grupo de enfermedades, aparte de la enfermedad de Alzheimer, conocidas actualmente como "taupatías" (parálisis supranuclear progresiva, enfermedad de Pick, degeneración corticobasal y demencia frontotemporal con Parkinson unida al cromosoma 17¹⁵). Hasta el momento actual la proteína Tau no se había relacionado con el SS ni se había descrito como autoantígeno.

En nuestra serie de enfermos había 5 pacientes con SS que habían presentado a lo largo de su evolución manifestaciones neurológicas de diferente índole. En este momento no se conocen marcadores para las manifestaciones neurológicas del SS, en cambio, en otras enfermedades como en el lupus eritematoso sistémico de terminados marcadores, como los anticuerpos P antirribosomales, han demostrado cierta asociación a los cuadros neuropsiquiátricos tipo psicosis o depresión^{16,17}, y también se han descrito asociaciones a los anticuerpos antineuronales¹⁸ y antiganglósidos¹⁹ en esta afección.

Así pues, nuestros 5 enfermos con SS y manifestaciones neurológicas representan un subtipo de enfermos de especial interés. En el análisis estadístico no se halló mayor prevalencia de anticuerpos anti-Tau en estos enfermos, pero creemos que es de especial relevancia el hecho de que se describa por primera vez la presencia anticuerpos contra la proteína Tau en enfermos con SS. Recordemos que fue en una enferma que presentaba manifestaciones claras de SS con manifestaciones neurológicas en quien por primera vez se detectaron estos anticuerpos y que aunque la asociación no se ha demostrado estadísticamente, quizá esto se deba al escaso número de enfermos con manifestaciones neurológicas (5) que se han testado. Por todos es conocido, del mismo modo, la infrecuencia de estas manifestaciones, por lo que la obten-

ción de sueros de enfermos en los que testar estos anticuerpos no resulta fácil en nuestro medio y no se ha alcanzado la potencia estadística requerida.

Proteína hIscA

La segunda proteína estudiada ha sido hIscA, proteína no conocida en mamíferos hasta el momento actual y cuya identificación se describe en otro trabajo⁹. Esta proteína inicialmente se denominó hIscA (*human IscA*) por su homología con otras proteínas bacterianas vinculadas con la formación y reparación de grupos o *clusters* hierro-azufre. No se conoce, obviamente, de forma exacta, su función, por lo que es difícil hacer interpretaciones en lo que se refiere a su interés en las afecciones humanas.

En nuestro análisis se ha encontrado que los enfermos presentan valores inferiores de autoanticuerpos anti-hIscA en comparación a los controles. Este hecho es de difícil interpretación. Un razonamiento que podría concebirse es que los anticuerpos anti-hIscA tienen una alta prevalencia en población sana; esto representa un hallazgo sin relación alguna con patología de ningún tipo y que, por un mecanismo no claro, sus valores descienden en enfermos con SS. Se necesitarán nuevos estudios en poblaciones mayores para conocer la verdadera interpretación que implica la presencia de esta alta frecuencia de positividad de sueros de enfermos y sanos ante la proteína hIscA. Del mismo modo, futuros estudios deberán arrojar luz acerca del verdadero papel de esta proteína y los diversos procesos moleculares que desarrolla en humanos.

Autoanticuerpos

Se sabe que existen de forma universal autoanticuerpos de forma fisiológica en ausencia de una enfermedad constatable. Los mecanismos por los que esto ocurre también se desconocen y se sabe que estos anticuerpos se encuentran en títulos bajos, tienen poca afinidad por su antígeno correspondiente y generalmente corresponden a la clase IgM. Así pues, para que un determinado autoanticuerpo pueda ser relacionado con una determinada enfermedad se requiere cierta capacidad de poder emitir un razonamiento empírico acerca de su posible papel patogénico. En lo que se refiere a la proteína Tau esta posibilidad podría acometerse de una forma relativa ya que su papel patogénico se ha definido en otras enfermedades, por lo cual, también podría desempeñar de forma teórica un papel etiopatogénico en el SS. Por el contrario, en lo referente a la proteína hIscA esta posibilidad es más remota, el desconocimiento de su verdadero papel fisiológico dificulta plantear hipótesis como las referidas para la proteína Tau en lo referente a su re-

lación con el SS. También se debe mencionar que la mayoría de los autoanticuerpos no son, probablemente, causa inmediata de la enfermedad. La mayoría se interpreta como marcadores más que como agentes patológicos *per se* y generalmente los autoanticuerpos como armas diagnósticas en relación con una enfermedad concreta derivan de una dependencia estadística o epidemiológica.

Por tanto, la presencia de autoanticuerpos en las enfermedades reumáticas está sujeta a debate dado que no están claras sus implicaciones fisiopatológicas, modo de aparición así como si simplemente constituyen un epifenómeno; no obstante, su utilidad clínica en el diagnóstico y la clasificación las hace insuperables en el estudio de estas enfermedades.

Este trabajo pone de manifiesto la presencia de múltiples autoanticuerpos expresados en el suero problema de una paciente con SS y ha tratado de buscar nuevas dianas en este sentido. Hemos encontrado varios autoanticuerpos ya conocidos y otros descritos por primera vez —contra las proteínas Tau y hIscA (proteína no conocida hasta la actualidad)— cuya implicación en el SS deberá estudiarse y confirmarse.

Bibliografía

1. Fox RI, Stern M, Michelson P. Update in Sjögren syndrome. *Curr Opin Rheumatol.* 2000;12:391-8.
2. Haneji N, Nakamura T, Takio K, Yanagi K, Higashiyama H, Saito I, et al. Identification of alpha-fodrin as a candidate autoantigen in primary Sjögren's syndrome. *Science.* 1997;276:604-7.
3. Robinson CP, Brayer J, Yamachika S, Esch TR, Peck AB, Stewart CA, et al. Transfer of human serum IgG to nonobese diabetic Igmu null mice reveals a role for autoantibodies in the loss of secretory function of exocrine tissues in Sjögren's syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1998;95:7538-43.
4. Azuma T, Takei M, Yoshikawa T, Nagasugi Y, Kato M, Otsuka M, et al. Identification of candidate genes for Sjögren's syndrome using MRL/lpr mouse model of Sjögren's syndrome and cDNA microarray analysis. *Immunol Lett.* 2002;81:171-6.
5. Winer S, Astsaturov I, Cheung R, Tsui H, Song A, Gaedigk R, et al. Primary Sjögren's syndrome and deficiency of ICA69. *Lancet.* 2002;360:1063-9.
6. Vitali C, Bombardieri S, Moutsopoulos HM, Balestrieri G, Bencivelli W, Bernstein RM, et al. Preliminary criteria for the classification of Sjögren's syndrome. Results of a prospective concerted action supported by the European Community. *Arthritis Rheum.* 1993;36:340-7.
7. Delalande S, De Seze J, Fauchais AL, Hachulla E, Stojkovic T, Ferriry D, et al. Neurologic manifestations in primary Sjögren syndrome: a study of 82 patients. *Medicine (Baltimore).* 2004;83:280-91.
8. Sahin U, Tureci O, Schmitt H, Cochlovius B, Johannes T, Schmits R, et al. Human neoplasms elicit multiple specific immune responses in the autologous host. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995;92:11810-3.
9. Cozar-Castellano I, Del Valle Machargo M, Trujillo E, Arteaga MF, González T, Martín-Vasallo P, et al. hIscA: a protein implicated in the biogenesis of iron-sulfur clusters. *Biochim Biophys Acta.* 2004;1700:179-88.
10. Visser LH, Koudstaal PJ, Van de Merwe JP. Hemiparkinsonism in a patient with primary Sjögren's syndrome. A case report and a review of the literature. *Clin Neurol Neurosurg.* 1993;95:141-5.
11. Nishimura H, Tachibana H, Makiura N, Okuda B, Sugita M. Corticosteroid-responsive parkinsonism associated with primary Sjögren's syndrome. *Clin Neurol Neurosurg.* 1994;96:327-31.
12. Walker RH, Spiera H, Brin MF, Olanow CW. Parkinsonism associated with Sjögren's syndrome: three cases and a review of the literature. *Mov Disord.* 1999;14:262-8.
13. Sánchez MP, Álvarez-Tallada V, Ávila J. The microtubule-associated protein tau in neurodegenerative diseases. *Tauopathies. Rev Neurol.* 2001;33:169-77.
14. Alonso AD, Grundke-Iqbal I, Barra HS, Iqbal K. Abnormal phosphorylation of tau and the mechanism of Alzheimer neurofibrillary degeneration: sequestration of microtubule-associated proteins 1 and 2 and the disassembly of microtubules by the abnormal tau. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1997;94:298-303.
15. Spillantini MG, Goedert M. Tau protein pathology in neurodegenerative diseases. *Trends Neurosci.* 1998;21:428-33.
16. Bonfá E, Golombek SJ, Kaufman LD, Skelly S, Weissbach H, Brot N, et al. Association between lupus psychosis and anti-ribosomal P protein antibodies. *N Engl J Med.* 1987;317:265-71.
17. Nojima Y, Minota S, Yamada A, Takaku F, Aotsuka S, Yokohari R. Correlation of antibodies to ribosomal P protein with psychosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 1992;51:1053-5.
18. West SG. Neuropsychiatric lupus. *Rheum Dis Clin North Am.* 1994;20:129-58.
19. Galeazzi M, Annunziata P, Sebastiani GD, Bellisai F, Campanella V, Ferrera GB, et al. Anti-ganglioside antibodies in a large cohort of European patients with systemic lupus erythematosus: clinical, serological, and HLA class II gene associations. European Concerted Action on the Immunogenetics of SLE. *J Rheumatol.* 2000;27:135-41.