

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y
BIOQUIMICAS
INSTITUTO DE SERVICIOS DE LABORATORIO DE
DIAGNOSTICO E INVESTIGACION EN SALUD



EVALUACION DEL COMPORTAMIENTO DE
 β 2MICROGLOBULINA Y SEMAFORINA3A EN LUPUS
ERITEMATOSO SISTEMICO COMO BIOMARCADORES DE
ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD Y NEFRITIS LUPICA
MEDIANTE EL ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA POR
RT-qPCR EN ORINA

Trabajo de grado presentado para la obtención del Postgrado de Especialidad en
Diagnóstico de Laboratorio en Salud: Mención Histocompatibilidad e Inmunogenética

POR: JACQUELINE ANDREA CORTEZ VELARDE
TUTOR: LUIS FERNANDO SOSA TORDOYA, Esp.

LA PAZ – BOLIVIA
Octubre, 2023

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRES
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACEUTICAS Y
BIOQUIMICAS
INSTITUTO DE SERVICIOS DE LABORATORIO DE
DIAGNOSTICO E INVESTIGACION EN SALUD

EVALUACION DEL COMPORTAMIENTO DE
 β 2MICROGLOBULINA Y SEMAFORINA3A EN LUPUS
ERITEMATOSO SISTEMICO COMO BIOMARCADORES DE
ACTIVIDAD DE LA ENFERMEDAD Y NEFRITIS LUPICA
MEDIANTE EL ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN GÉNICA POR
RT-qPCR EN ORINA

POR: JACQUELINE ANDREA CORTEZ VELARDE
TUTOR: LUIS FERNANDO SOSA TORDOYA, Esp.

Nota numeral:90.....

Nota literal:Noventa.....

Valoración:EXCELENTE.....

Tribunal: Ana Rosa Lopéz Lecoña, Esp.

Tribunal: Ana Cruz Quispe, Esp.

Tribunal: Christian Oviden Saavedra, Esp.

LA PAZ – BOLIVIA
Octubre, 2023

Dedicatoria

*Mamá, tu amor puede compararse al sistema inmunológico en su papel protectoro.
Gracias por ser mi protectora. Te amo con todo mí ser.
Abuelito, estoy siguiendo tus pasos.*

Agradecimientos

Quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que, de una forma u otra, contribuyeron no solo a este trabajo de grado sino a mi formación durante la residencia. Cada conversación, consejo y palabra amable no pasaron desapercibidos y fueron parte integral de este logro.

Primero y ante todo, agradezco a mi tutor de tesis, Dr. Luis Fernando Sosa Tordoya, por su inquebrantable guía y dedicación. Su experiencia y sabiduría han sido una fuente constante de inspiración, y estoy agradecida por la oportunidad de aprender de su conocimiento.

Agradezco también a mis docentes del Instituto Seladis, empezando por la Directora Dra. Susana Revollo, Dr. Marcos Conde, Dra. Yashira Serruto y Dra. Aneth Vasquez quienes no solo compartieron su experiencia académica en genética molecular sino que me brindaron su apoyo incondicional durante la residencia.

Mi reconocimiento especial va dirigido a los pacientes con Lupus, este trabajo no solo es un reflejo de mi esfuerzo, sino también de su valiosa contribución.

Agradezco a mis colegas Esther, José Luis, Carmen, Sergio, Mabel y Danny quienes compartieron sus ideas y experiencias, creando un ambiente de colaboración que enriqueció mi perspectiva y motivó mi trabajo.

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento al distinguido tribunal Dra. Ana Lopéz, Dra. Ana Cruz y Dr. Christian Oliden que revisó y evaluó mi trabajo de grado. Su dedicación y experiencia han sido fundamentales para enriquecer este trabajo y contribuir al desarrollo de mis habilidades académicas.

No puedo dejar de agradecer a mi familia por su constante apoyo emocional y por creer en mí a lo largo de este viaje académico. A mi madre Jacqueline Velarde, a mi padre Victor Cortez, a mis hermanos Rodrigo, Alan, Camilo y Fabrizio, y a mi sobrina Camilita quienes siempre creyeron en mí y alentaron mis sueños con amor incondicional.

Este logro no habría sido posible sin la colaboración y el respaldo de todas estas personas. Estoy profundamente agradecida por haber contado con su apoyo en este importante capítulo de mi formación académica.

INDICE DE CONTENIDO

1	INTRODUCCIÓN	1
2	MARCO TEORICO	2
2.1	Lupus Eritematoso Sistémico y Nefritis Lúpica	2
2.1.1	Definición.....	2
2.1.2	Epidemiología	2
2.1.2.1	Factores que influyen la Frecuencia del LES.....	3
2.1.2.2	Tasa de Incidencia en el mundo	4
2.1.2.3	Tasa de Prevalencia en el mundo	6
2.1.2.4	Datos en Bolivia.....	8
2.1.3	Etiología	9
2.1.4	Patogenia.....	10
2.1.4.1	Mecanismos de la inmunopatogénesis de LES extra-renales	11
2.1.4.2	Mecanismos de la inmunopatogénesis de la NL	18
2.1.5	Manifestaciones clínicas	24
2.1.5.1	Manifestaciones clínicas de LES Extra-renales	26
2.1.5.2	Manifestaciones clínicas de NL	28
2.1.6	Diagnóstico	29
2.1.6.1	Diagnóstico de LES.....	29
2.1.6.2	Evaluación de la actividad de LES.....	34
2.1.6.3	Diagnóstico de NL	35
2.1.7	Mortalidad y Supervivencia	39
2.1.8	Pronóstico.....	40
2.1.9	Tratamiento	41
2.2	Biomarcadores en Lupus Eritematoso Sistémico y Nefritis Lúpica	46
2.2.1	Autoanticuerpos	49
2.2.2	Otros biomarcadores serológicos	53
2.3	β2microglobulina	55
2.3.1	Funciones biológicas.....	55
2.3.2	Biomarcador en enfermedad	56

2.4	Semaforina3A	58
2.4.1	Funciones biológicas.....	59
2.4.2	Biomarcador en enfermedad	61
2.5	Método de Detección: RT qPCR	64
3	ANTECEDENTES	66
4	PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	68
4.1	PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	69
5	JUSTIFICACIÓN	70
6	HIPÓTESIS	71
7	OBJETIVOS	72
7.1	OBJETIVO GENERAL	72
7.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	72
8	DISEÑO METODOLÓGICO	73
8.1	TIPO O DISEÑO DEL ESTUDIO	73
8.2	SITIO O CONTEXTO DEL ESTUDIO	73
8.3	POBLACIÓN EN ESTUDIO	73
8.3.1	Criterios de Inclusión	73
8.3.2	Criterios de Exclusión.....	74
8.3.3	Criterios de Eliminación	74
8.4	TAMAÑO DE MUESTRA	74
8.5	DESCRIPCIÓN DE LAS TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS	74
8.5.1	Recolección de las Muestras	74
8.5.1.1	Muestra sanguínea.....	74
8.5.1.2	Muestra urinaria	75
8.5.2	Medición de biomarcadores serológicos.....	75
8.5.3	Medición de biomarcadores Urinarios	75
8.5.3.1	Extracción de ARN total	76
8.5.3.2	Concentración y pureza de las muestras mediante espectrofotometría	76
8.5.3.3	Transcripción inversa.....	77
8.5.3.4	Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real cuantitativa RT-qPCR.....	77

8.5.3.5	Cuantificación relativa de la expresión génica por el método $2^{-\Delta\Delta Ct}$	78
8.6	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	79
8.7	ASPECTOS BIOÉTICOS	80
9	RESULTADOS	81
9.1	Características clínicas de los pacientes.....	81
9.2	Evaluación del comportamiento de biomarcadores potenciales en pacientes con LES y voluntarios sanos mediante la cuantificación proteica por ELISA en suero	82
9.2.1	Análisis comparativo de niveles séricos de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES y voluntarios sanos	82
9.2.2	Análisis de curva ROC de niveles séricos de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES y voluntarios sanos	83
9.3	Análisis del comportamiento de biomarcadores potenciales en pacientes con LES considerando la actividad de la enfermedad, mediante la cuantificación proteica por ELISA en suero y orina.....	84
9.3.1	Análisis comparativo de los niveles séricos y urinarios de un perfil de biomarcadores de potenciales mediante ELISA en pacientes con LES Activo e Inactivo, según el índice de actividad del SLEDAI-2K.....	84
9.3.2	Análisis de curva ROC de los niveles séricos y urinarios de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES Activo e Inactivo, según el índice de actividad del SLEDAI-2K.....	85
9.4	Análisis del comportamiento de biomarcadores potenciales en pacientes con LES diferenciando entre la presencia o ausencia de NL, mediante la cuantificación proteica por ELISA en suero y orina.....	87
9.4.1	Análisis comparativo de los niveles séricos y urinarios de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES, según presencia de afectación renal (NL) y ausencia de afectación renal (No-NL/LES).....	87
9.4.2	Análisis de curva ROC de los niveles séricos y urinarios de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES, según presencia de afectación renal (NL) y ausencia de afectación renal (No-NL/LES).....	88
9.5	Evaluación del comportamiento de β2Microglobulina y Semaforina3A en pacientes con LES y voluntarios sanos mediante la cuantificación relativa de ARN mensajero por RT-qPCR en orina.....	90

9.5.1	Análisis de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES y voluntarios sanos	90
9.6	Análisis del comportamiento de β2Microglobulina y Semaforina3A en pacientes con LES considerando la actividad de la enfermedad, mediante la cuantificación relativa de ARN mensajero por RT-qPCR en orina	91
9.6.1	Análisis comparativo de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES , según el índice de actividad del SLEDAI-2K.....	91
9.6.2	Análisis de curva ROC de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES Activo e Inactivo, según el índice de actividad del SLEDAI-2K.....	92
9.7	Análisis del comportamiento de β2Microglobulina y Semaforina3A en pacientes con LES según la presencia o ausencia de NL, mediante la cuantificación relativa de ARN mensajero por RT-qPCR en orina	93
9.7.1	Análisis comparativo de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES, según presencia (NL) y ausencia de afectación renal (No-NL/LES).....	93
9.7.2	Análisis de curva ROC de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES, según presencia (NL) y ausencia de afectación renal (No-NL/LES)	94
10	DISCUSIÓN	96
10.1	Dificultades del muestreo	96
10.2	Distribución según sexo y edad	98
10.3	Distribución según la actividad de la enfermedad	99
10.4	Distribución según presencia o ausencia de Nefritis Lúpica.....	100
10.5	Comportamiento de biomarcadores potenciales en pacientes con LES y voluntarios sanos mediante la cuantificación proteica por ELISA en suero	100
10.6	Comportamiento de biomarcadores potenciales en pacientes con LES considerando la actividad de la enfermedad, mediante la cuantificación proteica por ELISA en suero y orina.....	102
10.7	Comportamiento de biomarcadores potenciales en pacientes con LES diferenciando entre la presencia o ausencia de NL, mediante la cuantificación proteica por ELISA en suero y orina.....	104

10.8 Comportamiento de β2microglobulina y Semaforina3A en pacientes con LES y voluntarios sanos mediante la cuantificación relativa de ARN mensajero por RT-qPCR en orina.....	107
10.8.1 Expresión génica de β 2microglobulina.....	107
10.8.2 Expresión génica de Semaforina3A.....	108
10.9 Comportamiento de β2microglobulina y Semaforina3A en pacientes con LES considerando la actividad de la enfermedad mediante la cuantificación relativa de ARN mensajero por RT-qPCR en orina	109
10.9.1 Expresión génica de β 2microglobulina.....	109
10.9.1 Expresión génica de Semaforina3A.....	110
10.10 Comportamiento de β2microglobulina y Semaforina3A en pacientes con LES según la presencia o ausencia de NL mediante la cuantificación relativa de ARN mensajero por RT-qPCR en orina	110
10.10.1 Expresión génica de β 2microglobulina	110
10.10.2 Expresión génica de Semaforina3A	110
11 CONCLUSIONES	114
12 RECOMENDACIONES	116
13 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	117
ANEXOS I	126
ANEXOS II	132
ANEXOS III	134

INDICE DE CUADROS

Tabla 1. Criterios revisados en 1997 de la Asociación Americana de Reumatología para la clasificación del lupus eritematoso sistémico.	30
Tabla 2. Criterios de clasificación del Grupo de Clínicas Colaboradoras Internacionales de Lupus Sistémico (SLICC) 2012.....	31
Tabla 3. Criterios de clasificación de la Liga Europea contra el Reumatismo (EULAR)/ACR 2019	33
Tabla 4. Clasificación de la nefritis lúpica según ISN/RPS (2003)	37
Tabla 5. Lesiones activas o crónicas en la nefritis lúpica	38
Tabla 6. Correlaciones clínico-histológicas en la nefritis lúpica	38
Tabla 7. Tratamiento farmacológico para el lupus eritematoso sistémico	43
Tabla 8. Una selección de las terapias dirigidas para LES y NL	44
Tabla 9. Tipos de biomarcadores y sus definiciones según el Grupo de Trabajo de Biomarcadores de la FDA-NIH.	47
Tabla 10. Biomarcadores potenciales en el Lupus Eritematoso Sistémico y Nefritis Lúpica.....	48
Tabla 11. Secuencias de cebadores utilizadas en la cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (RT-qPCR) para Semaforina3A, β 2Microglobulina y β Actina	78
Tabla 12. Características clínicas de los 81 pacientes incluidos en el estudio.....	81
Tabla 13. Análisis comparativo de los niveles séricos de un perfil de biomarcadores de potenciales mediante ELISA en pacientes con LES y voluntarios sanos	83
Tabla 14. Análisis comparativo de los niveles séricos y urinarios de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES Activo e Inactivo, según el índice de actividad del SLEDAI-2K.....	85
Tabla 15. Análisis comparativo de los niveles séricos y urinarios de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES, según presencia de afectación renal (NL) y ausencia de afectación renal (No-NL/LES)	88
Tabla 16. Niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES normalizados con voluntarios sanos	91
Tabla 17. Análisis comparativo de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES Activo e Inactivo, según el índice de actividad del SLEDAI-2K.....	92
Tabla 18. Análisis comparativo de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES, según presencia (NL) y ausencia de afectación renal (No-NL/LES)	94

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tasa de Incidencia de Lupus eritematoso sistémico por países.....	5
Figura 2. Tasa de Prevalencia de Lupus eritematoso sistémico por países.....	7
Figura 3. Mecanismos patogénicos de la NL.....	10
Figura 4. Mecanismos de inducción de glomerulonefritis en el lupus eritematoso sistémico.....	19
Figura 5. Lesión glomerular y daño tubulointersticial en la nefritis lúpica. ESRD, enfermedad renal en etapa terminal.	20
Figura 6. Heterogeneidad clínica del LES.	25
Figura 7. Análisis de curva ROC de niveles séricos de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES y voluntarios sanos.	84
Figura 8a. Análisis de curva ROC de los niveles séricos de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES Activo e Inactivo, según el índice de actividad del SLEDAI-2K.....	87
Figura 8b. Análisis de curva ROC de los niveles séricos y urinarios de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES Activo e Inactivo, según el índice de actividad del SLEDAI-2K.....	87
Figura 9a. Análisis de curva ROC de los niveles séricos de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES, según presencia de afectación renal (NL) y ausencia de afectación renal (No-NL/LES)	90
Figura 9b. Análisis de curva ROC de los niveles séricos y urinarios de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES, según presencia de afectación renal (NL) y ausencia de afectación renal (No-NL/LES).....	91
Figura 10. Análisis de curva ROC de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES Activo e Inactivo, según el índice de actividad del SLEDAI-2K	93
Figura 11. Análisis de curva ROC de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES, según presencia (NL) y ausencia de afectación renal (No-NL/LES).....	95

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el comportamiento de β 2Microglobulina (β 2M) y Semaforina3A (Sema3A) en lupus eritematoso sistémico como biomarcadores de actividad de la enfermedad y nefritis lúpica mediante el análisis de la expresión génica por RT-qPCR en orina.

Métodos: Se utilizó RT-qPCR para cuantificar la expresión relativa de ARNm por el método $2^{-\Delta\Delta C_t}$ de β 2M y Sema3A en la orina de 81 pacientes de sexo femenino, 44 con diagnóstico de LES y 37 voluntarios sanos como controles. Los pacientes fueron categorizados según la actividad de la enfermedad y la presencia o ausencia de nefritis lúpica. En todos los pacientes se evaluaron biomarcadores potenciales mediante ELISA. El análisis de comparación se realizó utilizando la prueba de la t de Student o la prueba de la U de Mann Whitney. La capacidad de los biomarcadores para discriminar entre dos grupos de pacientes fue hecho mediante el análisis de la Curva ROC y el AUC.

Resultados: En pacientes con LES se observó una expresión urinaria elevada del gen β 2M (2.4 veces mayor) y del gen Sema3A (9.1 veces mayor únicamente en el 25% de pacientes con expresión detectable) en comparación con voluntarios sanos. No se encontraron diferencias significativas en los niveles de expresión de β 2M y Sema3A en el análisis comparativo de los grupos de LES activo e inactivo ni entre los grupos de LES con y sin afectación renal (valor $p > 0,05$ en todos los casos). Los valores del AUC para β 2M y Sema3A fueron de 0.750 y 0,536 respectivamente en el contexto de actividad, y de 0.708 y 0.667 respectivamente, en relación con la afectación renal, indicando cierta capacidad para distinguir entre grupos, pero sin alta precisión (valor $p > 0,05$ en todos los casos).

Conclusiones: Estos hallazgos sugieren, limitada utilidad de β 2M y Sema3A como biomarcadores precisos para la actividad del LES o la presencia de NL en estos pacientes.

Palabras claves

Semaforina3A (Sema3A), β 2Microglobulina (β 2M), lupus eritematoso sistémico (LES), nefritis lúpica (NL), ARN mensajero (ARNm), RT-qPCR.

SUMMARY

Objective: To evaluate the behavior of β 2Microglobulin (β 2M) and Semaphorin3A (Sema3A) in systemic lupus erythematosus as biomarkers of disease activity and lupus nephritis by analyzing gene expression by RT-qPCR in urine.

Methods: RT-qPCR was used to quantify the relative expression of mRNA by the $2^{-\Delta\Delta C_t}$ method of β 2M and Sema3A in the urine of 81 female patients, 44 with a diagnosis of SLE and 37 healthy volunteers as controls. Patients were categorized according to disease activity and the presence or absence of lupus nephritis. Potential biomarkers were evaluated in all patients by ELISA. Comparison analysis was performed using Student's t test or Mann Whitney U test. The ability of the biomarkers to discriminate between two groups of patients was done by analyzing the ROC Curve and the AUC.

Results: In patients with SLE, elevated urinary expression of the β 2M gene (2.4 times higher) and the Sema3A gene (9.1 times higher only in 25% of patients with detectable expression) was observed compared to healthy volunteers. No significant differences were found in the expression levels of β 2M and Sema3A in the comparative analysis of the active and inactive SLE groups or between the SLE groups with and without kidney involvement (p value > 0.05 in all cases). The AUC values for β 2M and Sema3A were 0.750 and 0.536, respectively, in the context of activity, and 0.708 and 0.667, respectively, in relation to renal involvement, indicating some ability to distinguish between groups, but without high precision (p value > 0.05 in all cases).

Conclusions: These findings suggest limited usefulness of β 2M and Sema3A as accurate biomarkers for SLE activity or the presence of LN in these patients.

Keywords: *β 2Microglobulin (β 2M), Semaphorin3A (Sema3A), systemic lupus erythematosus (SLE), lupus nephritis (NL), messenger RNA (mRNA), Quantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-qPCR).*

1 INTRODUCCIÓN

El lupus eritematoso sistémico (LES) representa una enfermedad autoinmune compleja, resultado de la interacción entre factores genéticos y ambientales que aún no se comprenden completamente. Esta afección se caracteriza por su capacidad para impactar múltiples sistemas y órganos del organismo, lo que confiere a su curso clínico un carácter impredecible y variable a lo largo del tiempo. Es relevante destacar que no todos los pacientes manifiestan idénticas presentaciones clínicas, y la afectación de los órganos no acontece simultáneamente (Kiriakidou & Ching, 2020).

Dentro de las manifestaciones orgánicas del LES, se encuentra el compromiso renal, definido como nefritis lúpica (NL), que emerge como un elemento crucial, ya que su presencia aumenta significativamente la morbimortalidad de los pacientes. La NL es una glomerulonefritis capaz de afectar a aproximadamente la mitad de los pacientes con LES, y se considera una causa importante de insuficiencia renal. En consecuencia, la detección precoz y el tratamiento temprano de la NL son esenciales para prevenir y mejorar el pronóstico de los pacientes (Morell, Pérez-Cózar, & Marañón, 2021).

Además, los datos que indican que el LES tiene una mayor gravedad en personas de ascendencia africana y latinoamericana, y la NL, es más común en individuos afroamericanos, hispanos y asiáticos que en caucásicos (Anders et al., 2020; Nusbaum et al., 2020; Parikh, Almaani, Brodsky, & Rovin, 2020) subrayan la importancia de la investigación en la población boliviana.

Por lo que en las últimas décadas la búsqueda de biomarcadores de actividad y de afección específica de órgano, sobretudo en NL, ha sido una tendencia por la necesidad apremiante de identificar biomarcadores que sean no invasivos, sensibles y específicos que permitan una respuesta terapéutica más oportuna y, en última instancia mejoren la calidad de vida de los pacientes. En este contexto, el presente estudio se enfoca en la evaluación de la β 2Microglobulina y la Semaforina3A, mediante el análisis de la expresión génica en orina.

2 MARCO TEORICO

2.1 Lupus Eritematoso Sistémico y Nefritis Lúpica

2.1.1 Definición

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune que afecta a todo el cuerpo y se caracteriza por brotes impredecibles y remisiones. Su patogénesis implica la activación aberrante del sistema inmunológico en individuos genéticamente susceptibles, influenciada por factores ambientales. Se han identificado varios autoanticuerpos en pacientes con LES que provocan inflamación de diversos órganos y tejidos del cuerpo, lo que resulta en una amplia gama de síntomas clínicos que van desde fatiga leve y dolor articular hasta daño orgánico grave (Durcan, O'Dwyer, & Petri, 2019; Kaul et al., 2016; Kiriakidou & Ching, 2020; Lisnevskaja, Murphy, & Isenberg, 2014; Rivera F, 2020).

La nefritis lúpica (NL) se refiere específicamente a la afectación renal en pacientes con LES, siendo una de las complicaciones más graves y frecuentes de la enfermedad. La NL es el resultado de la interacción entre la respuesta inmunitaria sistémica y la intrarrenal, mediada por complejos inmunes (Anders et al., 2020; Lorenz, Desai, & Anders, 2014; Parikh et al., 2020).

2.1.2 Epidemiología

El LES es una enfermedad que no conoce frontera geográfica y afecta a personas de todas las nacionalidades y etnias en todo el mundo. Se considera una de las 20 causas principales de muerte en mujeres de 5 a 64 años (Fava & Petri, 2019). Según datos de la *The Lupus Foundation of America*, se estima que aproximadamente 1,5 millones de estadounidenses y al menos 5 millones de personas en todo el mundo padecen alguna forma de lupus (Ugarte-Gil, Gonzalez, & Alarcon, 2019).

Durante el curso de la enfermedad, entre un 25 y un 50% de los pacientes con LES desarrollaran nefritis lúpica (NL). Los pacientes con LES activo, especialmente aquellos

con formas de moderadas a graves, presentan un mayor riesgo de desarrollar NL (Anders et al., 2020; Danila et al., 2009). La NL puede manifestarse tempranamente en el 10% de los casos, pero suele ocurrir dentro del primer año después del diagnóstico y, casi siempre, dentro de los primeros 5 años de la enfermedad. No obstante, es importante destacar que la NL puede surgir en cualquier momento a lo largo del curso de la enfermedad (Anders et al., 2020; Danila et al., 2009; Mok, 2010).

2.1.2.1 Factores que influyen la Frecuencia del LES

La frecuencia del LES está influenciada por diversos factores, incluyendo la edad, el sexo y la raza. El diagnóstico de LES suele ocurrir en una edad media de entre 24 y 32 años (Ugarte-Gil et al., 2019), siendo más prevalente en personas entre 15 y 55 años. Sin embargo, aproximadamente el 20% de los casos se presentan en pacientes antes de los 16 años y el 15% después de los 55 años (Hiraki et al., 2012). Los pacientes con LES que desarrollan NL tienden a presentarse a una edad más temprana en comparación con aquellos sin nefritis (Anders et al., 2020; Parikh et al., 2020).

El LES puede ocurrir en ambos sexos, pero existe una clara predominancia en mujeres en edad fértil, con una proporción que varía de 7 a 15 veces más casos en mujeres a lo largo de la vida (Izmirly et al., 2017). Los hombres con LES, aunque menos comunes, suelen experimentar una enfermedad más agresiva, con mayores tasas de afectación renal y un mayor riesgo de desarrollar insuficiencia renal en comparación con las mujeres (27-75% versus 16-52%, respectivamente) (Anders et al., 2020; Dall'Era et al., 2017; Parikh et al., 2020; Somers et al., 2014).

La incidencia y prevalencia del LES también varían según la raza y la etnia. Estudios como LUMINA (*Systemic Erythematosus Lupus in Minorities: Nature vs Nurture*) y GLADEL (Grupo Latino Americano De Estudio del Lupus) han revelado disparidades en la incidencia y prevalencia del LES en diferentes grupos étnicos, incluyendo hispanos–mestizos, afroamericanos y caucásicos (Alarcon et al., 2006; Pons-Estel et al., 2015). Se ha observado una mayor frecuencia de LES en mujeres de raza negra, hispanas

y asiáticas en comparación con mujeres de raza caucásica, con una enfermedad aproximadamente 2 a 4 veces más frecuente en estos grupos (Dall'Era et al., 2017; Izmirly et al., 2017; Lim et al., 2014; Somers et al., 2014). Del mismo modo, el origen árabe se asoció con un aumento doble en la incidencia de LES en comparación con origen no árabe entre los blancos estadounidenses en el sureste de Michigan (Housey et al., 2015). Además, se ha observado una mayor gravedad de la enfermedad en pacientes de ascendencia africana y latinoamericana en comparación con las mujeres de raza caucásica (Parikh et al., 2020).

En relación a la NL, su frecuencia es más alta en individuos afroamericanos (34-51%), hispanos (31-43%) y asiáticos (33-55%) en comparación con individuos blancos (14-23%) en pacientes con LES. Además, se ha observado una asociación entre la frecuencia del NL y el estado socioeconómico, siendo más prevalente en áreas geográficas más pobres (Anders et al., 2020; Nusbaum et al., 2020; Parikh et al., 2020). Las razones para esto no están claras, pero estudios recientes pueden arrojar algo de luz. Estudios han revelado que en áreas urbanas de bajos recursos, los pacientes con NL tienen más dificultades para acceder a la atención médica adecuada, con un mayor uso de servicios de emergencia y barreras económicas para recibir medicación inmunosupresora (Oyoo & Mody, 2007; Ward, 2010).

2.1.2.2 Tasa de Incidencia en el mundo

La incidencia global del LES varía significativamente en diferentes regiones del mundo. En general, se reporta una incidencia de 1 a 8,7 casos por cada 100.000 habitantes por año, aunque algunos estudios han informado estimaciones mucho más altas, llegando a 23,2 por 100.000 personas por año (Anders et al., 2020). Las tasas de incidencia varían en diferentes países y continentes, siendo más bajas en África (0,3), Europa (1,0-4,9), Asia (0,3-8,4), América Central (4,6-6,3) y Sudamérica (4,8-8,7), y más altas en América del Norte (1.0 a 23.2) (Ugarte-Gil et al., 2019).

En los últimos años, se han publicado estudios que proporcionan estimaciones de la incidencia en países específicos (Fig. 1). Por ejemplo, en Estados Unidos, se reportó una incidencia de 7.2 entre 2003 y 2008 (Furst et al., 2013), mientras que en Canadá en 2003 fue de 3.0 (Bernatsky et al., 2007). En países europeos, como Francia en 2010 se estimó en 3.32 (Arnaud et al., 2014), y en el Reino Unido durante el periodo de 1999 a 2012 fue de 4.9. Las tasas de incidencia son ligeramente más bajas debido a la composición étnica predominantemente caucásica. Sin embargo, se observan notables diferencias entre distintas razas de mujeres negras y blancas en ambos países (Rees et al., 2016).

En países nórdicos, como Noruega entre 1999 y 2008 fue de 3,0 (Lerang, Gilboe, Garen, Thelle, & Gran, 2012), y en Dinamarca entre 1995 y 2011 fue de 2.35 (Hermansen, Lindhardsen, Torp-Pedersen, Faurschou, & Jacobsen, 2016).

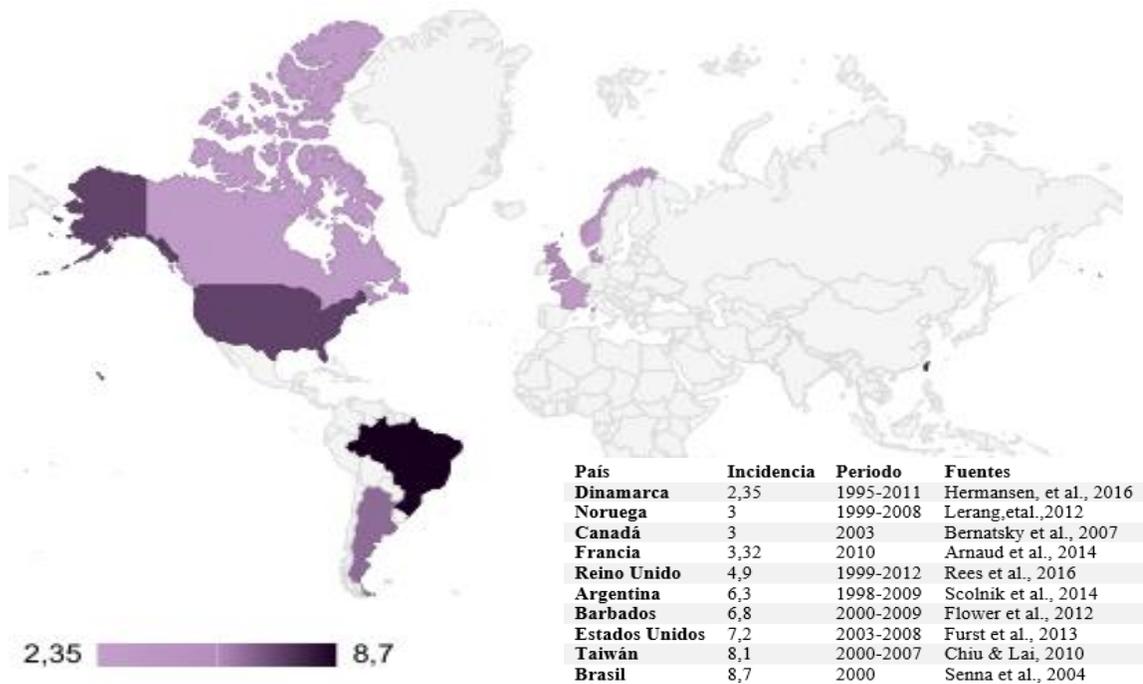


Figura 1. Tasa de Incidencia de Lupus eritematoso sistémico por países

En América Central-y Barbados, se reportó una incidencia de 6.8 entre 2000 y 2009 (Flower et al., 2012), y en Asia, específicamente en Taiwán, la incidencia fue de 8.1 entre 2000 y 2007 (Chiu & Lai, 2010). En América del Sur, el Programa Orientado a la

Comunidad de la Organización Mundial de la Salud/Liga Internacional de Asociaciones de Reumatología (OMS/ILAR) para el Control de Enfermedades Reumáticas (COPCORD) informó una incidencia de 8,7 en Brasil en el año 2000 (Senna et al., 2004), y una incidencia de 6,3 en Argentina entre 1998-2009 (Scolnik et al., 2014).

Un análisis por raza/etnia basado en datos de una cohorte de pacientes inscritos entre 2000 y 2004 en Medicare, el seguro de salud administrado por el gobierno de los Estados Unidos para personas de bajos ingresos, reveló una mayor incidencia de NL entre los afroamericanos (10,65 por 100.000 personas por año), hispanos (6,88 por 100.000 personas por año) y asiáticos (5,46 por 100.000 personas por año) en comparación con la población blanca (4,07 por 100.000 personas por año) (Anders et al., 2020).

2.1.2.3 Tasa de Prevalencia en el mundo

La prevalencia del LES varía en todo el mundo, y se han informado diferentes estimaciones en diversos estudios. A nivel global, la prevalencia promedio del LES se sitúa entre 20 a 180 casos por cada 100.000 habitantes, aunque algunos estudios han reportado cifras significativamente más altas, llegando a 241 casos por cada 100.000 habitantes. Las tasas de prevalencia del LES por cada 100,000 habitantes muestran mayor variabilidad que las de incidencia. La prevalencia reportada del LES en estudios a nivel mundial han oscilado entre: 0 hasta 89,0 en Australia; 3,2 hasta 97,5 en Asia; 16,1 hasta 110,0 en Europa; 50 hasta 98 en América del Sur; 47,6 hasta 159,0 en América Central y desde 15,3 hasta 241,0 en América del Norte por cada 100,000 habitantes (Ugarte-Gil et al., 2019).

En países de América del Norte, como Canadá en el año 2003 la tasa de prevalencia se registró en 32,8 (Bernatsky et al., 2007), mientras que en México se calculó en 90 en el año 2005 (Pelaez-Ballesteros et al., 2011) y en Estados Unidos se estimó en 102,9 en el periodo 2003 a 2008 (Furst et al., 2013). En países de América Central, como Barbados, la prevalencia se estimó en 84,1 en el periodo 2000 a 2009 (Flower et al., 2012), y en Cuba se estimó en 60 en el año 2006 (Reyes-Llerena et al., 2009). En países de América

del Sur, se reportó una prevalencia de 98 en Brasil en el año 2000 (Senna et al., 2004), 91.9 en Colombia en el periodo 2012 a 2016 (Fernandez-Avila, Bernal-Macias, Rincon-Riano, Gutierrez Davila, & Rosselli, 2019), 50 en Perú en el año 2004 (Gamboa et al., 2009), y 58.6 en Argentina entre los años 1998 y 2009 (Fig.2) (Scolnik et al., 2014).

En países Nórdicos como Noruega, se estimó en 51.8 en el periodo 1999 a 2008 (Lerang et al., 2012), y 45.2 en Dinamarca en el periodo de 1995 a 2011 (Hermansen et al., 2016), al igual que en Francia 40.8 en el año 2010 (Arnaud et al., 2014). Sin embargo, en otros países europeos, la tasa de prevalencia es aún más elevada. En el Reino Unido, se ha calculado una tasa de prevalencia de 97.0 en el periodo 1999 a 2012 (Rees et al., 2016), mientras que en España, el Estudio Epidemiológico de la Sociedad Española de Reumatología (EPISER) en 2016 estimó una prevalencia de hasta 210 casos,



Figura 2. Tasa de Prevalencia de Lupus eritematoso sistémico por países

evidenciando ser la más alta (Seoane-Mato et al., 2019). En países asiáticos como Taiwán, la prevalencia se estimó en 67,4 en el año 2007 (Fig.2) (Chiu & Lai, 2010).

Un análisis por raza/etnia utilizando datos de una cohorte de pacientes inscritos entre 2000 y 2004 en Medicare, el seguro de salud administrado por el gobierno de los Estados Unidos para personas de bajos recursos, reveló una mayor prevalencia de NL entre los afroamericanos (59,69 por cada 100.000 personas), los hispanos (29,84 por cada 100.000 personas) y asiáticos (56,56 por cada 100.000 personas) en comparación con la población blanca (15,83 por cada 100.000 personas) (Anders et al., 2020).

2.1.2.4 Datos en Bolivia

En Bolivia, actualmente no se disponen de estimaciones nacionales sobre la prevalencia e incidencia del LES. Sin embargo, se han realizado algunos estudios a nivel local para obtener información sobre la enfermedad en el país.

En el instituto de Servicios de Laboratorio de Diagnóstico e Investigación en Salud (SELADIS) de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas (FCFB) de la Universidad Mayor de San Andrés (UMSA) en ciudad de La Paz, en 2014 fueron atendidos en su institución 130 casos de lupus (Pérez, Peñaranda, Flores, Guzmán y Yuri Flores, & Saravia, 2014).

En el Hospital Clínico Viedma, Caja Nacional De Salud y la Universidad Mayor de San Simón (UMSS) de la ciudad de Cochabamba, se llevó a cabo un estudio durante el periodo de 2000 a 2004, donde se registraron un total de 131 pacientes con LES, de los cuales 59 tenían historias clínicas completas. Se observó una relación femenina y masculina de 11:1, y el grupo de edad más afectado fue el de 31 a 40 años (27%), aunque con una ligera prevalencia en comparación con otros grupos etarios. Además, se encontró que el 85% de las mujeres se encontraban en edad reproductiva (Peredo Guzman, Lazo Villarte, & Lopez Flores, 2006).

En el Hospital Clínico Viedma y la Universidad Mayor de San Simón (UMSS) en la ciudad de Cochabamba, durante el periodo de 2010 a 2015, se registraron un total de 94 pacientes con LES en los servicios de medicina interna, reumatología y nefrología (Espinoza Cuevas, Calcina Cuevas, Mamani Ortiz, Jiménez de Sánchez, & E., 2015).

Según un documento del Servicio Departamental de Salud (SEDES) en la ciudad de Santa Cruz, se tiene registro de 142 casos de lupus en la región, de los cuales 9 corresponden a varones y 133 a mujeres. Estos datos fueron mencionados durante un conversatorio entre reumatólogos y pacientes con lupus ("Reumatólogos de Santa Cruz tuvieron un conversatorio con pacientes que sufren de Lupus," 10 de mayo de 2019).

2.1.3 Etiología

La causa exacta del lupus no se comprende completamente, pero se cree que es el resultado de una combinación de predisposición genética (personas con antecedentes familiares de la enfermedad tienen un mayor riesgo de desarrollarla), factores hormonales (los estrógenos, pueden desempeñar un papel en el desarrollo del lupus, ya que la enfermedad es más común en mujeres en edad fértil) y exposiciones a ciertos factores ambientales físicos (como la luz ultravioleta del sol), químicos (como la exposición ocupacional a la sílice), infecciosos (la respuesta inmune de un individuo a la infección el virus Epstein Barr genera reacción cruzada con el antígeno Ro de 60 kDa), farmacológicos (se estima que entre el 80 y el 90% de los individuos tratados con la procainamida pueden desarrollar ANA), inclusive dietéticos (una investigación preliminar sugirió una asociación entre el consumo de brotes de alfalfa y el desarrollo de LES) (Aguirre Zamorano, López Pedrera, & Cuadrado Lozano, 2010; Anders et al., 2020; Fanouriakis, Tziolos, Bertsias, & Boumpas, 2021; Felechosa, Gallego, Fernández, & Alvarez, 2013; Kamen, 2014; Kaul et al., 2016; Lisnevskaja et al., 2014; Maria & Davidson, 2020; Mok & Lau, 2003; Nusbaum et al., 2020; Parikh et al., 2020; Parks, de Souza Espindola Santos, Barbhaiya, & Costenbader, 2017; Tsokos, 2020; Tsokos, Lo, Costa Reis, & Sullivan, 2016).

2.1.4 Patogenia

La patogenia del lupus involucra una respuesta inmunológica anormal en la que el sistema inmunológico del cuerpo ataca a sus propios tejidos y órganos. A continuación, se destacará los hallazgos clave sobre los procesos inmunológicos en el LES y su relación con la NL (Fig. 3) (Anders et al., 2020).

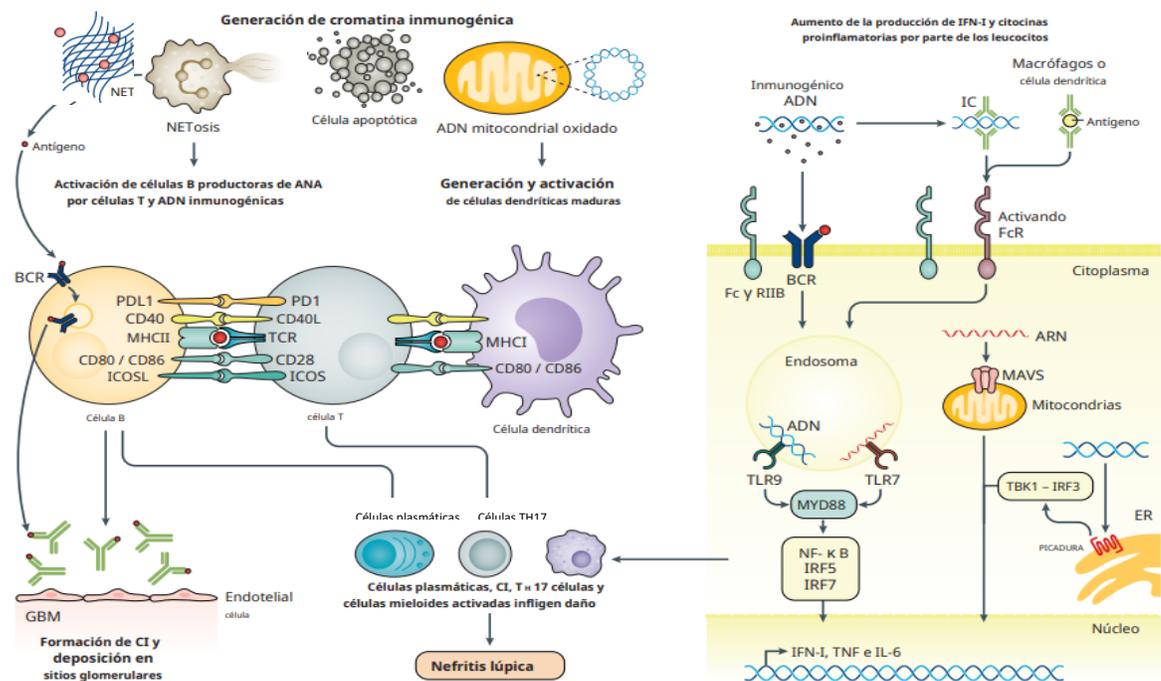


Figura 3. Mecanismos patogénicos de la NL

La nefritis lúpica (NL) está causada por una respuesta inflamatoria a cromatina endógena inmunogénica, como ADN mitocondrial oxidado y ácidos nucleicos endógenos en exosomas y las microvesículas derivadas de la apoptosis. La acumulación de esta cromatina puede ser particularmente prominente en pacientes con alelos asociados al lupus eritematoso sistémico (LES) en genes implicados en la limpieza de la cromatina (por ejemplo, varias DNAsas). Este material nuclear activa los sensores de ADN y ARN en los endosomas (por ejemplo, TLR7, TLR8 y TLR9) y el citosol (por ejemplo, RIG1/MDA5-MAVS y CGAS-STING) de las células inmunitarias innatas y las células B, que producen mayores niveles de interferón de tipo I (IFN-I) y diversas citocinas proinflamatorias. Además, las células dendríticas inmaduras se activan para convertirse en células dendríticas maduras, que activan las células T autoreactivas. En el LES, las células B se activan de forma persistente debido a polimorfismos genéticos en varios genes (como BANK1, BLK, CSK, LYN, RASGRP3 y TLR7), y producen de forma persistente autoanticuerpos (como anticuerpos antiADN) en respuesta a células endógenas portadoras de cromatina, ligandos y mediadores (como BAFF). Las células T desempeñan papeles esenciales en la patogénesis del LES; en particular, las células T foliculares helper activan las células B del centro germinal para producir autoanticuerpos, y las células T helper 17 (células TH17) productoras de IL-17 impulsan la lesión renal. Los leucocitos autorreactivos, los complejos inmunes (CI) y varios genes de susceptibilidad al LES y la NL están implicados en la lesión renal, mediado por diversas citocinas, quimiocinas y factores de crecimiento. Las proteínas del complemento también participan en la

patogénesis de la NL; una disminución en el nivel circulante del complemento y el depósito y/o activación intrarrenal del complemento se asocian con la NL y también pueden ser marcadores de diagnóstico de la NL. Se han identificado varias moléculas como diana para el tratamiento del LES y/o la NL, entre ellas BAFF, marcadores de células B (CD20 y CD22), moléculas coestimuladoras inmunes (CD40L, CTLA4 e ICOSL), citocinas (IL-6, IFN γ e IFN α), sensores de ácidos nucleicos citosólicos y endosómicos y otros mediadores (TWEAK-FN14 y receptor Fc γ (Fc γ R); no se muestra). Cabe destacar que, aunque se representan como secuenciales, es probable que todos o un subconjunto de estos eventos se hiperactiven simultáneamente, según lo determine la composición genética del paciente. ANA: anticuerpo antinuclear; BCR: receptor de células B; ER: retículo endoplásmico; GMB: membrana basal glomerular; MHC: complejo mayor de histocompatibilidad; NET: trampa extracelular de neutrófilos; NF- κ B: factor nuclear- κ B; TCR: receptor de células T (Anders et al., 2020).

2.1.4.1 Mecanismos de la inmunopatogénesis de LES extra-renales

Los mecanismos de la inmunopatogénesis del LES extra-renal son complejos, se ha observado que existe una disfunción en el sistema de eliminación de células apoptóticas, lo cual conduce a la exposición de antígenos propios al sistema inmune y su posterior reconocimiento como cuerpos extraños. A continuación, se detallan algunos mecanismos inmunológicos involucrados:

Antígenos endógenos y mimetismo molecular: Se presume que tanto la apoptosis como la NETosis ocurren en exceso en pacientes con LES lo que resulta en un aumento de la carga de autoantígenos nucleares (provenientes de exosomas de ADN mitocondrial oxidado, blebs apoptóticos y NETs (trampas extracelulares de neutrófilos)) expuestos al sistema inmune. Además existe la posibilidad de que antígenos provenientes de estructuras exógenas que guardan mimetismo con las del propio organismo, induzcan una reacción cruzada frente a antígenos propios (Parks et al., 2017; Pieterse & van der Vlag, 2014; Tsokos et al., 2016).

Persistencia de autoantígenos nucleares: En LES hay defectos en la eliminación de células apoptóticas y las NET que llevan a una acumulación de autoantígenos nucleares presentes en el entorno extracelular. Estos defectos pueden ser atribuidos a la alteración de las proteínas opsonizantes como IgM, leptina fijadora de manosa, amiloide sérica P, proteína C reactiva y C1q que siempre que las partículas nucleares alcanzan el espacio extracelular las marcan para ser rápidamente eliminadas por los fagocitos. Así como, a la expresión alterada de los componentes de la señalización del receptor Fc en monocitos

y macrófagos, que afecta la fagocitosis de los blebs apoptóticos. Además, se ha detectado una disminución de la actividad de las nucleasas (DNAsa I) que digieren los ácidos nucleicos liberados, como la cromatina (Lorenz et al., 2014; Pieterse & van der Vlag, 2014; Pisetsky & Lipsky, 2020).

Respuesta inmune pseudo-antiviral: El material apoptótico se vuelve autoinmunogénico debido a la pérdida del enmascaramiento epigenético, siendo reconocido como ácido nucleico viral por los receptores del sistema inmunológico innato (Anders & Fogo, 2014; Anders et al., 2020; Lech & Anders, 2013).

Tanto el ADN/ARN propio como el ADN/ARN extraño del virus activan los receptores de ARN y ADN endosómicos (por ejemplo, TLR3,7 y -9) y citosólicos (por ejemplo, RIG1/MDA5-MAVS y CGAS-STING) de las células inmunitarias innatas y de los linfocitos B. La vía dependiente de TLR y el sistema cíclico GMP-AMP sintasa (cGAS) estimulador de genes de interferón (STING) conduce a una respuesta inmune pseudo-antiviral con la producción de interferón tipo I (IFN-I), en particular el $IFN\alpha$, que incrementa la producción de NETs en neutrófilos circulantes y promueve la diferenciación de monocitos en DC (Borchers et al., 2012; Smith, Lythgoe, Midgley, Beresford, & Hedrich, 2019).

Las células dendríticas (DC) activadas a su vez por el por ADN endógeno conducen a la sobreexpresión de TLR en linfocitos B autorreactivos promoviendo respuestas autoinmunes adaptativas. Los autoanticuerpos y/o complejos inmunes derivados de linfocitos B también pueden estimular de nuevo a las DC para producir $IFN\alpha$. Los anti-RNP contra la ribonucleoproteína U1snRNP, por otro lado, inducen NETosis en los neutrófilos de aproximadamente dos tercios de los pacientes con LES. Las DC activadas productoras de $IFN\alpha$ son más eficaces en la presentación de antígenos (incluidos los autoantígenos) que activan linfocitos T $CD4^+$ autorreactivos que ayudan a los linfocitos B en su diferenciación con la consecuente producción de autoanticuerpos (Borchers et al., 2012; Lech & Anders, 2013; Smith, Lythgoe, Midgley, Beresford, & Hedrich, 2019).

Las DC tienen un período de vida limitado, pero su activación persistente por los autoantígenos del lupus que activan la señalización por TLR7 y TLR9 mejora su supervivencia y las hace resistentes a la muerte inducida por glucocorticoides. Esto sugiere que la señalización exagerada de TLR7 o TLR9 podría ser responsable de la disminución de la respuesta a los corticosteroides en los pacientes con LES en comparación con los pacientes con otras enfermedades inflamatorias (Anders & Fogo, 2014; Anders et al., 2020; Lech & Anders, 2013).

Mientras que los complejos inmunes (CI) que contienen ARN son ingeridos por fagocitos, en los que interactúan con sensores de ARN intracitoplasmático que incluyen el gen 1 inducible por ácido retinoico y las vías de la proteína 5 asociada a la diferenciación del melanoma, que pueden conducir a la producción de interferón tipo I cuando es estimulado por ARN que ha entrado en las células en forma de complejos inmunes con anticuerpos anti-RBP (Pisetsky & Lipsky, 2020).

Por tanto, los síntomas inespecíficos del LES activo, como fiebre, fatiga, artralgia y mialgia, son idénticos a los de una infección viral aguda (Anders & Fogo, 2014; Anders et al., 2020; Lech & Anders, 2013).

Producción de anticuerpos: En el LES existe una ruptura de la tolerancia en muchos puntos de reconocimiento intermedio, lo que permite la producción de autoanticuerpos. Por ende, los linfocitos T y B desempeñan un papel importante en la patogenia del LES (Justiz Vaillant, 2020).

La generación de linfocitos T autorreactivos que han resistido a la inducción de apoptosis por las células estromales del timo, es esencial en la patogénesis del LES porque una vez que son activados por las DC se convierten en linfocitos T autorreactivos efectores que producen citocinas y expresan moléculas de superficie celular que apoyan la amplificación de una respuesta inmune autodirigida, así como la inflamación. Los linfocitos T de pacientes con LES expresan fácilmente el ligando CD40 (CD40L) después de la activación debido a la hipometilación de TNFSF5 ubicado en el

cromosoma X y, mantienen la expresión de esta importante molécula coestimuladora durante más tiempo que los linfocitos T derivados de controles sanos. La molécula CD40L promueve la diferenciación y proliferación de los linfocitos B, así como la producción y cambios de clase de autoanticuerpos. En pacientes con LES también se ha visto incrementada la expresión de la molécula de adhesión CD44 en los linfocitos T que favorece su capacidad para emigrar a órganos con inflamación. Por ello, el aumento de los linfocitos T se correlaciona con el nivel de actividad, y con la presencia de daño orgánico y de anticuerpos (Crispin et al., 2010).

En LES los linfocitos T autorreactivos efectores pueden reaccionar con una respuesta colaboradora o “*helper*” CD4+ (Th) de subtipos proinflamatorios, como los linfocitos Th1 que secretan INF- γ , IL-6, IL-10 e IL-12 que son citocinas que aumentan la producción de células mononucleares, y los linfocitos Th17 que secretan IL-17 e IL-23 que son citocinas que contribuyen al reclutamiento de células inflamatorias como neutrófilos que pueden inducir daño tisular directo, a través, de lesión endotelial e infiltración de órganos diana. Además, en sujetos con LES en lugar de los linfocitos Th17 (CD4+ IL-17+) se encontró linfocitos T dobles negativos (DN) que se expanden notablemente, y constituyen la fuente principal de IL-17 (Anders et al., 2020; Borchers et al., 2012; Justiz Vaillant, 2020; Kaul et al., 2016; Tsokos, 2020).

Los linfocitos Th foliculares (Fh) evolucionan a partir de los linfocitos T CD4+ en presencia de IL-6, IL-21 y el coestimulador de linfocitos T inducible (ICOS). Promueven la activación de los linfocitos B autorreactivos en el centro germinal que conduce a la diferenciación, proliferación y producción de autoanticuerpos que son generalmente de alta afinidad, sobretodo de tipo IgG (que pueden acceder mejor a los espacios extravasculares), luego de un cambio de clase IgM resultado de la hipermutación somática, que ocurre con la progresión de la enfermedad y el desarrollo del daño tisular. Dado que los linfocitos Th Fh pueden ser esenciales para la diferenciación de los linfocitos B productores de autoanticuerpos patogénicos, también

representan un importante objetivo terapéutico (Anders et al., 2020; Borchers et al., 2012; Justiz Vaillant, 2020; Kaul et al., 2016; Tsokos, 2020).

Las respuestas citotóxicas de linfocitos T CD8+ citotóxicos (CTL) en LES se asocia con un mal pronóstico debido a su papel en mediar el daño tisular. Al causar daño tisular, tales CTL generan autoantígenos, en particular nucleosomas, que luego pueden ser presentados por DC para finalmente activar aún más linfocitos B autorreactivos. Sin embargo, en LES está expandida una población de CTL CD8+CD38+ que muestra una menor producción de granzimas y perforina y, una menor capacidad citotóxica, lo que contribuye a aumentar las tasas de infección y, por lo tanto constituyen otra fuente de antígenos (Justiz Vaillant, 2020; Kaul et al., 2016; Tsokos, 2020).

Algunos estudios han mostrado un relativo agotamiento en el número de linfocitos T reguladores (Treg) a causa de la producción deficiente de IL-2, que podría contribuir a la activación del sistema inmunológico y autoinmunidad. Por ello, la administración de dosis bajas de IL-2 a personas con LES produce un beneficio clínico (Anders et al., 2020; Borchers et al., 2012; Justiz Vaillant, 2020; Kaul et al., 2016; Tsokos, 2020).

Los linfocitos B maduran y se expanden gracias a la ayuda de los linfocitos T lo que contribuye a la producción de autoanticuerpos. Los linfocitos B a su vez presentan antígenos solubles internalizados a los linfocitos T. Esto crea un bucle en el que tanto los linfocitos B como los T se activan entre sí, lo que conduce a una mayor autoinmunidad. Los factores de supervivencia, proliferación y diferenciación de los linfocitos B como es el exceso de BlyS, también llamado factor activador de linfocitos B (BAFF), un ligando inductor de proliferación (APRIL) e IL-21 y la activación de los TLR, también tienen un papel esencial en impulsar la activación de los linfocitos B para la consecuente diferenciación y el cambio de clases de Ig (Pieterse & van der Vlag, 2014).

En LES los linfocitos B se activan de forma excesiva debido a polimorfismos en varios genes (como BANCO1, NEGRO, CSK, LYN, RASGRP3 y TLR7). Los linfocitos B

pueden responder a los ácidos nucleicos a través del reconocimiento antigénico directo mediante los TLR o mediante receptores IgM de superficie para complejos formados por proteínas y ácidos nucleicos. Además, después de la formación de autoanticuerpos, los linfocitos B también pueden captar ácidos nucleicos, a través, de algunos polimorfismos en los receptores Fc (FcγR) que fijan IgG, internalizando complejos inmunes y opsonizando antígenos, participando en su presentación y en la regulación de la respuesta inmune. Otro mecanismo que contribuye a la excesiva reactividad de linfocitos B es el nivel reducido de Lyn una tirosina-kinasa que al igual que los receptores de superficie CD22 y FcγRIIB, mandan señales inhibitorias de linfocitos B (Pieterse & van der Vlag, 2014).

Es posible que en los pacientes con LES, las partículas nucleares endógenas sean un adyuvante inmunitario endógeno que vaya unido a un antígeno en una configuración conocida como “hapteno-transportador”. Un ejemplo de esto son los nucleosomas, formados por ADN e histonas, que componen la estructura básica de la cromatina. En consecuencia, el ADN se vuelve inmunogénico y desencadena la producción de anticuerpos con especificidad para proteínas de unión de ADN (cromatina y dsDNA) y/o de ARN (como Ro, La, Sm y RNP) característicos del LES (Anders & Fogo, 2014; Kaul et al., 2016).

Capacidad disminuida para eliminar los CI: El sistema del complemento participa en el aclaramiento de CI en la circulación o tejidos, sin embargo, la desregulación del sistema del complemento en pacientes con LES afecta la eliminación de complejos inmunes, contribuyendo a la persistencia de la inflamación y el daño tisular. Por ejemplo, las DC inmaduras producen grandes cantidades de C1q hasta que se activan y, entonces disminuyen la capacidad de síntesis de C1q, que se asocia a la inducción de respuestas inmunogénicas. Estos mecanismos podrían explicar en parte, la asociación entre el déficit de C1q y el LES (Crispin et al., 2010). Por otro lado, la activación del complemento también participa en el reclutamiento de células inflamatorias hacia

lugares de depósito de CI, que resulta en la liberación de citocinas inflamatorias y también, daño tisular (Lech & Anders, 2013).

Cronicidad: La activación sostenida de las respuestas inmunes frente a autoantígenos altera la interpretación de los mismos desde la ignorancia inmunológica y la anergia de los linfocitos hacia la activación y la proliferación lo que conduce a una autoinmunidad mediante la producción de autoanticuerpos contra diversas dianas (una característica diagnóstica del LES) que ocurre con la progresión de la enfermedad. Eso y su falta de eliminación efectiva contribuye a la cronicidad del LES y, por ende al desarrollo del daño tisular (Anders & Fogo, 2014; Anders et al., 2020; Justiz Vaillant, 2020; Kaul et al., 2016).

Por otra parte, los niveles de concentración de los autoanticuerpos en LES depende de su origen. Por ejemplo, los anticuerpos anti-RBP (proteínas de unión a ARN), en vista de su expresión a menudo persistente durante años o décadas, parecen surgir de células plasmáticas de larga vida, plasmocitos que residen en nichos protectores de la médula ósea, de ahí que difícilmente puedan eliminarse con las terapias inmunosupresoras actuales. Por lo tanto, los tratamientos actuales suprimen la actividad de la enfermedad sin poder curar la autoinmunidad en el lupus.

Por el contrario, los anticuerpos anti-ADN parecen surgir de plasmablastos recién generados que requieren proliferación para su diferenciación o mantenimiento, y algunas evidencias sugieren que estas células pueden surgir de linfocitos B vírgenes que podrían ser más susceptibles a la terapia. Curiosamente, durante el tratamiento con belimumab, la reducción de los títulos de anticuerpos anti-ADN supera la de los anticuerpos anti-RBP, lo que proporciona evidencia adicional de que estos autoanticuerpos surgen de distintos mecanismos (Anders & Fogo, 2014; Anders et al., 2020; Kaul et al., 2016; Pisetsky & Lipsky, 2020).

2.1.4.2 Mecanismos de la inmunopatogénesis de la NL

En la NL, los inmunocomplejos desencadenan un papel clave en la inmunopatogénesis de la enfermedad contribuyendo a la activación de la vía del complemento, reclutamiento de células inflamatorias y generación de daño renal. A continuación, se exploran los mecanismos de deposición de anticuerpos anti-dsDNA en el riñón (Fig.4).

Depósito de CI circulantes preformados: Los anticuerpos anti-dsADN pueden formar CI con ADN circulante y micropartículas de ADN (MP). Estos complejos se depositan en la membrana basal glomerular y activan la vía clásica del complemento para reclutar células inflamatorias e inducir daño mediante el complejo de ataque a la membrana (Fig. 4a). Esta teoría ahora ha sido refutada ya que los complejos inmunes preformados son difíciles de detectar en la sangre, y los estudios han demostrado que solo se localizan transitoriamente en los glomérulos antes de que el hígado los elimine rápidamente (Yung & Chan, 2012).

Unión de anticuerpos a antígenos depositados: Según la teoría del “antígeno plantado”, los CI pueden formarse *in situ* en el riñón cuando los anticuerpos anti-dsADN se unen directamente con el ADN o MP que ha derivado de la circulación desde las células apoptóticas o necróticas y, ha sido atraído a la membrana basal glomerular (GBM) sobre la base de la carga (Fig. 4b). Se ha observado que las histonas cargadas positivamente en los nucleosomas pueden unirse inicialmente a los proteoglicanos de sulfato de heparán en el GBM a través de interacciones de carga-carga, exponiendo así el componente de ADN del nucleosoma para que actúe como un "antígeno plantado" para anti-dsDNA (Yung & Chan, 2012).

Unión directa a antígenos de reactividad cruzada: Los anticuerpos anti-dsADN pueden unirse directamente a antígenos de reactividad cruzada. Estos antígenos pueden incluir componentes de la matriz extracelular de la membrana basal glomerular, como la laminina, el colágeno tipo IV y el heparán sulfato intrarrenal (Yung & Chan, 2012). Otras dianas de reacción cruzada incluyen proteínas estructurales intracelulares, como

α -actinina-4 y miosina (Borchers et al., 2012; Lech & Anders, 2013; Pisetsky & Lipsky, 2020).

Este mecanismo de reacción cruzada, de interacción directa de los anticuerpos anti-dsADN con la membrana basal glomerular, puede atraer ADN circulante en forma libre o como MP, y servir como nido para la formación de CI (Fig. 4c). En este sentido, como los antígenos nucleares pueden ser componentes de micropartículas, el complejo inmune podría involucrar grandes estructuras (Pisetsky & Lipsky, 2020).

La cronología esquemática que representa el **desarrollo y la progresión de la nefritis lúpica** se presenta en la Fig. 5A (Anders et al., 2020; Maria & Davidson, 2020). La Nefritis Lúpica (NL) principalmente se genera por la lesión glomerular y los daños en el tubulointersticial posterior.

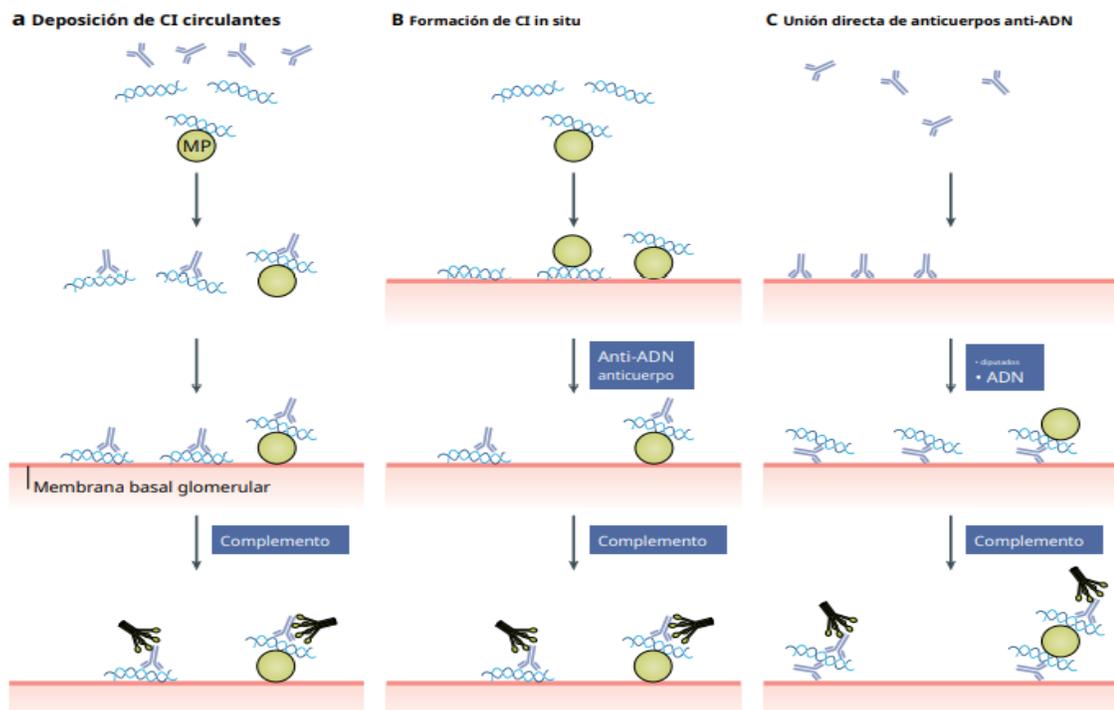


Figura 4. Mecanismos de inducción de glomerulonefritis en el lupus eritematoso sistémico.

Los anticuerpos anti-ADN pueden promover la nefritis mediante varios mecanismos diferentes en el lupus eritematoso sistémico. CI: Complejos Inmunes Modificado de (Pisetsky & Lipsky, 2020).

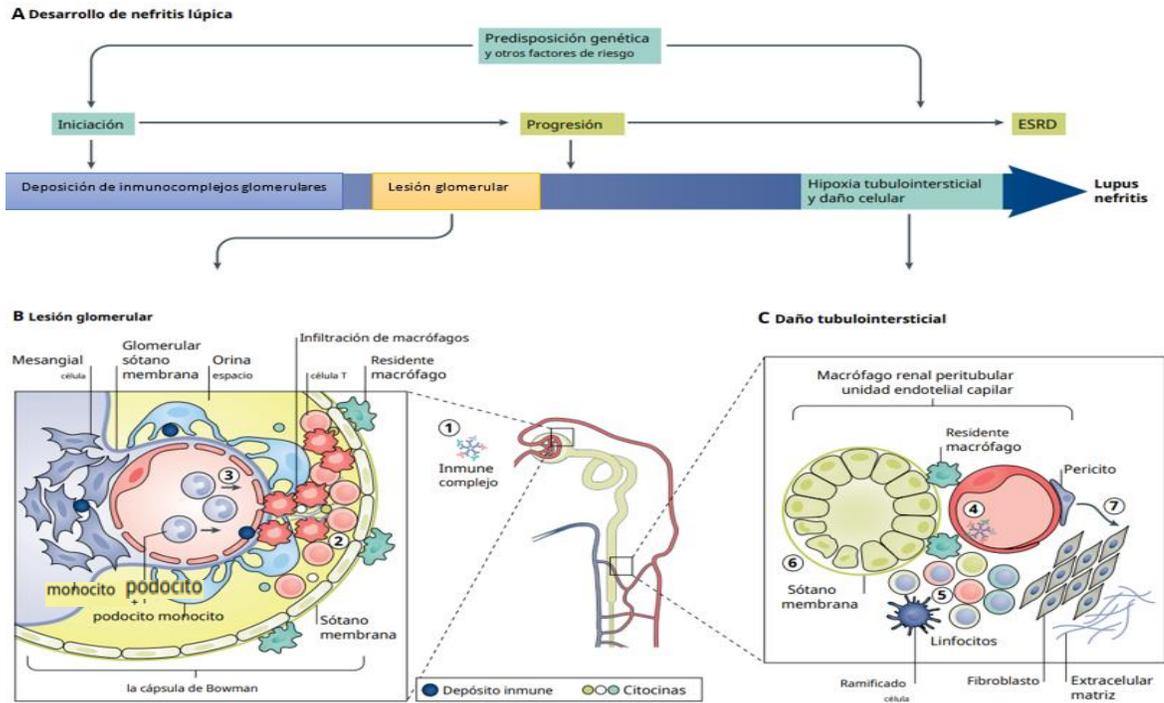


Figura 5. Lesión glomerular y daño tubulointersticial en la nefritis lúpica. ESRD, enfermedad renal en etapa terminal (Maria & Davidson, 2020).

A continuación, se analizan los eventos clave que contribuyen a la **lesión glomerular** (Fig. 5B) (Maria & Davidson, 2020).

Activación de células endoteliales y reclutamiento de células inmunes: Las citocinas proinflamatorias circulantes y el depósito subendotelial de CI (1) desencadenan la activación de células endoteliales a través del exceso de señalización endosomal de los TLR, que posteriormente mediante CCL2 orquestan el reclutamiento glomerular de monocitos CD16+ y linfocitos T CD3+ desde la circulación hacia el glomérulo. Y al posterior reclutamiento de neutrófilos gracias al incremento en la expresión de moléculas de adhesión dentro de la microvasculatura como VCAM1 e ICAM1, que causan daño glomerular incluso en ausencia de autoanticuerpos séricos. Debido, por ejemplo a la persistencia de cromatina apoptótica extracelular expuesta proveniente de las NETs (Pieterse & van der Vlag, 2014) que constituyen una posible fuente intrarrenal de nucleosomas.

Los monocitos infiltrados a medida que comienzan a infiltrarse en el parénquima tisular se diferencian en macrófagos CD16 + proinflamatorios (3) hacia las semilunas (2) que podrían también contener células epiteliales en proliferación de la capa parietal de la cápsula de Bowman. Además la lesión endotelial debida al complemento también pueden formar microtrombos debido a que las células endoteliales estresadas también liberan mediadores proinflamatorios y procoagulantes.

Formación del complejo de ataque a la membrana en los podocitos y en las células mesangiales: La deposición subepitelial y mesangial de CI provoca la formación del complejo de ataque a la membrana en los podocitos y en las células mesangiales, lo que resulta en daño estructural en el glomérulo.

Además, en los podocitos y las células mesangiales, el reclutamiento de células proinflamatorias es limitado debido a su acceso reducido al espacio intravascular. No obstante, estas células amplifican la inflamación al producir citocinas proinflamatorias, como IL-6 e IL-1, quimiocinas y factores de crecimiento, incluido el factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), contribuyendo así a la glomerulonefritis membranosa secundaria y síndrome nefrótico, caracterizados por lesión de podocitos con borramiento del proceso del pie (una reacción de los podocitos a una lesión o daño en la que los procesos epiteliales del pie se aplanan y pierden su función de barrera) lo que resulta en proteinuria.

Las células endoteliales, los podocitos, y las células mesangiales dentro del glomérulo interactúan y se apoyan entre sí: los podocitos producen el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y otros factores angiogénicos necesarios para la supervivencia de las células endoteliales; las células endoteliales producen el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) que se necesita para la supervivencia de las células mesangiales; y las células mesangiales secuestran el factor de crecimiento transformante latente- β (TGF β), protegiendo al endotelio de la apoptosis. Por lo tanto, la lesión progresiva de un tipo de células puede eventualmente provocar daños en los

otros tipos de células glomerulares provocando finalmente la muerte de la nefrona (Maria & Davidson, 2020).

Por tanto, la lesión glomerular implica la deposición de CIs en los glomérulos, lo cual desencadena la activación de células del estroma renal y el reclutamiento de las proteínas de la cascada del complemento circulantes. Esta deposición del intrarrenal conlleva a una disminución consecuente en los niveles de complemento circulante, lo que convierte a las proteínas del complemento en posibles marcadores de diagnóstico de NL (Lech & Anders, 2013).

La formación de CIs en el: mesangio causa lesiones de clase I y II, en células subendoteliales lesiones de clase III y IV, y en podocitos lesiones de clase V, así como las formas superpuestas III/IV y IV/V. En tanto, que la NL de clase VI surge como resultado al daño de membrana basal glomerular que se desencadena la fuga de plasma a la cápsula de Bowman, donde los componentes plasmáticos mitogénicos como el fibrinógeno desencadenan la hiperproliferación de las células epiteliales parietales, en las semilunas del penacho glomerular donde producen una matriz extracelular sobre los podocitos que termina llenando el espacio urinario por proliferación descoordinada, convirtiendo las semilunas celulares en semilunas fibrocelulares, que contribuye al progreso de la glomeruloesclerosis focal y segmentaria hacia la glomeruloesclerosis global, que implica una cicatrización de los glomérulos y pérdida de función (Lech & Anders, 2013).

Por otro lado, la irrigación sanguínea al tubulointersticio renal es proporcionada por la escorrentía de los glomérulos, por tanto, la pérdida glomerular compromete la viabilidad tubulointersticial. A su vez, en la lesión glomerular se producen infiltrados de células inmunitarias proinflamatorias en el área tubulointersticial, que contribuyen a la **lesión tubular**, donde a menudo se acumula nuevo tejido linfoide durante la inflamación crónica (Fig. 5C) (Maria & Davidson, 2020).

Estos infiltrados involucran a los macrófagos renales residentes, que se encuentran ubicados en tejidos alrededor de la cápsula de Bowman en los glomérulos (4), así como en los túbulos y capilares tubulares en la denominada "unidad endotelial capilar peritubular de macrófagos renales". En este entorno, los macrófagos participan en la vigilancia inmunológica y son particularmente susceptibles a la activación mediada por CIs que contienen ácidos nucleicos, a través del acoplamiento con los receptores Fc γ RIV y TLR endosomales.

Posteriormente, se produce la presentación de antígenos a los linfocitos T, junto con la expresión del coestimulador inducible de linfocitos T (ICOS), así como la liberación de citocinas proinflamatorias como IL-6 e IL-21. Estas señales favorecen la diferenciación hacia linfocitos T foliculares (FH) que promueven la diferenciación de los linfocitos B en células plasmáticas que secretan autoanticuerpos dentro de los riñones contra antígenos renales (5). Un ejemplo de estos antígenos es la vimentina, una proteína del filamento intermedio que se libera de forma aberrante de las células lesionadas (Borchers et al., 2012; Lech & Anders, 2013; Maria & Davidson, 2020).

La lesión de las células epiteliales tubulares (6) desencadena la secreción de factores profibróticos por parte de células estromales mesenquimales, como los pericitos que se encuentran en la membrana basal de pequeños vasos peritubulares. Entre estos factores se destaca el factor transformador de crecimiento β , que induce la diferenciación de fibroblastos, lo que resulta en fibrosis renal y daño irreversible (7) (Fig. 5C). Asimismo, el desprendimiento de los pericitos activados del endotelio conduce a la rarefacción capilar una condición caracterizada por la pérdida de estructura capilar y la reducción de la densidad de las redes microvasculares, la cual puede ser irreversible (Maria & Davidson, 2020).

2.1.5 Manifestaciones clínicas

Las manifestaciones clínicas son, en última instancia, un reflejo del daño tisular mediado por las consecuencias inflamatorias de la autoinmunidad, junto con una respuesta de reparación exagerada o aberrante y las complicaciones causadas por la afectación específica de diferentes órganos y aparatos (Fig.6), por lo que varían en cada persona (Kaul et al., 2016).

En ocasiones, un perfil de autoanticuerpos puede ser útil para predecir el curso de la enfermedad y las características clínicas. Varios estudios han indicado el desarrollo de anomalías serológicas varios años antes del inicio del lupus clínico. Esto se denomina lupus preclínico, en el que un paciente puede tener anomalías serológicas compatibles con LES (Justiz Vaillant, 2020).

La evolución del lupus es impredecible se caracteriza por episodios de exacerbación seguidos de episodios de quiescencia. Cuando los síntomas aparecen, se llaman brotes, que varían de moderados a fuertes en intensidad y duración.

Los pacientes con frecuencia presentan molestias inespecíficas, denominados síntomas constitucionales, que aparecen en un 70% de los pacientes con LES, dolores musculares y articulares, fatiga, fiebre, astenia y anorexia (Fig. 6). La fiebre puede presentarse tanto al inicio como en el transcurso de la enfermedad. Puede indicar actividad, aunque debe descartarse la sospecha de infección, puesto que tanto la enfermedad como los tratamientos empleados aumentan el riesgo de esta última (Cervera et al., 2003; Danila et al., 2009; Mok, 2011; Ruiz Irastorza et al., 2012).

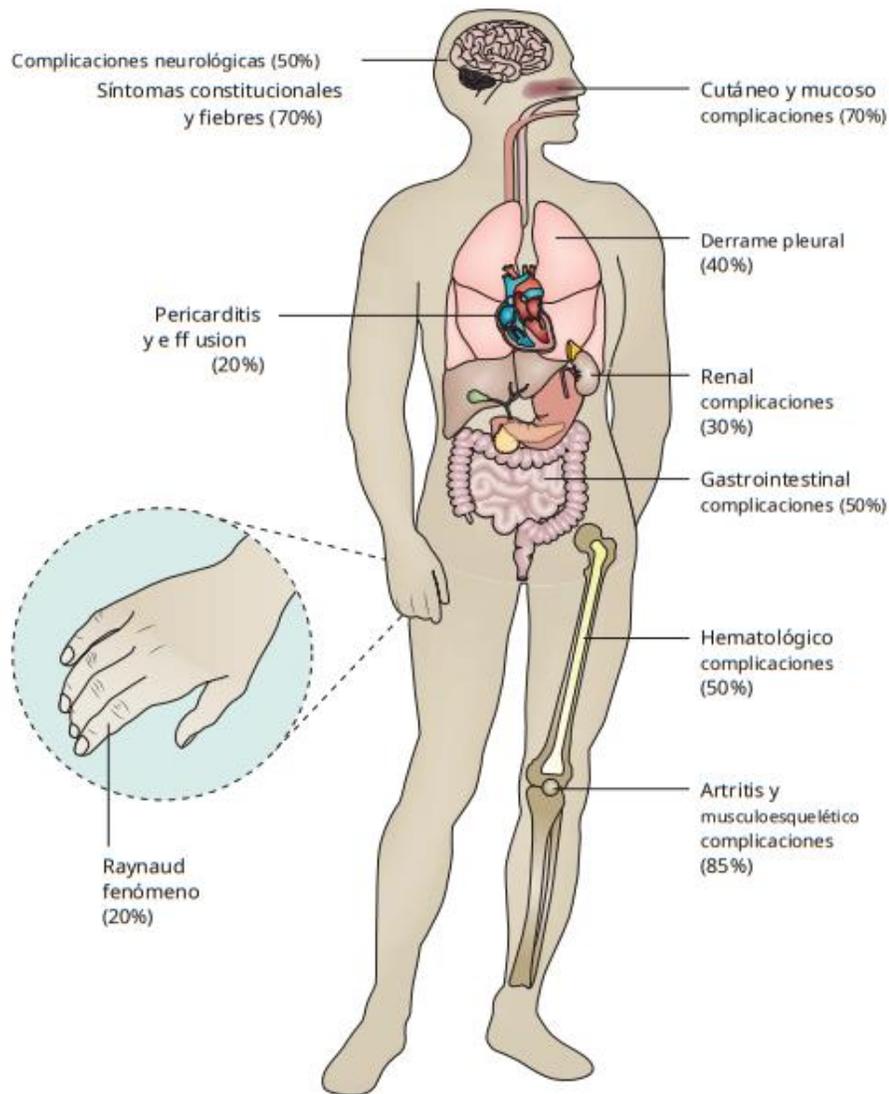


Figura 6. Heterogeneidad clínica del LES.

La naturaleza multifacética del lupus eritematoso sistémico (LES) se muestra por el número de diferentes sistemas de órganos que pueden verse afectados. Además, cada complicación específica de un órgano puede manifestarse de diferentes formas. Por ejemplo, las complicaciones cardíacas pueden ser consecuencia de miocarditis, pericarditis, derrame pericárdico, hipertensión pulmonar y endocarditis de Libman-Sacks. La afectación gastrointestinal varía desde úlceras orales hasta enteritis lúpica en toda regla, pancreatitis, hepatitis y ascitis. La afectación neurológica es compleja con síntomas como dolor de cabeza, convulsiones y características trombóticas, incluido el accidente cerebrovascular. La frecuencia media de las complicaciones más frecuentes se indica entre paréntesis (Kaul et al., 2016).

2.1.5.1 Manifestaciones clínicas de LES Extra-renales

La afectación de piel y mucosas aparecen en un 70% de los pacientes con LES y forman parte de los criterios de clasificación de la enfermedad. Concretamente, fotosensibilidad (ante la exposición a los rayos ultravioleta A/B y la luz visible), úlceras bucales o nasales, exantema malar conocido como la erupción en forma de mariposa (que es una erupción pruriginosa eritematosa elevada que afecta las mejillas y el puente nasal), y lesiones discoides. También puede presentarse alopecia, telangiectasias periungueales, fenómeno de Raynaud y la denominada *livedo reticularis* que aparece hasta en el 15% de los casos y puede estar asociada con la presencia de Ac antifosfolípido (Fortuna & Brennan, 2013; Justiz Vaillant, 2020; Kaul et al., 2016; Rivera F, 2020).

Aproximadamente el 85% de los pacientes con LES sufren de afectación musculoesquelética en algún momento durante el curso de la enfermedad y pueden variar desde artralgiyas leves hasta artritis deformantes. La artritis lúpica es típicamente una poliartritis inflamatoria simétrica y no erosiva que afecta predominantemente las pequeñas articulaciones de las manos, rodillas y muñecas, aunque cualquier articulación puede verse afectada. Los pacientes con LES tienen un alto riesgo de desarrollar fibromialgia con incidencias de hasta el 20% informadas (Fortuna & Brennan, 2013; Justiz Vaillant, 2020; Kaul et al., 2016; Rivera F, 2020).

La serositis, en forma de pleuritis o pericarditis, puede afectar hasta al 40% y 20% de los pacientes, respectivamente. Otras manifestaciones pulmonares incluyen la hipertensión pulmonar que puede desarrollarse de forma silente debido a múltiples embolias pulmonares o complicaciones de coagulación intravascular diseminada asociada con el síndrome de anticuerpos antifosfolípidos (SAF). Mientras que otras manifestaciones cardiovasculares incluyen la endocarditis de Libman-Sacks que afecta a la válvula mitral y también están asociadas a SAF. Los pacientes con LES tienen un riesgo especialmente alto de enfermedad de las arterias coronarias, ya sea por vasculitis coronaria o más frecuentemente por aterosclerosis generalizada (Fortuna & Brennan, 2013; Justiz Vaillant, 2020; Kaul et al., 2016; Rivera F, 2020).

Las alteraciones hematológicas aparecen en un 50% de los pacientes con LES, incluyen anemia por eritropoyesis ineficaz, hemólisis autoinmune (prueba de Coombs positiva), sangrado, trombocitopenia (puede ser leve o grave y puede estar asociada con el SAF o con autoanticuerpos contra plaquetas, glucoproteína IIb/IIIa o receptor de trombotocina) y leucopenia (secundaria a neutropenia o linfopenia también es muy frecuente y puede ser grave). La esplenomegalia y adenopatías están presentes en aproximadamente un 25% de los pacientes y su presencia obliga a descartar procesos infecciosos o linfoproliferativos intercurrentes, sobre todo cuando no se acompañan de otros datos de actividad lúpica (Fortuna & Brennan, 2013; Justiz Vaillant, 2020; Kaul et al., 2016; Rivera F, 2020).

Los síntomas neuropsiquiátricos aparecen en un 50% de los pacientes con LES y pueden estar mediados inmunológicamente o ser secundarios a la afectación de otros órganos o al tratamiento, incluyen cefalea, pérdida de memoria, deterioro leve del pensamiento, cambios de personalidad, accidentes cerebrovasculares (coma), síndrome de Guillain Barré, convulsiones, trastornos mentales graves (psicosis) o un proceso en el que se producen una serie de cambios físicos cerebrales que dan como resultado trastornos como la demencia. También pueden dañarse los nervios periféricos o la médula espinal (parálisis) (Fortuna & Brennan, 2013; Justiz Vaillant, 2020; Kaul et al., 2016; Rivera F, 2020).

Los problemas del tracto gastrointestinal aparecen en un 50% de los pacientes e incluyen náuseas, diarrea y molestias abdominales inespecíficas. La aparición de estos síntomas puede ser el anuncio de un próximo brote de la enfermedad. Una de las causas más comunes de molestias gastrointestinales es la dismotilidad esofágica (especialmente el tercio superior del esófago), vasculitis y trombosis mesentéricas. La manifestación hepática más frecuente es una hipertransaminasemia durante las fases de actividad de la enfermedad, que se normaliza con el tratamiento. En ocasiones excepcionales, se desarrolla una hepatitis crónica activa (Fortuna & Brennan, 2013; Justiz Vaillant, 2020; Kaul et al., 2016; Rivera F, 2020).

Las mujeres embarazadas que padecen lupus tienen un riesgo mayor de lo normal de aborto espontáneo y muerte fetal, preeclampsia y trombosis materna asociados con la presencia de Ac antifosfolípido. Los brotes de la enfermedad son habituales durante el embarazo o inmediatamente después del parto. Los anticuerpos anti-Ro (SSA) y Anti-La (SSB) pueden atravesar la placenta y provocar un bloqueo cardíaco fetal y un lupus neonatal. El riesgo es del 2% con el primer embarazo, pero aumenta al 20% si hay antecedentes de lupus neonatal en un embarazo anterior (Fortuna & Brennan, 2013; Justiz Vaillant, 2020; Kaul et al., 2016; Rivera F, 2020).

Otras manifestaciones como la afectación ocular y la queratoconjuntivitis seca se observan con frecuencia en el LES, en presencia o ausencia de síndrome de Sjogren secundario. La vasculitis retiniana, la neuritis óptica, la uveítis, la escleritis, la queratitis ulcerosa periférica y la epiescleritis son otras manifestaciones oculares. Los pacientes con LES también son más susceptibles al daño ocular inducido por fármacos, incluido el glaucoma o catarata inducido por esteroides y la maculopatía inducida por hidroxiclороquina. La afectación del oído puede provocar una pérdida auditiva neurosensorial repentina. El infarto suprarrenal secundario a la trombosis de los vasos suprarrenales se puede observar en pacientes con LES y SAF (Justiz Vaillant, 2020).

2.1.5.2 Manifestaciones clínicas de NL

Entre un 25 y un 50% de los pacientes con LES durante el curso de la enfermedad desarrollan afectación renal englobada en el término Nefritis Lúpica (NL) (Anders et al., 2020; Danila et al., 2009). La presentación de la enfermedad renal en el LES es variable, desde ausencia de síntomas (detectada por biopsia renal de rutina o nefritis lúpica “silenciosa”), trazas de proteinuria o sedimentos urinarios, hematuria microscópica, piuria o cilindros celulares hasta síndrome nefrótico franco, insuficiencia renal crónica y síndrome nefrótico con progresión rápida que conduce a insuficiencia renal (Borchers et al., 2012).

2.1.6 Diagnóstico

2.1.6.1 Diagnóstico de LES

El diagnóstico de LES es clínico, respaldado por investigaciones de laboratorio que indican reactividad inmunitaria o inflamación en varios órganos (Fanouriakis et al., 2021). Hoy en día, no existe ningún examen que por sí mismo pueda determinar si una persona tiene la enfermedad. Para ayudar al médico en el diagnóstico, se establecieron en 1971 los criterios de clasificación del LES que ayudan a distinguir entre el Lupus y otras enfermedades, y se revisaron en 1982 y 1997 de acuerdo con la Asociación Americana de Reumatología (Tabla 1). Los criterios del ACR de 1997 requerían la presencia de 4 de los 11 criterios para la clasificación del LES y no todos los síntomas tienen que presentarse simultáneamente (Justiz Vaillant, 2020).

Estos criterios fueron validados para pacientes con enfermedad de larga evolución, por lo que el grupo de trabajo Colaboradores Clínicos Internacionales de Lupus Eritematoso Sistémico en el 2012 hicieron una revisión, y propusieron nuevos criterios de clasificación, con la intención de mejorar la capacidad de identificación de los pacientes en fases iniciales o con enfermedad limitada (Tabla 2) (Justiz Vaillant, 2020; Petri et al., 2012).

Estos tienen una mejor sensibilidad que los de la Asociación Americana de Reumatología (94% frente a 86%) y una especificidad similar (92% frente a 93%). Exigen la presencia de 4 criterios, debiendo ser al menos uno de ellos clínico y otro un criterio inmunológico. Los criterios neurológicos e inmunológicos se ampliaron para incluir nueva información sobre la inmunología del LES. Además, los pacientes con nefritis comprobada por biopsia y ANA positivo o ADN anti-bicatenario podrían clasificarse directamente como LES incluso si carecían de otros criterios (Justiz Vaillant, 2020; Petri et al., 2012).

Tabla 1. Criterios revisados en 1997 de la Asociación Americana de Reumatología para la clasificación del lupus eritematoso sistémico.

Un paciente puede tener lupus eritematoso sistémico si presenta 4 o más de los 11 criterios abajo descritos de forma seriada o simultánea

Criterio	Definición
1. Eritema malar	Eritema fijo, plano o elevado, sobre eminencias malares, que no compromete los surcos nasogenianos.
2. Eritema discoide	Placas eritematosas, elevadas con descamación queratósica adherentes y taponamiento folicular, atrofia cicatrizal en lesiones antiguas.
3. Fotosensibilidad	Exantema cutáneo como resultado de una reacción inusual a la luz solar, según la historia clínica o el examen físico.
4. Úlceras orales	Úlceración oral o nasofaríngea, habitualmente indolora.
5. Artritis	No erosiva que compromete dos o más articulaciones periféricas, caracterizada por hipersensibilidad al tacto o dolor a la presión, tumefacción o derrame articular.
6. Serositis	Pleuritis: Historia compatible de dolor pleurítico, roce pleural o evidencia de derrame. Pericarditis: Confirmada por ECG o roce pericárdico o derrame pericárdico.
7. Afectación renal	Proteinuria persistente superior a 0.5 g/24h o superior a 3+, hematíes. Cilindros celulares en orina (elementos anormales derivados de eritrocitos, leucocitos y/o células en el túbulo renal o mixtos).
8. Afectación neurológica	Convulsiones o psicosis, en ausencia de fármacos inductores de las mismas o de alteraciones metabólicas: uremia, cetoacidosis, o desequilibrio electrolítico.
9. Afectación hematológica	Anemia hemolítica con reticulocitosis. Evidencia de anticuerpos contra glóbulos rojos mediante la prueba de Coombs directa. Leucopenia, menor de 4000/mm ³ en dos o más determinaciones. Linfopenia, menor de 1500/mm ³ en dos o más determinaciones. Trombocitopenia, menor de 100.000/mm ³ en ausencia de fármacos inductores.
10. Alteraciones inmunológicas	Anticuerpos Anti-DNA bicatenario Anticuerpos Anti-Smith Anticuerpos Anti Fosfolípidos basados en: * Ac Anticardiolipina IgM o IgG. * Test positivo para anticoagulante lúpico. * Prueba serológica falsa positiva para sífilis: con positividad persistente durante al menos 6 meses y confirmada mediante inmovilización de <i>Treponema pallidum</i> o prueba de absorción de anticuerpos fluorescentes contra los treponemas.
11. Anticuerpos antinucleares positivos	Título anormal de ANA por inmunofluorescencia o prueba equivalente, en cualquier momento de la evolución de la enfermedad y en ausencia de fármacos relacionados con lupus.

ANA: Anticuerpos Antinucleares; ECG: electrocardiograma

Tabla 2. Criterios de clasificación del Grupo de Clínicas Colaboradoras Internacionales de Lupus Sistémico (SLICC) 2012

Los criterios son acumulativos y no necesitan estar presentes al mismo tiempo. Se clasifica al paciente de LES si presenta al menos 4 de los criterios clínicos o inmunológicos, debiendo al menos estar presente un criterio clínico y otro inmunológico. También se clasifica de LES al paciente con biopsia renal compatible con nefritis lúpica que asocia unos ANA o anti-DNA positivos.

Criterios clínicos	Definición
1. Lupus cutáneo agudo	Exantema malar lúpico, lupus bulloso, necrosis epidérmica tóxica, exantema maculopapular, fotosensibilidad en ausencia de dermatomiositis o lupus cutáneo subagudo
2. Lupus cutáneo crónico	Exantema discoide, lupus hipertrófico o verrugoso, paniculitis lúpica o lupus profundus, lupus mucoso, lupus tumidus, perniosis lúpica, superposición lupus discoide/ liquen plano
3. Úlceras orales	Paladar o mucosa nasal en ausencia de otras causas
4. Alopecia no cicatricial	En ausencia de otras causas
5. Sinovitis	De 2 o más articulaciones con presencia de tumefacción o derrame o dolor en 2 o más articulaciones con una rigidez matutina de más de 30 minutos
6. Serositis	Pleuritis o pericarditis de más de un día
7. Afectación renal	Cociente proteínas orina/creatinina o proteinuria de 24 horas > 500 mg/día o cilindros celulares hemáticos en orina
8. Afectación neurológica	Convulsiones, psicosis, mononeuritis múltiple, mielitis, neuropatía central o periférica, síndrome confusional agudo en ausencia de otras causas
9. Afectación hematológica	Anemia hemolítica con reticulocitosis. Evidencia de anticuerpos contra glóbulos rojos mediante la prueba de Coombs directa. Leucopenia, menor de 4000/mm ³ en dos o más determinaciones. Linfopenia, menor de 1000/mm ³ en dos o más determinaciones. Trombocitopenia, menor de 100000/mm ³ en ausencia de fármacos inductores.
Criterios inmunológicos	Definición
10. ANA	Por encima del valor de referencia de laboratorio
11. Anticuerpos Anti-DNA bicatenario	Por encima del valor de referencia de laboratorio o 2 veces por encima del valor de referencia si es determinado por ELISA
12. Anticuerpos Anti-Smith	Presencia de Anticuerpos anti-Smith.
13. Anticuerpos Anti Fosfolípidos	* Test positivo para anticoagulante lúpico. * RPR falso positivo * Ac Anti-B2 glicoproteína I (IgG o IgM) positivo a título medio o alto * Ac Anti-cardiolipina (IgG o IgM) positivo a título medio o alto
14. Complemento bajo	C3, C4, CH50
15. Test de Coombs directo positivo	En ausencia de anemia hemolítica

ANA: Anticuerpos Antinucleares; RPR: reagina plasmática rápida.

Para mejorar la sensibilidad y la especificidad la detección del LES de inicio temprano o nuevo en comparación con anteriores criterios surge uno nuevo en el año 2019 desarrollado por la Liga Europea contra el Reumatismo (EULAR)/Colegio Americano de Reumatología (ACR) (Tabla 3). En la cohorte de validación, que incluía pacientes con enfermedad temprana, los criterios EULAR/ACR tenían una sensibilidad del 96.1% y una especificidad del 93.4%, en comparación con la sensibilidad del 96.7% y la especificidad del 83.7% de los criterios SLICC (Fanouriakis et al., 2021; Justiz Vaillant, 2020).

Cabe recalcar que para LES no hay criterios de diagnóstico disponibles, y como tales a menudo se utilizan los criterios de clasificación, pero con varias advertencias.

Entre los criterios de clasificación, el EULAR/ACR-2019 tiene la mejor combinación de sensibilidad y especificidad, pero requiere ANA positivo como criterio de entrada. Sin embargo, para el diagnóstico, algunos pacientes pueden ser negativos a ANA; en tales casos, los niveles bajos de complemento y/o anticuerpos anti-fosfolípidos positivos podrían usarse como un criterio de entrada alternativo en el algoritmo de clasificación. Para los pacientes que no alcanzan el umbral de clasificación (es decir, puntuación EULAR/ACR <10), la inclusión de fotosensibilidad (definida como en los criterios ACR-1997) o una combinación de características inmunológicas y clínicas aún puede usarse para el diagnóstico de LES (Fanouriakis et al., 2021; Justiz Vaillant, 2020).

Por tanto, los conjuntos de criterios de clasificación se desarrollan para estudios de investigación para la clasificación de pacientes y pueden no siempre ser válidos en el entorno clínico. Si bien pueden ayudar a un médico a sospechar un diagnóstico de LES, por sí solos no se deben considerar lo suficiente para confirmar o descartar un diagnóstico de LES, que sigue siendo un diagnóstico en función de la constelación de signos, síntomas realizado por un experto al considerar la presentación clínica completa junto con la serológica y pruebas histopatológicas e imágenes (Fanouriakis et al., 2021; Justiz Vaillant, 2020).

Tabla 3. Criterios de clasificación de la Liga Europea contra el Reumatismo (EULAR)/ACR 2019

Criterio de entrada			
Anticuerpos antinucleares (ANA) a un título $\geq 1:80$ en células HEp-2 o una prueba equivalente positiva (siempre)			
*Si están ausentes, no clasificar como LES			
*Si están presentes, aplicar criterios aditivos			
Criterios aditivos			
*No contar un criterio si es más probable que exista una explicación distinta a LES.			
*La aparición de un criterio en al menos una ocasión es suficiente.			
*La clasificación del LES requiere al menos un criterio clínico y ≥ 10 puntos.			
*No es necesario que los criterios se den simultáneamente.			
*Dentro de cada dominio, sólo se tiene en cuenta el criterio ponderado más alto para las puntuaciones totales.			
Dominio clínico y criterios	Puntos	Dominio inmunológico y criterios	Puntos
Constitucionales		Anticuerpos antifosfolípidos	
Fiebre	2	Anticuerpos anti-cardiolipina o Anticuerpos anti-B2GP1 o Anticoagulante lúpico	2
Mucocutáneo		Proteínas del complemento	
Alopecia no cicatricial	2	C3 bajo o C4 bajo	3
Úlceras orales	2	C3 bajo y C4 bajo	4
Lupus cutáneo subagudo o discoide	4	Anticuerpos específicos del LES	
Lupus cutáneo agudo	6	Anticuerpo anti-dsDNA	6
Artritis		Anticuerpo anti-Smith	6
Sinovitis caracterizada por inflamación o derrame en ≥ 2 articulaciones o sensibilidad en ≥ 2 articulaciones más rigidez matutina ≥ 30 min	6		
Neuropsiquiátrico			
Delirio	2		
Psicosis	3		
Convulsión	5		
Serositis			
Derrame pleural o pericárdico	5		
Pericarditis aguda	6		
Hematológico			
Leucopenia	3		
Trombocitopenia	4		
Hemólisis autoinmune	4		
Renal			
Proteinuria $>0,5g/24h$	4		
Biopsia renal nefritis lúpica de clase II o V	8		
Biopsia renal nefritis lúpica de clase III o IV	10		

2.1.6.2 Evaluación de la actividad de LES

Debido a la complejidad multifacética de las presentaciones clínicas y su variación a lo largo del tiempo, existe la necesidad de utilizar índices de actividad de la enfermedad validados, tanto globales como específicos de órganos, para guiar la terapia y servir como resultado de los ensayos clínicos. Para ello, se han desarrollado y validado varios instrumentos (Kaul et al., 2016).

Los más utilizados son tres: (1) Índice de actividad de la enfermedad del LES (SLEDAI) un índice global que describe la carga total de la enfermedad inflamatoria; (2) Índice del Grupo de Actividad del Lupus de las Islas Británicas (BILAG), un índice específico de órganos que pueden ser individuales o incorporados en una puntuación resumida y (3) Evaluación Nacional de Seguridad de los Estrógenos en el Lupus Eritematoso (SELENA)-SLEDAI *Physician Global Assessment* (PGA) que complementa los índices de actividad objetiva, porque estos últimos pueden pasar por alto ciertos elementos de la actividad de la enfermedad o carecer de sensibilidad a los cambios longitudinales (Fanouriakis et al., 2021).

Más recientemente, se han desarrollado nuevas versiones de los índices que son sensibles a la mejora parcial en la actividad de la enfermedad (por ejemplo, el Índice de respuesta SLEDAI-2K, que permite puntuar la actividad persistente, en lugar de la de inicio reciente (Kaul et al., 2016).

El SLEDAI-2K puntúa la actividad de 24 presentaciones clínicas en un período de 28 días y la afectación de órganos se pondera de 1 a 8 (de un rango 0-105). La clasificación de severidad según SLEDAI-2K se asigna igual a 0 en remisión, 1-5 en actividad baja, 6-10 actividad moderada y mayor a 10 como actividad alta. La capacidad de medir la actividad de la enfermedad también facilita el manejo de la enfermedad en los pacientes hospitalizados. Se sabe que la actividad grave de la enfermedad en el momento de la presentación (una puntuación SLEDAI-2K de ≥ 20) es un factor pronóstico asociado con la mortalidad (Fanouriakis et al., 2021; Kaul et al., 2016).

La remisión prolongada (enfermedad inactiva) es un resultado poco frecuente y solo ocurre en ~ 2.4% de los pacientes con LES sin tratamiento. Los pacientes que manifiestan un período prolongado Serológicamente Activo (anticuerpos anti-dsDNA altos o valores bajos del complemento) y Clínicamente Quiescente (SACQ) no requieren tratamiento específico durante este período y acumulan menos daño durante una década que los controles emparejados. Sin embargo, se justifica una estrecha vigilancia para este grupo (Fanouriakis et al., 2021; Kaul et al., 2016).

En 1996, el grupo SLICC (*Systemic Lupus International Collaborating Clinics*), en colaboración con la ACR, desarrolló el SLICC/ACR Índice de Daño (SDI), que califica la acumulación de daños irreversibles en 12 sistemas de órganos que se ha producido desde el inicio del LES debido a la enfermedad, comorbilidades asociadas o efectos secundarios de medicamentos. Con una puntuación máxima de 46, cualquier incremento en el SDI es clínica y pronósticamente significativo, ya que refleja la acumulación de daño futuro y la mortalidad (Fanouriakis et al., 2021; Kaul et al., 2016).

2.1.6.3 Diagnóstico de NL

El diagnóstico oportuno de la NL presenta desafíos y se basa en criterios específicos. Al mismo tiempo que se puede tomar en cuenta la positividad de anticuerpos anti-dsDNA y la disminución en los niveles de las fracciones del complemento, que son características asociadas a la actividad lúpica (Borchers et al., 2012).

Según la ACR, se considera NL cuando hay elevación de la creatinina sérica, proteinuria de 24 horas >0.5g/día o más de 3+ en la tira reactiva (acompañada de hipoalbuminemia) y sedimento urinario activo. Además, según la EULAR/ACR de 2019, se considera NL cuando hay deterioro inexplicado del filtrado glomerular, lo que obliga a una biopsia renal, el estándar de oro para confirmación diagnóstica (Giannico & Fogo, 2013; Maria & Davidson, 2020).

La clasificación histopatológica de la NL se basa en hallazgos glomerulares según la Sociedad Internacional de Nefrología y la Sociedad de Patología Renal (ISN/RPS: *International Society of Nephrology (ISN)* y la *Renal Pathology Society (RPS)*) propuesta en 2003 (Tabla 4). Esta clasificación incluye índices de inflamación activa y cronicidad (Tabla 5).

También, se destaca la importancia de informar la presencia de atrofia tubular, inflamación intersticial, fibrosis y otras lesiones vasculares, además de clasificarse como leves, moderadas o graves, porque se asocian a un peor pronóstico, independientemente de los cambios glomerulares (Anders et al., 2020; Maria & Davidson, 2020; Weening et al., 2004).

Asimismo, debido a una buena correlación entre los datos clínicos e histológicos (Tabla 6) se recomienda realizar una biopsia renal en casos de proteinuria persistente de más de 0,5 g diarios, especialmente si hay hematuria y/o cilindros celulares en el sedimento urinario. Pero también en los casos de hematuria o piuria persistentes y aisladas tras la exclusión de otras causas (por ejemplo, infecciones), o en caso de ERC inexplicable a pesar de que el sedimento urinario sea normal, ante la sospecha de una microangiopatía trombótica renal y, por último, ante una sospecha de transformación histológica (Anders et al., 2020; Seshan & Jennette, 2009).

Finalmente, la histología renal puede ayudar a identificar afecciones distintas de la NL que también pueden afectar los riñones en pacientes con LES como nefropatía por IgA, nefropatía diabética, nefropatía asociada a anticuerpos aPL (APLN), nefroesclerosis hipertensiva y enfermedad de la membrana basal delgada (Anders et al., 2020; Ruiz-Irastorza G, 2012).

Tabla 4. Clasificación de la nefritis lúpica según ISN/RPS (2003)

Clase I.	Nefritis lúpica mesangial mínima Glomérulos normales en microscopía óptica, con mínimos depósitos inmunes mesangiales por inmunofluorescencia.
Clase II.	Nefritis lúpica mesangial proliferativa Hiper celularidad puramente mesangial de cualquier grado o expansión de matriz mesangial en microscopía óptica, con depósitos inmunes mesangiales por inmunofluorescencia. Pueden ser visibles escasos depósitos subepiteliales o subendoteliales por inmunofluorescencia o microscopía electrónica, pero no en microscopía óptica.
Clase III.	Nefritis lúpica focal Glomerulonefritis endo o extracapilar, activa (A) o crónica (C), focal. Comprometiendo <50% de los glomérulos, típicamente con depósitos inmunes focales subendoteliales, con o sin alteración del mesangio. Por lo que se subdividen en: Clase III (A) Lesiones activas: Nefritis lúpica proliferativa focal. Clase III (A/C) Lesiones activas y crónicas: Nefritis lúpica proliferativa focal y esclerosante focal. Clase III (C) Lesiones inactivas crónicas con esclerosis glomerular (cicatrices): Nefritis lúpica esclerosante focal.
Clase IV.	Nefritis lúpica difusa Glomerulonefritis endo o extracapilar, activa (A) o crónica (C), difusa. Comprometiendo ≥50% de los glomérulos, típicamente con depósitos inmunes difusos subendoteliales, con o sin alteración del mesangio. Además las lesiones pueden ser segmentarias (S: cuando ≥50% de los glomérulos afectados tienen lesiones segmentarias, es decir, la lesión glomerular compromete menos de la mitad de los capilares de los glomérulos) o globales (G: cuando ≥50% de los glomérulos afectados tienen más de la mitad de los capilares lesionados). Esta clase incluye casos con depósitos inmunes tipo "asa de alambre", con poca o sin proliferación glomerular. Se subdivide en: Clase IV-S (A) Lesiones activas: Nefritis lúpica proliferativa difusa segmentaria. Clase IV-G (A) Lesiones activas: Nefritis lúpica proliferativa difusa global. Clase IV-S (A/C) Lesiones activas y crónicas: Nefritis lúpica proliferativa y esclerosante difusa segmentaria. Clase IV-G (A/C) Lesiones activas y crónicas: Nefritis lúpica proliferativa y esclerosante difusa global. Clase IV-S (C) Lesiones inactivas crónicas con esclerosis: Nefritis lúpica esclerosante difusa segmentaria. Clase IV-G (C) Lesiones inactivas crónicas con esclerosis: Nefritis lúpica esclerosante difusa global.
Clase V.	Nefritis lúpica membranosa Engrosamiento de la membrana basal glomerular con depósitos inmunes subepiteliales de forma global o segmentaria visualizada por microscopía óptica, inmunofluorescencia o microscopía electrónica; con o sin alteraciones mesangiales. Puede aparecer en combinación con las clases III o IV en cuyo caso ambas deben ser diagnosticadas. También puede tener un avanzado grado de esclerosis. Muy similar a las formas idiopáticas en las fases iniciales.
Clase VI.	Nefritis lúpica esclerosante avanzada Con afectación de más del 90% de los glomérulos los cuales se visualizan globalmente esclerosados. Sin actividad residual.

*Indicar y graduar (discreta, moderada o severa) atrofia tubular, inflamación y fibrosis intersticial, severidad de arterioesclerosis u otras lesiones vasculares. *Indicar la proporción de glomérulos con lesiones activas y con lesiones esclerosantes. *Indicar la proporción de glomérulos con necrosis fibrinoide y/o creciente celular.

Tabla 5. Lesiones activas o crónicas en la nefritis lúpica

Lesiones activas ^a	Lesiones crónicas ^b
Glomerulares	
1. Hiper celularidad endocapilar con o sin infiltración leucocitaria y disminución de luces capilares. 2. Cariorrexis y necrosis fibrinoide. 3. Semilunas celulares. 4. Trombos hialinos (agregados intraluminales) y asas de alambre (depósitos subendoteliales en microscopia óptica). 5. Infiltración leucocitaria glomerular o rotura de la membrana basal glomerular.	1. Esclerosis glomerular (segmentaria o global). 2. Semilunas fibrocelulares.
Tubulointersticiales	
1. Infiltración de células mononucleares.	1. Fibrosis intersticial. 2. Atrofia tubular.
^a Actividad: cada variable se puntúa de 0 a 3+. La necrosis fibrinoide y las semilunas pueden alcanzar 6 puntos cada una de ellas. Máxima puntuación: 24. ^b Cronicidad: cada variable se puntúa de 0 a 3+. Máxima puntuación: 12.	

Tabla 6. Correlaciones clínico-histológicas en la nefritis lúpica

Nefritis lúpica	Datos clínicos y analíticos
Clase I. Nefritis lúpica mesangial mínima	Creatinina sérica normal y analítica urinaria sin alteraciones. Hallazgo casual.
Clase II. Nefritis lúpica mesangial proliferativa	Creatinina sérica normal, con microhematuria o proteinuria no nefrótica. Si aparece síndrome nefrótico, se debe descartar podocitopatía.
Clase III. Nefritis lúpica focal	Proteinuria y hematuria. En ocasiones: síndrome nefrótico, hipertensión y aumento de creatinina sérica. La progresión hacia la insuficiencia renal depende del porcentaje de glomérulos afectados. Puede evolucionar hacia Clase IV o V.
Clase IV. Nefritis lúpica difusa	Es la forma más frecuentemente biopsiada. Hematuria, proteinuria, síndrome nefrótico, insuficiencia renal, hipertensión arterial. Se asocia con título elevado de anti-dsDNA e hipocomplementenemia. Puede evolucionar hacia insuficiencia renal.
Clase V. Nefritis lúpica membranosa	Proteinuria o síndrome nefrótico con función renal normal, hipertensión y microhematuria. En general, escasa actividad inmunológica.
Clase VI. Nefritis lúpica esclerosante avanzada	Deterioro progresivo de función renal, asociado con proteinuria y sedimento normal.

El momento adecuado para la repetición de la biopsia es objeto de debate; en algunos estudios, las biopsias repetidas se realizaron tan pronto como 6-8 meses después de la biopsia de referencia, lo que sin embargo se ha considerado demasiado pronto para reflejar adecuadamente el efecto del tratamiento a nivel de tejido, porque si bien se consigue la remisión clínica histológicamente son consistentes con una enfermedad renal activa (Anders et al., 2020).

Por el contrario, los tiempos tardíos (por ejemplo, 2 años o más desde la línea de base) también pueden considerarse poco convenientes, ya que la actividad residual y persistente debe captarse y abordarse lo antes posible para evitar la progresión del daño orgánico (Anders et al., 2020).

A la luz de esto y de la existencia de NL silencioso, varios centros de referencia terciarios realizan rutinariamente biopsias renales repetidas para la evaluación del tratamiento y orientación en el manejo terapéutico posterior; Sin embargo, esta práctica es controvertida debido a consideraciones éticas debido a lo invasivo del procedimiento (Anders et al., 2020).

2.1.7 Mortalidad y Supervivencia

La mortalidad en el LES varía según la etnicidad, siendo más alta en mujeres afroamericanas en comparación con caucásicas, asiáticas e hispanas (Gomez-Puerta et al., 2015).

Además el riesgo de mortalidad aumenta significativamente en presencia de NL en comparación con el LES sin afectación renal. Se estima que entre el 5% y el 25% de los pacientes con NL proliferativa fallecen debido a complicaciones renales en los 5 años posteriores al inicio. Aunque la mortalidad por NL ha disminuido debido a los avances terapéuticos, el riesgo de desarrollar Enfermedad Renal en Etapa Terminal (ERET) relacionada con NL a los cinco, diez y quince años permanece en 11, 17 y 22%, respectivamente para la última década (Tektonidou, Dasgupta, & Ward, 2016).

Las infecciones representan la principal causa de muerte en pacientes con NL, posiblemente debido al uso prolongado de terapias inmunosupresoras y a la insuficiencia renal. Se sabe que el tratamiento con ciclofosfamida aumenta el riesgo de neoplasias malignas, que contribuyen aproximadamente al 10% de las muertes en pacientes con NL (Borchers et al., 2012).

Las tasas de supervivencia en pacientes con LES han mejorado significativamente en comparación con décadas anteriores. Durante 2008 a 2016 en países de altos ingresos se observaron tasas de supervivencia a 5, 10 y 15 años del 95%, 89% y 82%, respectivamente. Esta mejora se atribuye a un diagnóstico y tratamiento más temprano, el uso adecuado de medicamentos como los corticoides, el desarrollo de nuevas modalidades de tratamiento y una mejor gestión de las complicaciones, especialmente las infecciosas. (Tektonidou, Lewandowski, Hu, Dasgupta, & Ward, 2017).

Sin embargo, estudios recientes sugieren que esta tendencia de mejora podría haber alcanzado una meseta y que los pacientes con LES aún tienen una menor supervivencia en comparación con la población general, especialmente después de los 50 años (Gergianaki, Bortoluzzi, & Bertias, 2018).

En cuanto a los pacientes con NL, las estadísticas concuerdan con una menor probabilidad de supervivencia en aquellos pacientes que se presentaron al inicio del estudio con nefropatía 88% versus 94% en pacientes sin nefropatía (Cervera et al., 2003). Las tasas de supervivencia renal a 5 y 10 años de la NL en la década de 1990 oscilaban entre el 83-92% y el 74-84%, respectivamente (Mok, 2010).

2.1.8 Pronóstico

El pronóstico de LES es altamente variable debido a la impredecible evolución de la enfermedad y el daño a los órganos afectados. Sin embargo, si se logra controlar la inflamación inicial, el pronóstico a largo plazo tiende a ser favorable (Fanouriakis et al., 2021).

En el caso de la NL, el pronóstico varía según la clase, siendo excelente para las clases I y II, pero menos favorable para las clases III y IV. La clase V generalmente tiene un pronóstico favorable, aunque pueden presentarse complicaciones como el tromboembolismo. Los brotes y la remisión incompleta son comunes en estos pacientes, y en algunos casos puede ser necesario el trasplante y una terapia de reemplazo renal (Justiz Vaillant, 2020).

La disminución de la proteinuria a $<0,7-0,8$ g/dl un año después del diagnóstico es considerada el mejor predictor del resultado a largo plazo. Aquellos pacientes con proteinuria persistente, como la excreción de proteínas de más de 0,7-0,8 g diarios un año después del inicio del tratamiento, o el deterioro de la función renal a pesar de un tratamiento adecuado "NL refractaria", deben ser evaluados en busca de otras posibles causas, como efectos secundarios nefrotóxicos de los medicamentos (como los inhibidores de la calcineurina (ICN) y los antiinflamatorios no esteroideos), trombosis de las venas renales, infecciones, hipertensión mal controlada y falta de adherencia al tratamiento. En el caso de requerir un trasplante renal, el pronóstico es similar al de los pacientes sin LES (Anders et al., 2020; Maria & Davidson, 2020).

2.1.9 Tratamiento

El tratamiento del LES se basa en las manifestaciones y gravedad de la enfermedad en cada paciente (ver Tabla 7) (Kiriakidou & Ching, 2020). A continuación, se da un detalle del tratamiento (Fortuna & Brennan, 2013; Justiz Vaillant, 2020; Kiriakidou & Ching, 2020; Smith et al., 2019).

- Glucocorticoides: Como la prednisona, son una parte crucial del tratamiento. Sin embargo, se busca reducir las dosis al mínimo necesario para controlar los síntomas, generalmente por debajo de 7,5mg/día-equivalente de prednisona, debido a los efectos adversos asociados con el uso crónico.
- Hidroxicloroquina (HCQ): Es otro componente importante del tratamiento. Tiene propiedades antiinflamatorias y se ha demostrado que reduce la actividad de la

enfermedad y previene las exacerbaciones. En caso de intolerancia o efectos adversos, se pueden considerar alternativas como la quinacrina o el metotrexato.

- Metotrexato: Se usa principalmente como una alternativa a la azatioprina y suele ser preferido para enfermedades nuevas de leves a moderadas. Asimismo se usa para reducir o interrumpir los glucocorticoides en pacientes que no responden adecuadamente al tratamiento con estos o que no pueden reducir las dosis a niveles aceptables para un uso crónico. También puede ser utilizado como tratamiento de mantenimiento tras manifestaciones graves del LES.
- Micofenolato de mofetilo (MMF): Se reserva principalmente para manifestaciones de enfermedad moderada a grave del LES, como afectación hematológica, cardiovascular, neuropsiquiátrica y renal. También se considera cuando las manifestaciones leves a moderadas no responden adecuadamente a otros tratamientos.
- Ciclofosfamida (CY): Se usa generalmente para la afectación de órganos importantes y/o potencialmente mortales, donde se requiere un control rápido de la enfermedad. Puede ser eficaz en el tratamiento de manifestaciones graves.
- Inhibidores de la calcineurina: Como la ciclosporina, pueden ser considerados como una alternativa para la terapia de mantenimiento en ciertos casos de LES.

Además, se están explorando medicamentos específicos de tipo celular que se resumen en la Tabla 8 como opciones adicionales para aquellos pacientes que no responden adecuadamente a los tratamientos convencionales o que experimentan efectos secundarios no deseados (Anders & Fogo, 2014; Anders et al., 2020; Kaul et al., 2016; Maria & Davidson, 2020).

Tabla 7. Tratamiento farmacológico para el lupus eritematoso sistémico

Agente	Mecanismo de acción	Dosis	Efectos adversos comunes
Antiinflamatorio no esteroideo	Antiinflamatorio		Gastritis, nefrotoxicidad, retención de líquidos
Glucocorticoides	Antiinflamatorio: inhibición de prostaglandinas y citocinas, inhibición de proliferación celular, e inducción de la apoptosis	Bajo: ≤ 7 mg/d Medio: $>7 - \leq 30$ mg/d Alto: $>30 - \leq 100$ mg/d Muy alto: >100 mg/d Pulso: ≥ 250 mg/d	Retención de líquidos, infecciones, diabetes mellitus, hipertensión, acné, miopatía, hiperlipidemia, psicosis, necrosis ósea avascular, osteoporosis
Hidroxicloroquina	Antimalárico, inmunomodulador: afecta la fagocitosis, migración de leucocitos y bloquea el efecto adyuvante de los ácidos nucleicos endógenos reduciendo la activación de los TLR. Efecto antitrombótico.	200 a 400 mg/d (por vía oral)	Hiperpigmentación cutánea, retinopatía (dosis >5 mg/kg/día), miopatía con neuropatía periférica y miotoxicidad cardíaca (extremadamente rara)
Micofenolato de mofetilo	Inhibe la inosina 5 monofosfato deshidrogenasa y síntesis de novo de guanosina; inhibe la proliferación de linfocitos y apoptosis de T	Hasta 3000 mg/d (por vía oral)	Intolerancia gastrointestinal, mielosupresión
Azatioprina	Se metaboliza a 6-mercaptopurina un análogo de la purina e inhibe tanto la síntesis de ADN como la proliferación de linfocitos	50-150 mg/día (por vía oral)	Intolerancia gastrointestinal, mielosupresión, hepatotoxicidad
Metotrexato	Inhibe la síntesis de ADN y aumenta la liberación de adenosina	5 a 25 mg / semana (por vía oral o subcutánea)	Intolerancia gastrointestinal, hepatotoxicidad
Ciclofosfamida	Agente citostático alquilante, inhibe la proliferación de los linfocitos T y B	Basado en el área de superficie corporal y función renal (administración intravenosa u oral)	Pérdida de cabello, toxicidad gastrointestinal, mielosupresión, cistitis hemorrágica, cáncer de vejiga, supresión gonadal, infertilidad
Ciclosporina	Inhibidor de calcineurina; inhibe Proliferación de linfocitos T y expresión o activación de citocinas proinflamatorias.	2,5 a 4,5 mg/kg de peso corporal por día (por vía oral)	Nefrotoxicidad, interacción con alopurinol, hipertensión, mielosupresión
Tacrolimus	Inhibidor de calcineurina más potente que la ciclosporina	2-3 mg/día (por vía oral)	Nefrotoxicidad, neurotoxicidad, miocardio hipertrofia, hiperpotasemia, infección, cáncer

Tabla 8. Una selección de las terapias dirigidas para LES y NL

Terapia LES	Mecanismo de acción	Conclusión
Linfocitos T		
Vacunación con células T (inmunización con células T autoreactivas inactivadas)	Agotamiento de autorreactivo	Mejora de la puntuación SLEDAI y la remisión del LES en el LES refractario.
Linfocitos B		
Rituxilup (una combinación de rituximab a sola dosis intravenosa de corticosteroides, seguidos de micofenolato mofetilo)	Anticuerpo quimérico anti-CD20 (Agotamiento de linfocitos B) (pero no las células plasmáticas)	Remisión de la nefritis lúpica en un estudio abierto.
Rituximab (ensayo LUNAR)	Anticuerpo quimérico anti-CD20 completamente humanizado (Agotamiento de linfocitos B)	No se encontraron diferencias cuando se usaban en la nefritis lúpica clase III y clase IV. Variación racial potencial: mejor respuesta en pacientes africanos e hispanos que en pacientes caucásicos.
Ocrelizumab	Anticuerpo quimérico anti-CD20 (Agotamiento de células B)	Estudio interrumpido debido a la alta tasa de infección.
Epratuzumab	Anticuerpo anti-CD22 (inhibe el receptor de señalización de linfocitos B)	Resultados contradictorios sobre la eficacia del tratamiento convencional.
Belimumab	mAb inhibidor de BAFF (también conocido como TNFSF13B)	Reducción significativa en las puntuaciones de SELENA-SLEDAI y cumplimiento de criterios de valoración en el ensayo de fase III de NL.
Atacicept	Bloqueo de BAFF y ABRIL (también conocido como TNFSF13) TACI-Ig	No se observó mejora en la tasa de exacerbaciones.
Blisibimod	Bloqueo de BAFF	Mejora en la puntuación SELENA-SLEDAI en un ensayo de fase II.
Tabalumab	Bloqueo de BAFF (LY2127399)	Resultados mixtos en ensayos de fases III y desarrollo de fármaco interrumpido.
dsDNA		
Abetimus sódico (LJP394)	Reticula el receptor de dsDNA en linfocitos B	No se observaron diferencias en la frecuencia o el tiempo hasta el brote renal.
Citocinas		
Infliximab	Inhibidor de TNF	Mejora en la NL medida por una reducción del 50% en la proteinuria.
Anakinra	Inhibidor de IL-1	Mejora en las articulaciones sensibles con un empeoramiento subsiguiente.
Tocilizumab	mAb humano anti-IL6R	
Sirukumab y PF - 04236921	Bloqueo de la señalización de IL-6	Resultados mixtos: sirukumab se asoció con infecciones y se detuvo el desarrollo del fármaco; El modelo PF - 04236921 mostró buenos efectos y se están realizando más estudios.

Anti-IL-10 y B-N10	Inhibición de la señalización de IL-10 (supresión de Th1 respuesta)	Un estudio pequeño y no controlado mostró una leve mejoría en la puntuación SLEDAI de 8 a 3
Ustekinumab	mAb humano que se liga a la subunidad p40 que tienen tanto la IL-12 como la IL-23 y neutraliza su actividad	La eficacia se ha demostrado en un estudio de la fase II de la psoriasis. La IL-12 promueve la diferenciación de linfocitos T CD4 nativos a linfocitos T helper (Th1). La IL-23 promueve el desarrollo de linfocitos T helper (Th 17).
Secukinumab	Inhibidor de IL-17	Las pruebas en NL se basan en el uso exitoso de esta clase de medicamentos en otras enfermedades inflamatorias y en la presencia reportada de Th17 en los riñones de pacientes con NL
Anifrolumab	mAb humano que se une a la subunidad I del receptor de interferón tipo I, bloqueando la actividad	Reducción estadísticamente y clínicamente significativas de la actividad del LES en estudios de fase III. Está en curso un estudio de fase II para NL.
Sifalimumab	mAb humano anti-IFN- α . Supresión de la actividad IFN α y atenuación de otras citocinas	Reducción de la actividad de la enfermedad en un estudio de la fase IIb

Proteínas del Complemento

Ecilizumab	Anticuerpo anti-C5 bloquea la vía del complemento terminal y escisión C5	Uso no indicado en la etiqueta en NL refractaria y microangiopatía trombótica.
------------	--	--

El fracaso de muchos estudios para alcanzar los puntos finales muestra la dificultad de obtener una población homogénea de pacientes con LES. La modificación de los criterios del Índice de actividad de la enfermedad del lupus eritematoso sistémico (LES) (SLEDAI) en el ensayo de Evaluación nacional de seguridad de los estrógenos en el lupus eritematoso (SELENA-SLEDAI. APRIL, un ligando inductor de la proliferación; BAFF, factor de activación de células B; IFN, interferón; Th1, T ayudante 1; TNF, factor de necrosis tumoral; mAb, anticuerpo monoclonal.

El tratamiento de la NL se basa en los hallazgos histológicos de la biopsia renal, que determinan el grado de actividad inflamatoria y la extensión del daño tisular irreversible (Anders et al., 2020). A continuación, se presentan las opciones de tratamiento según las diferentes clases de NL:

Clase I y II: Se trata con el bloqueo del sistema renina-angiotensina-aldosterona. La inmunosupresión con corticosteroides en dosis altas seguida de azatioprina está indicada solo si la proteinuria es superior a 1 gramo/día (Justiz Vaillant, 2020).

Clases III-IV (proliferativa activa): El tratamiento inicial se establece con dosis bajas por vía IV de CY (500mg×6 dosis quincenales) o MMF (2-3g/día), ambos combinados con glucocorticoides (pulsos de metilprednisolona IV, luego prednisona oral 0.3 a 0.5mg/kg/día). También se puede considerar la combinación de MMF con ICN, especialmente tacrolimus en dosis altas, como alternativa para pacientes con proteinuria en rango nefrótico. En casos con factores de pronóstico adverso, también se puede utilizar CY u otro ICN. Estos medicamentos reducen la proteinuria mejorando la función de los podocitos y los efectos hemodinámicos (disminuyen la presión intraglomerular al inducir vasoconstricción arteriolar aferente) (Anders et al., 2020; Fanouriakis et al., 2021; Kiriakidou & Ching, 2020). Después, se debe seguir un tratamiento de mantenimiento a largo plazo posterior con MMF o azatioprina, sin glucocorticoides. En la enfermedad que no responde o en las recaídas, se puede considerar una biopsia renal repetida. Las opciones de tratamiento incluyen rituximab, cambiar a una terapia de inducción alternativa o agregar tacrolimus a MMF (Fanouriakis et al., 2021).

Clase V (NL membranosa): Se recomienda el tratamiento inmunosupresor desde el inicio con corticosteroides en dosis altas y azatioprina para casos leves, o tacrolimus/ciclosporina-A/MMF/CY intravenosa para casos moderados a graves. Si no se logra reducir la proteinuria a menos de 1000 mg/24h en 3-12 meses y persiste en rango nefrótico a pesar del bloqueo renina-angiotensina-aldosterona, el MMF es la opción preferida debido a su relación favorable eficacia/toxicidad, mientras que CY son opciones alternativas, seguido de terapia de mantenimiento con azatioprina. Durante la terapia de mantenimiento, se reducirán gradualmente los corticosteroides (Fanouriakis et al., 2021).

2.2 Biomarcadores en Lupus Eritematoso Sistémico y Nefritis Lúpica

Un biomarcador, es un signo físico o una alteración celular, bioquímica, molecular o genética mediante la cual se puede reconocer y/o monitorizar un proceso biológico y evaluarlo cualitativa y/o cuantitativamente en el laboratorio. Según la Administración de Alimentos y Medicamentos de los EE.UU. (FDA) y el Grupo de Trabajo de

Biomarcadores de los Institutos Nacionales de Salud (NIH), los biomarcadores pueden clasificarse en siete tipos, como se indica en la en la Tabla 9 (Ugarte-Gil et al., 2019).

Tabla 9. Tipos de biomarcadores y sus definiciones según el Grupo de Trabajo de Biomarcadores de la FDA-NIH.

Tipo de biomarcador	Definición	Ejemplo en el entorno clínico de LES
Biomarcador de susceptibilidad/riesgo	Un biomarcador que indica el potencial de desarrollar una enfermedad o afección médica en un individuo que actualmente no tiene una enfermedad clínicamente aparente o la afección médica.	El alelo HLA-DR3 (HLA-DRB1 * 0301) está fuertemente asociado con la susceptibilidad al LES.
Biomarcador diagnóstico	Un biomarcador utilizado para detectar o confirmar la presencia de una enfermedad o afección de interés o para identificar individuos con un subtipo de la enfermedad.	Los anticuerpos anti-Sm son un biomarcador altamente específico para el diagnóstico de LES (especificidad, alrededor del 99%) pero tienen una baja sensibilidad, siendo detectable en solo el 5-30% de los pacientes con LES. Son prácticamente patognomónicos de LES y cuando se detectan en individuos asintomáticos, la aparición de LES suele aparecer en el plazo de un año.
Biomarcador de Monitoreo	Un biomarcador medido en serie para evaluar el estado de un enfermedad o condición médica o para evidencia de exposición a (o efecto de) un producto médico o un agente ambiental.	El aumento del título de anticuerpos anti-C1q se ha sugerido como un biomarcador predictor de brotes renales con una sensibilidad que oscila entre el 76% y el 97% y una especificidad entre el 71% y el 95%.
Biomarcador Farmacodinámico/ de Respuesta	Un biomarcador utilizado para demostrar que se ha producido una respuesta en un individuo que ha estado expuesto a un producto médico o agente ambiental.	Los linfocitos B circulantes se pueden utilizar como biomarcador farmacodinámico/de respuesta para evaluar la respuesta a un inhibidor específico del estimulador de linfocitos B (p. ej., Belimumab) a pacientes con LES.
Biomarcador predictivo	Un biomarcador que se utiliza para identificar a las personas que tienen más probabilidades que individuos similares sin el biomarcador de experimentar un efecto favorable o desfavorable por la exposición a un producto médico o un agente ambiental.	El genotipo de tiopurina metiltransferasa (TPMT) o la actividad de esta enzima se utiliza como un biomarcador predictivo antes del tratamiento con azatioprina, para identificar pacientes en riesgo de toxicidad severa ya que el fármaco puede alcanzar concentraciones altas en aquellos con un genotipo particular.
Biomarcador pronóstico	Un biomarcador utilizado para identificar la probabilidad de un evento, recurrencia o progresión de la enfermedad en pacientes que tienen la enfermedad o condición médica de interés.	La expresión túbulo-intersticial y niveles urinarios elevados de TGF-B son marcadores predictivos de daño renal crónico en NL.
Biomarcador de seguridad	Un biomarcador medido antes o después de una exposición a un producto médico o un agente ambiental para indicar la probabilidad, presencia o grado de toxicidad como un efecto adverso.	El recuento de neutrófilos se puede utilizar como biomarcador de seguridad. Al evaluar a los pacientes con agentes citotóxicos (por ejemplo, ciclofosfamida) para ajustar la dosis o para determinar la necesidad de interrumpir la terapia.

La búsqueda de una variedad de biomarcadores del lupus ha aumentado considerablemente en las últimas décadas. En este sentido, los biomarcadores de lupus se clasifican en biomarcadores de susceptibilidad, diagnóstico, actividad de la enfermedad y afectación de órganos específicos, principalmente de NL. Algunos de estos biomarcadores se enumeran en la Tabla 10 (Ugarte-Gil et al., 2019).

Tabla 10. Biomarcadores potenciales en el Lupus Eritematoso Sistémico y Nefritis Lúpica

Susceptibilidad al LES (predisposición genética)	Diagnóstico	Actividad de la enfermedad	Biomarcadores de lupus órgano-específicos – NL
<p>Defectos en apoptosis, autofagia, reparación del ADN, función del lisosoma: NCF1, NCF2, ATG5, HIP1, CDKN1B, CLEC16A, DRAM1, ATG16L2, SMG7, RAD51B, TERT, LYST, CTSB, GALC</p> <p>Defectos de eliminación: FCGR2A, ITGAM</p> <p>Señalización TLR o IFN-1: IFIH1, STAT4, MIR146A, IRF5, IRF7, IRF8, JAK2, TYK2, TLR7, IRAK1, RNASEH2C, SLC15A4</p> <p>Señalización inmunitaria de los LT: TNFSF4, CD80, IL12A, TCF7, IL12B, SH2B3, PDHX/CD44, ZFP90, CD226</p> <p>Función inmunológica desconocida: NMNAT2, EDEM3, TET3, ABHD6, MYNN, TERT, UHRF1BP1, ANKS1A, ATXN1, XKRF1, XKR6, WDFY4, PCNX3, DHCR7/NADSYN1, PHLDB1, DDX6/TREH, PRICKLE1, FAM98B, PLD2, SYNGR1, CXorf21, PRPS2, FAM86B3P/PRAG1/CLDN23/MFHAS1</p> <p>Señalización inmunitaria de los LB: BANK1, PXX, PRDM1, BLK, LYN, ARID5B, CXCR5, TNFSF13B, CIITA/SOCS1</p> <p>Interacción y señalización de LB: PTPN22, IL10, PTPRC, RASGRP3, IKZF2, AFF1, HLA clase II, HLA clase III, DEF6, BACH2, IKZF1, ETS1, ELF1, RASGRP1, CSK, CCL22, IKZF3</p> <p>Defectos genéticos en LES monogénico</p> <p>Defectos de eliminación: Deficiencias del complemento (C1q, C1r/C1s, C2, C4A, C4B) y mutaciones de DNASE1, DNASE1L3, PEPD</p> <p>Señalización del IFN-1: mutaciones en ACP5, ADAR1, IFIH1, SAMHD1</p> <p>Defectos de tolerancia: mutaciones en PRKCD</p>	<p>Anti-dsDNA, Anti-Sm, Anti-P ribosomal, C3 y C4</p> <p>Poco frecuentes</p> <p>CP-CAP y Anti-nucleosoma</p>	<p>Anticuerpos anti-dsDNA, C3 y C4</p> <p>Poco frecuentes</p> <p>CB-CAP, IFN-a y genes inducibles por IFN, BLyS (BAFF), ABRIL</p> <p>Niveles de citocinas séricas: IL-6, IL-10, IL-12, IL-15, IL-18, TNF-a</p> <p>Receptores de citocinas solubles: TNFR, receptor IL-2</p> <p>Marcadores de activación endotelial: ICAM, VCAM</p> <p>Proteínas de fase aguda: proteína C reactiva, ferritina</p> <p>Marcadores celulares: CD27 elevado en células plasmáticas</p> <p>Electroforesis de proteínas séricas: hipergammaglobulinemia sugiere un proceso inflamatorio sistémico</p>	<p>Proteinuria, depuración de creatinina, cociente proteína/creatinina en orina, relación albúmina-globulina baja, sedimento urinario, C3, C4 y Anti-dsDNA</p> <p>Poco frecuentes</p> <p>Anti-C1q y Anti-nucleosoma</p> <p>Biomarcadores de orina</p> <p>Citocinas: IL-6, IL-17, TWEAK, adiponectina</p> <p>Quimiocinas: MCP-1, RANTES, CXCL-10, CXCR3, CXCR16</p> <p>Moléculas de adhesión: VCAM-1, ICAM-1</p> <p>Factores de crecimiento y fibrosis: TGF-B y VEGF</p> <p>Otros biomarcadores: NGAL, hepcidina, osteoprotegerina</p>

2.2.1 Autoanticuerpos

Las pruebas serológicas son herramientas importantes para evaluar la actividad y predecir los brotes de la enfermedad en pacientes con LES. Estas pruebas detectan la presencia de autoanticuerpos en la sangre que se dirigen contra diversos antígenos (Elsayed, Kamaly, & Esmail, 2022; Justiz Vaillant, 2020). Algunos de los autoanticuerpos más comunes y sus objetivos en el espacio extracelular son:

- Anticuerpos antinucleares (ANA): Son dirigidos contra antígenos nucleares, como el ADN, las histonas y otras proteínas nucleares. Y se utilizan como biomarcadores en el diagnóstico y seguimiento del LES y otras enfermedades autoinmunes. Su detección se realiza mediante técnicas como la inmunofluorescencia indirecta (IFI). Los resultados de la prueba incluyen la evaluación de positividad, patrón de tinción y título (Pisetsky & Lipsky, 2020).

Los ANA pueden presentar diferentes patrones de tinción, como patrón granular, homogéneo y nucleolar. Estos patrones están asociados con la presencia de diferentes anticuerpos y pueden proporcionar información adicional sobre el subtipo de LES y otras enfermedades autoinmunes (Justiz Vaillant, 2020). El título de los ANA indica la concentración de estos anticuerpos en la muestra y suele estar más elevada en lupus activo (Fanouriakis et al., 2021).

Es importante tener en cuenta que un ANA positivo no confirma el diagnóstico de LES, porque pueden estar presentes en títulos 1:40 aproximadamente en el 25% de la población sana y en otras enfermedades autoinmunes y otras condiciones clínicas. Asimismo en pacientes tratados con ciertas drogas: procainamida, hidralazina, isoniazida y clorpromazina donde además se encuentran anticuerpos anti-histona (Agmon-Levin et al., 2014; Justiz Vaillant, 2020; Rivera F, 2020). Sin embargo, un resultado negativo de ANA en caso de síntomas muy sugerentes de LES, no excluye el diagnóstico, especialmente en las etapas tempranas del LES o debido a errores en la metodología de la prueba (Fanouriakis et al., 2021).

- Anticuerpos anti-ADN de doble cadena (anti-dsDNA): Son anticuerpos que se unen al ADN bicatenario. Se encuentran en aprox. el 60 al 70% de los pacientes, y tienen

un 95% de especificidad para el LES. Su presencia se correlaciona con la actividad de la enfermedad, debido a que sus niveles pueden variar con el tiempo. Por ello, la prueba se realiza repetidamente durante la monitorización del paciente, dado que los brotes de enfermedad caracterizan el curso del LES. Debido a que la clase IgG, en particular los de la subclase IgG1 e IgG3 de estos anticuerpos pueden fijar el complemento, su presencia también se correlaciona con disminuciones de C3 y C4 (Borchers et al., 2012; Justiz Vaillant, 2020; Pisetsky & Lipsky, 2020; Yung & Chan, 2012).

- Anticuerpos anti-Smith (anti-Sm): Son una clase de anticuerpos anti-RBP que reconoce componentes proteicos de ribonucleoproteínas nucleares pequeñas (snRNP) en un complejo con moléculas de ARN de la serie U1, U2, U4 y U5. Suelen estar siempre asociados con los anticuerpos anti-U1-RNP. Carecen de sensibilidad se detectan apenas en el 10-30% de los pacientes con LES, pero son patognomónicos con una especificidad del 99%. Se observan más en pacientes afroamericanos con LES (Justiz Vaillant, 2020; Yung & Chan, 2012).
- Anticuerpos anti- ribonucleoproteínas (anti-RBP): Son anticuerpos que reconocen complejos ARN-proteína. También se denominan anticuerpos anti-ENA debido al uso de Antígeno Nuclear Extraíble (ENA) como fuente de antígeno en ciertos ensayos. No forman parte de los criterios de clasificación porque tienen una distribución más amplia entre enfermedades.

Las respuestas de anticuerpos anti-RBP suelen ser de larga duración y varían poco con el tiempo, consistente con la producción de anticuerpos por células plasmáticas de vida larga. Por lo tanto, no es necesario repetir las pruebas de manera rutinaria después de la evaluación inicial. Aunque, en algunos pacientes, los títulos de anticuerpos anti-RNP pueden variar y correlacionarse con la actividad de la enfermedad. Además, en vista que algunos fármacos inmunosupresores de uso generalizado, como el MMF, pueden disminuir las poblaciones de células plasmáticas (la presunta fuente de anticuerpos anti-RBP) la monitorización

periódica puede ser justificada. A este grupo pertenecen los anticuerpos anti-U1 ribonucleoproteína (U1-RNP), anti-Ro/SSA y anti-La/SSB (Pisetsky & Lipsky, 2020).

Por otra parte, la asociación entre autoanticuerpos específicos y fenotipos clínicos en el LES sigue siendo difícil de establecer. Sin embargo, se ha identificado una asociación destacada entre la NL y los anticuerpos nucleares en orden de prevalencia como anti-dsDNA, anti-nucleosoma y anti-Smith (Borchers et al., 2012; Yung & Chan, 2012). Aunque la NL también puede desarrollarse incluso en ausencia de autoanticuerpos nucleares. Esto implica que los anticuerpos sin especificación nucleófila en orden de prevalencia como anti-C1q, proteína P anti-ribosómica (75%), anti-anexina II (32-65%) y anti- α -actina (20%) también son nefritogénicos (Borchers et al., 2012; Yung & Chan, 2012). Además, en algunos casos de NL, se ha observado la presencia de anticuerpos citoplasmáticos anti-neutrófilos, que impulsan la formación de NETs y el daño microvascular en los riñones (Anders et al., 2020; Fortuna & Brennan, 2013; Ugarte-Gil et al., 2019).

A continuación, se detallan algunos anticuerpos nefritogénicos:

- Anticuerpos anti-dsDNA: Descritos más arriba, se encuentran en aproximadamente el 70 al 96% de los pacientes con NL activa (Borchers et al., 2012; Yung & Chan, 2012).
- Anticuerpos anti-nucleosoma o anti-cromatina (anti-Nuc): Son anticuerpos que se unen a los complejos de ADN-histona liberados por las células apoptóticas. Estos complejos, conocidos como nucleosomas, son estructuras formadas por alrededor de 170 a 200 pares de bases de ADN envueltos alrededor de dos octameros de proteínas histónicas (Mok, 2010). Por ello, suelen expresarse junto a los anticuerpos anti-dsDNA y anti-histona (Elsayed et al., 2022; Pisetsky & Lipsky, 2020).

Los anticuerpos anti-Nuc exhiben una sensibilidad que varía entre el 48 y el 100% y una especificidad que oscila entre el 90 y el 99 % para el LES (Mok, 2010). Esto significa que su presencia puede ser útil como un marcador serológico en el diagnóstico de la enfermedad. En términos de patogenicidad, los anti-Nuc tienen una especificidad similar a los anticuerpos anti-dsDNA, pero una mayor sensibilidad en pacientes con NL. Se encuentran en aproximadamente el 60 al 90% de los pacientes con NL activa (Borchers et al., 2012; Yung & Chan, 2012).

Los nucleosomas pueden unirse a componentes como la heparina sulfato y el colágeno de la membrana basal glomerular, actuando como moléculas puente que promueven la inflamación y el daño renal una vez que son reconocidos por los anti-Nuc y otros anticuerpos nefritogénicos (Mok, 2010). Se ha informado que los nucleosomas poseen una inmunogenicidad más intensa en comparación con el ADN o las histonas, lo que resulta en una respuesta inmunitaria más potente por parte de linfocitos Th (Anders et al., 2020; Elsayed et al., 2022).

- Anticuerpos anti-Sm: También descritos más arriba, su prevalencia en NL varía del 10-60% (Borchers et al., 2012; Yung & Chan, 2012).
- Anticuerpos anti-C1q: Son anticuerpos que se dirigen contra la proteína C1q del sistema del complemento. C1q es una molécula compleja de 460 kDa, que comprende seis subunidades cada una compuesta por tres cadenas polipeptídicas A, B y C. Estas subunidades contienen una cabeza globular carboxiterminal, una región de triple hélice y una región similar al colágeno (Pickering & Botto, 2010).

Su presencia se ha detectado en aproximadamente el 40 al 97% de los pacientes con LES (Borchers et al., 2012; Yung & Chan, 2012). Su presencia se ha relacionado a la exposición prolongada del sistema inmunitario a los epítomos C1q o contrariamente por la deficiencia de C1q que provoca una eliminación defectuosa de células apoptóticas y CI. Los anticuerpos anti-C1q también se han encontrado en vasculitis sistémica, artritis reumatoide, síndrome de Goodpasture, infección por el virus del VIH y otras enfermedades autoinmunes específicas de órganos. En la NL

se ha propuesto que los anti-C1q pueden tener un papel patogénico al inducir la activación del complemento y la formación de CI que se depositan en los tejidos renales. En pacientes con NL, el título de anti-C1q se correlaciona fuertemente con la actividad de la enfermedad renal, con una sensibilidad que varía del 44 % al 100 % y una especificidad del 70 % al 92 %. Así como en una pequeña proporción de individuos sanos (C.-C. Liu, Manzi, & Ahearn, 2005; Mok, 2010).

2.2.2 Otros biomarcadores serológicos

Es importante destacar que además de los autoanticuerpos existen otros biomarcadores de relevancia, que se detallan a continuación:

- Sistema del complemento: Está compuesto por más de 30 proteínas plasmáticas que funcionan en cascada y desempeñan varias funciones inmunológicas (quimiotaxis, lisis y depuración). Si bien la participación del complemento en la patogénesis del LES está bien aceptada, su papel exacto aún no está claro. Por un lado, las deficiencias hereditarias de los componentes del complemento se asocian con un mayor riesgo de padecer la enfermedad. Y a su vez, los componentes del complemento parecen mediar en el daño tisular iniciado por autoanticuerpos. Por ende, el consumo de complemento, manifestado por niveles bajos de C3 o C4, puede ser un indicador de actividad de la enfermedad (Morell et al., 2021). Además, este marcador se correlaciona mejor con ciertas manifestaciones clínicas de la enfermedad, especialmente la NL (Kim, Jeon, Yoon, & Suh, 2010).
- Vitamina D: Se obtiene de la radiación solar ultravioleta B (UVB) mediante la exposición de la piel sobre el 7-deshidrocolesterol y de fuentes dietéticas de origen animal, como el huevo o pescado, gracias a la cual obtenemos el 80% de vitamina D3 o colecalciferol. O de fuente dietética de origen vegetal lo que supondría el 20% restante que se obtiene como vitamina D2 o ergocalciferol (Conde Sánchez, 2019). En cualquiera de sus dos formas (vitamina D3 o D2) es inactiva y, para ejercer sus funciones biológicas, necesita someterse a dos hidroxilaciones sucesivas. La primera

hidroxilación tiene lugar en el hígado, donde la vitamina D se convierte en 25-hidroxitamina o calcidiol, que tiene una vida media larga (3-4 semanas), y es el mejor marcador de los depósitos de vitamina D en el organismo. La segunda hidroxilación ocurre en el riñón como en otras células corporales, que convierten la 25 hidroxitamina en 1,25-dihidroxitamina D o calcitriol, la forma activa de la Vitamina D (abreviado 1,25-(OH)₂ D₃), reacción que cataliza la enzima 1 α -hidroxilasa (Conde Sánchez, 2019).

El calcitriol debido a la presencia de su receptor (VDR) que se expresa de forma ubicua en casi todas las células del cuerpo promueve la mineralización ósea en el sistema músculo-esquelético, estimula su propia síntesis y reabsorción en el riñón, e inhibe la síntesis y la secreción de PTH en la paratiroides (Conde Sánchez, 2019). En el sistema inmunológico, modula la respuesta inmune para evitar la inmunopatología. Por un lado optimiza la respuesta de la inmunidad innata frente a infecciones, promoviendo la quimiotaxis; fagocitosis; y síntesis de péptidos antimicrobianos. Por otro lado, limita la inmunidad adquirida inhibiendo la diferenciación y estimulando la apoptosis de células plasmáticas. También retardando la activación completa de los linfocitos T y la proliferación celular exagerada (Conde Sánchez, 2019).

Los estudios más grandes hasta la fecha muestran una correlación significativa entre una mayor actividad de LES y una menor concentración de vitamina D. Por lo tanto, se necesita una evaluación periódica y reemplazo para pacientes con deficiencia de vitamina D (Kamen, 2014; Lisnevskaja et al., 2014; Parks et al., 2017). Actualmente hay una gran controversia, para establecer cuáles son los niveles séricos óptimos de vitamina D (medida en forma de 25- hidroxitamina D, cuya vida media es aproximadamente de dos a cuatro semanas). Desde el grupo de trabajo de Metabolismo Mineral de la SEEN, se acepta que deben mantenerse unas concentraciones de entre 30 y 70 ng/ml. Niveles por debajo de 20 ng/ml son indicativos de insuficiencia y por debajo de 10 ng/ml de deficiencia (Conde Sánchez, 2019).

- Ferritina: Es una proteína intracelular presente en hígado, bazo y médula ósea, encargada de regular los niveles de hierro en el cuerpo. Las causas fisiopatológicas por las que tiende a elevarse son: 1) Sobrecarga de hierro, debido a trastornos genéticos como la hemocromatosis hereditaria, también como resultado de transfusiones sanguíneas frecuentes o consecuente al hipertiroidismo 2) Inflamación y enfermedades crónicas, por lo que se considera una proteína de fase aguda. Por lo tanto, la ferritina alta es común en personas que tienen ciertas enfermedades inflamatorias como LES, artritis reumatoide, esclerosis múltiple y síndrome antifosfolípido (sin embargo, su rol no ha sido definido) y enfermedad renal crónica 3) Enfermedad hepática, como la hepatitis crónica/cirrosis como resultado de la acumulación de hierro en el hígado o como respuesta inflamatoria asociada con estas enfermedades 4) Trastornos hematológicos, como la anemia hemolítica, talasemia, anemia de células falciformes que pueden provocar una excesiva destrucción de glóbulos rojos, lo que lleva a una liberación de hierro y un aumento de ferritina (Tripathy, Panda, & Das, 2014).

2.3 β 2microglobulina

La β 2Microglobulina (B2M) es una proteína de bajo peso molecular (11 kDa), compuesta por aproximadamente 100 aminoácidos. Se sintetiza en todas las células nucleadas y se libera en la circulación (Argyropoulos et al., 2017; Huang et al., 2019).

2.3.1 Funciones biológicas

Su función principal radica en formar un complejo no covalente con la cadena alfa del antígeno leucocitario humano I (HLA-I), lo que contribuye al correcto plegamiento y transporte de estas moléculas a la superficie celular. Donde el complejo HLA-I/B2M media la presentación de antígenos a los linfocitos T, un paso crucial para el inicio de la respuesta inmune adaptativa (Argyropoulos et al., 2017; Huang et al., 2019).

La B2M también forma complejos con otras moléculas similares a MHC-I no clásicas, que desempeñan diversos roles en el sistema inmunológico y en otros procesos

fisiológicos. Uno de los roles está involucrado en la inmunidad de las mucosas. CD1 presenta antígenos lipídicos a linfocitos T especializados, lo que desencadena respuestas inmunitarias específicas en los tejidos mucosos. Mientras MR1 es esencial para la activación en mucosas de linfocitos T innatos que reconocen metabolitos bacterianos y fúngicos. Además, los complejos con HLA-E, -F, -G están implicados en la regulación de la respuesta inmunitaria contra el feto en desarrollo, evitando así el rechazo materno. Otro aspecto importante es la interacción de la B2M con el receptor Fc neonatal (FcRn) que se expresa en los podocitos. Este complejo contribuye a la homeostasis de la albúmina, manteniendo sus niveles normales en la circulación gracias a que evita su degradación. Además, el complejo FcRn-B2M facilita la depuración de inmunoglobulinas evitando su acumulación que podría interferir con la filtración glomerular, brindando protección inmunológica en el tracto urinario. Otro de sus roles está involucrado en la absorción del hierro en el intestino a través de su asociación con HFE/HLA-H (Argyropoulos et al., 2017; Huang et al., 2019).

2.3.2 Biomarcador en enfermedad

La medición de los niveles de la B2M en suero o en orina se utiliza como un herramienta diagnóstica y pronóstica en diversas enfermedades.

La síntesis diaria de la B2M varía de 50 a 200 mg, con una vida media estimada de aproximadamente 2 horas. La concentración sérica refleja la liberación en la circulación de la B2M no unida al MHC-I. Una vez en la circulación, la B2M se filtra libremente en los glomérulos y luego es reabsorbida por las células del túbulo contorneado proximal (Choe, Park, & Kim, 2014). Debido a su eficiente reabsorción la concentración de la B2M en la orina es generalmente baja (aprox. menos de 360 µg/l) (Argyropoulos et al., 2017).

Es importante destacar que los niveles séricos de B2M pueden elevarse en dos situaciones principales:

- En primer lugar por una alteración en la función renal que disminuye la filtración glomerular, lo que afecta la eliminación de la B2M y ocasiona acumulación y, en consecuencia niveles séricos elevados. Esta disminución en la filtración glomerular puede ser causada por diversas condiciones, como enfermedad renal crónica, insuficiencia renal aguda, nefritis y lesiones en los glomérulos. Y, por lo tanto, los niveles séricos de B2M se pueden utilizar precisamente para monitorear dicha función (Argyropoulos et al., 2017; Huang et al., 2019; Kim et al., 2010; B. Liu, Lu, Lin, & Zou, 2021; Tony EAE, 2016). Además, la medición de B2M en suero puede ser útil en la evaluación de la eficacia de los tratamientos, ya que se observa que después de la terapia, los niveles séricos de B2M vuelven a disminuir significativamente (Wakabayashi et al., 2013).

- En segundo lugar, debido a un aumento en su síntesis que ocurre generalmente cuando la respuesta inmune está activa. Por ejemplo, en diversas patologías en las que el sistema inmunológico está involucrado, como trastornos inflamatorios y autoinmunes, y neoplasias. Por ende, la elevación de los niveles séricos de B2M puede reflejar la carga de la enfermedad y la activación del sistema inmunológico (Argyropoulos et al., 2017; Madureira Silva, Moscoso-Solorzano, Nishida, & Mastroianni-Kirsztajn, 2012; Tony EAE, 2016).

En conformidad con lo anterior, en pacientes con LES los niveles de B2M en suero pueden estar más elevados en comparación con individuos sanos. Especialmente en aquellos con enfermedad activa (Argyropoulos et al., 2017). Además, la elevación de B2M sérica en pacientes con LES se ha asociado con la presencia y gravedad de la NL (Madureira Silva et al., 2012).

En cuanto a la detección de niveles urinarios elevados de B2M puede deberse a:

- La función túbulo renal y el daño tisular: Tradicionalmente, los niveles urinarios elevados de B2M se han considerado indicativos de lesión del túbulo. Sin embargo, en la actualidad el daño tubular se reconoce cada vez más como un predictor importante de

la progresión en la disminución de la función renal. Es así, que la B2M urinaria puede ser también un biomarcador de patología glomerular, como por ejemplo, en lesión renal aguda, ERC, NL y glomerulonefritis por anticuerpos anti-citoplasma de neutrófilos (ANCA) (Huang et al., 2019; Monteiro et al., 2016). Por tanto, cuando se interpreta un nivel urinario alto de B2M, siempre se debe considerar tanto el daño tubular como la posibilidad de un proceso glomerular que conduzca al mismo (Argyropoulos et al., 2017).

- La actividad inflamatoria: En presencia de una respuesta inflamatoria, que involucra alto retiro celular, como ciertas enfermedades reumáticas, se observa una mayor competencia de la carga proteica filtrada en el túbulo proximal. Esto significa que las proteínas filtradas compiten entre sí por los transportadores y receptores en la membrana tubular. Esta competencia puede afectar la eficiencia de la reabsorción de proteínas por parte de las células tubulares. Como resultado, se puede detectar proteinuria, que puede utilizarse como un marcador de la actividad inflamatoria. Y también, debido a la acumulación de proteínas en el túbulo pueden activarse células tubulares que desencadenen respuestas inflamatorias locales, que perpetúen el daño renal y promuevan la progresión de la enfermedad (Argyropoulos et al., 2017).

2.4 Semaforina3A

La Semaforina3A (Sema3A) es una proteína perteneciente a la familia de las semaforinas. A continuación, se describe brevemente el concepto de las semaforinas:

- Las semaforinas (Semas) son proteínas de señalización celular: Las Semas descubiertas a principios de la década de 1990, son una gran familia de proteínas de señalización que desempeñan un papel crucial en el desarrollo y la función del sistema nervioso, así como en otros procesos biológicos, incluida la respuesta inmunológica. Originalmente fueron descubiertas como moléculas guía en la formación de conexiones neuronales durante el desarrollo embrionario, donde regulan el crecimiento o la inhibición de las células nerviosas. Es por ello, que su

nombre deriva de la palabra 'semáforo', que significa transmitir información mediante un sistema de señalización (Koga y Takayanagi, 2012; Worzfeld y Offermanns, 2014).

Se clasifican en ocho clases: las clases 1, 2 y 5C, están presentes en los invertebrados; las clases 3, 4, 5A-5B, 6 y 7 se encuentran en los vertebrados; mientras que la clase 8 de Semas está codificada por varios virus de ADN. Entre los Semas de vertebrados, las Semas de la clase 3 son secretadas, las clases 4 a 6 son moléculas transmembrana y Sema-7A se une a la membrana celular a través de un anclaje GPI (Lotfi & Zamanimehr, 2022).

Tienen un sello estructural con dominios específicos, como el dominio Sema, que media la interacción entre semaforinas y plexinas (los principales receptores de las semaforinas implicados en la transducción de señales). Además, contienen el dominio PSI (plexinas-semaforinas-integrinas), que media la interacción entre las semaforinas y las integrinas, que participa en la adhesión y migración celular. Y, en las semaforinas 3, 4 y 7 el dominio tipo C2 similar a las regiones constantes de las inmunoglobulinas, que puede conferirles funcionalidades específicas en la interacción con otras moléculas y células (Xia & Worzfeld, 2016).

La Sema3A, es por tanto, una proteína de señalización celular secretada al medio extracelular que pertenece a la clase 3 de semaforinas. Fueron las primeras en ser descubiertas en vertebrados. La señalización de la Sema3A está mediada por un complejo formado por receptores de unión: las neuropilinas (NP-1 y NP-2) moléculas de la superficie celular que carecen de un dominio citoplasmático competente para la señalización, y receptores de señalización plexinas (A1 o A3) moléculas transmembrana que en asociación con las neuropilinas se comportan como receptores de semaforina completamente funcionales (García, 2019).

2.4.1 Funciones biológicas

La Sema 3A participa en diversas funciones biológicas durante el desarrollo y la homeostasis de varios sistemas. Actúa como una molécula señalizadora en el desarrollo

embrionario del SNC, así como en la regulación de la angiogénesis (crucial para el desarrollo y remodelación vascular en la edad adulta) y la morfogénesis de órganos y tejidos. Y también en la regulación de la respuesta inmunitaria donde la Sema3A juega un papel de regulador tanto positivo como negativo (Anderson et al., 2017).

Por un lado, actúa como un regulador positivo de las células del sistema inmune innato, como las DC y los macrófagos, promoviendo la liberación de citocinas inflamatorias en ciertas condiciones patológicas. Por ejemplo, en la lesión renal aguda, la administración de Sema3A en ratones agrava la liberación de citocinas inflamatorias causada por los agonistas de TLR o la sepsis bacteriana. A su vez, la administración de un anticuerpo monoclonal anti-Sema3A con la capacidad de neutralizar los efectos de Sema3A tanto *in vitro* como *in vivo* mejora la tasa de supervivencia de ratones con sepsis inducida por lipopolisacáridos (Lotfi & Zamanimehr, 2022).

Por otro lado, la Sema3A actúa como un regulador negativo de las células del sistema inmune adaptativo como los linfocitos T y B. Suprimiendo la sobreactivación de éstas células, aportando así, al mantenimiento de la autotolerancia. Debido a que es expresada por los linfocitos Treg que interactúan con DC inmaduras que presentan autoantígenos, evitando la activación de los linfocitos T autorreactivos vírgenes, proliferación y secreción de citocinas proinflamatorias. Además, también es expresada por los linfocitos B reguladores (Breg). Lo que sugiere que la Sema3A es un posible marcador para este subconjunto de células (Bejar et al., 2018; Lotfi & Zamanimehr, 2022).

Por lo tanto, debido a que la Sema3A posee varios efectos sobre las respuestas inmunitarias innatas y adaptativas, se identifican como "semas inmunitarias" o "semas inmunoreguladoras". Y, es de esperar que Sema3A participe en la patogénesis de diferentes trastornos inmunológicos, que van desde el cáncer hasta la autoinmunidad (artritis reumatoide, psoriasis, LES, esclerosis sistémica, y esclerosis múltiple) y las alergias, por lo que ha recibido una gran consideración (Bejar et al., 2018; Lotfi & Zamanimehr, 2022).

2.4.2 Biomarcador en enfermedad

Cabe resaltar, que en estudios histológicos preclínicos de modelos de ratón, la expresión de Sema3A en el glomérulo solo se detectó durante la organogénesis renal y después únicamente en las células epiteliales tubulares distales y del túbulo colector del riñón adulto. Mientras que Sema3A no se expresa en las células mesangiales glomerulares ni epiteliales del túbulo proximal (Jayakumar et al., 2013; K. Reidy & Tufro, 2011). Por otro lado, se ha demostrado que la administración sistémica exógena de Sema3A recombinante en ratones o la sobreexpresión específica de Sema3A en podocitos inducible por doxiciclina en ratones transgénicos provoca anomalías morfológicas marcadas en el corpúsculo renal, incluido el daño de los podocitos y la inflamación del endotelio glomerular que se acompañan de proteinuria (K. J. Reidy et al., 2013; Tapia et al., 2008).

Los niveles histológicos de Sema3A son significativamente elevados:

- En primer lugar en enfermedades renales como la nefropatía diabética con lesión tubular donde se encontró un gran aumento en la expresión de Sema3A en los podocitos y células epiteliales en túbulo distales y colectores, la cual fue mayor con el tiempo (Mohamed et al., 2014). Por otra parte, Aggarwal et al, también comprobó que en ratones diabéticos con sobreexpresión específica de Sema3A en podocitos, empeora la glomeruloesclerosis y la función renal (Aggarwal et al., 2015).
- En segundo lugar en NL, donde se ha observado una sobreexpresión de Sema3A en las biopsias renales, casi exclusivamente en los túbulo, en comparación con biopsias de riñones normales donde apenas están presentes. Convirtiéndose así en un marcador histológico de daño tubular (Zahava Vadasz et al., 2011). Además, se encontró que en las biopsias renales, la tinción de Sema3A aumenta en pacientes con NL activa en comparación con pacientes con LES activo no renal, pacientes con enfermedades glomerulares no lúpicas y controles sanos. También, se observa una fuerte expresión de Sema3A en los túbulo de los pacientes que no respondieron al tratamiento (Torres-Salido et al., 2019).

En tanto que los niveles séricos de Sema3A:

- Son significativamente elevados en los animales diabéticos sobre los animales de control. Además, los ratones diabéticos que expresan Sema3A mutante debido a la ablación genética de Sema3A o los ratones diabéticos inyectados con un péptido que bloquea los efectos inducidos por Sema3A (inhibición farmacológica) muestran menos albuminuria, fibrosis renal atenuada, una disminución en la infiltración de macrófagos y en la expresión renal de pro-genes inflamatorios, mientras que se mejora la función renal (Mohamed et al., 2014).

- Son significativamente disminuidos en enfermedades autoinmunes, como el LES donde la Sema3A se encuentra reducida en comparación con controles sanos y se correlaciona negativamente con el índice de actividad (SLEDAI) (Z Vadasz & Toubi, 2012). Mientras, que los niveles séricos más bajos de Sema3A están asociados con la NL (como resultado, la Sema3A puede ser un factor importante en la evolución del daño renal) y la presencia de anticuerpos anticardiolipina, que son marcadores de riesgo de eventos trombóticos en pacientes con LES (Z Vadasz & Toubi, 2012).

En tanto, que los niveles urinarios de Sema3A:

- Son significativamente elevados en pacientes con enfermedades renales, es así que varios estudios han sugerido a Sema3A como un marcador que predice tanto el desarrollo de lesión renal aguda (LRA) como crónica (LRC):

- Jayakumar et al, demostró que si bien Sema3A está ausente en la orina de ratones normales, se vuelve detectable después de una lesión tubular inducida por isquemia/reperfusión o cisplatino muchas horas antes de que los niveles de creatinina se eleven en el suero. Estos hallazgos preclínicos en ratones también son válidos en pacientes humanos pediátricos sometidos a cirugía de derivación cardiopulmonar, donde los niveles de Sema3A en la orina aumentan tan pronto como 2 horas después de la cirugía, mientras que la creatinina sérica aumenta significativamente solo después de 48 h (Jayakumar et al., 2013).

- Doi et al. utilizando muestras de orina de pacientes adultos en estado crítico tratados en UCI que experimentan múltiples agresiones renales, validaron que la excreción urinaria de Sema3A es un biomarcador predictivo de LRA humana, siendo la Sema3A urinaria en los grupos de LRA de inicio tardío y de progresión de LRA significativamente más alta que en los grupos de LRA establecida y sin progresión, respectivamente. Y, además, que la Sema3A urinaria en pacientes con LRA establecida sin progresión de la gravedad de LRA era tan baja como la que no presenta LRA (Doi et al., 2014).
- Mohamed et al, por otro lado, ha postulado a la Sema3A como un indicador de la gravedad de la enfermedad renal crónica (ERC). En humanos diabéticos con proteinuria, como en ratones, detectó un aumento de la excreción urinaria de Sema3A. El aumento de Sema3A se asoció con albuminuria severa y glucosa en sangre elevada, mientras que se observó un aumento no significativo en la excreción urinaria de Sema3A en la diabetes sin microalbuminuria (Mohamed et al., 2014).
- Viazzi et al, mientras tanto, reportó que los pacientes hipertensos, seleccionados en base a la presencia/ausencia de diabetes, con cualquier característica de daño renal crónico como albuminuria aumentada y tasa de filtración glomerular disminuida mostraron niveles de Sema3A en orina significativamente más altos en comparación con aquellos sin ERC (Viazzi et al., 2015).

Por tanto, el exceso de Sema3A renal se ha asociado a proteinuria aguda, debido al borramiento y la fusión de los pies de los podocitos, así como el daño de las células endoteliales y la regulación a la baja de las proteínas del diafragma de hendidura (Tapia et al., 2008; Zahava Vadasz et al., 2011; Z Vadasz & Toubi, 2012).

2.5 Método de Detección: RT qPCR

El ensayo RT-qPCR permite la medición rápida, precisa y sensible del ARNm objetivo durante la fase de amplificación exponencial mediante la detección de marcadores fluorescentes directamente relacionados con la cantidad de objetivo amplificado.

El PCR en tiempo real, también conocido como PCR cuantitativo o qPCR (*quantitative PCR*), se basa en la reacción en cadena de la polimerasa (*Polimerase Chain Reaction*), donde un fragmento de ADN puede ser copiado y amplificado billones de veces. En el qPCR, la señal de amplificación de ADN complementario (ADNc) es detectada y cuantificada a medida que la reacción avanza en tiempo real, esto se logra mediante la incorporación de una molécula fluorescente *Sybr Green* que se asocia al ADNc. Cuanto más ADNc se amplifica, mayor es la cantidad de *Sybr Green* unido y, por lo tanto, mayor la señal de fluorescencia. El resultado se expresa como el número de ciclos necesarios para que la amplificación alcance un umbral específico (Ct, también denominado como Cycle threshold) (Tamay de Dios, Ibarra, & Velasquillo, 2013).

El ADNc se obtiene previamente mediante una etapa de transcripción inversa (*Reverse-Transcription*; RT), que convierte el ARN en ADNc, con el fin de cuantificar moléculas de cualquier tipo de ARN.

Después de la amplificación, se realiza un análisis adicional llamado curva de fusión. En este paso, el termociclador incrementa gradualmente la temperatura para desnaturalizar el ADN. Durante este proceso, las moléculas de ADN se separan en hebras individuales y el *Sybr Green* se libera, lo que resulta en una disminución de la fluorescencia. La curva de fusión muestra la temperatura en la que se produce esta disociación, lo que ayuda a confirmar la especificidad del producto amplificado.

Debido al bajo número de copias de ARNm en el sedimento de orina, la técnica más utilizada para su detección molecular es el PCR acoplado a transcripción inversa (RT-PCR). Esto es especialmente adecuado para el estudio del sedimento de orina ya que el

número de células de interés suele ser pequeño. Debido a que la cantidad inicial de ADNc puede variar en más de seis órdenes de magnitud, a menudo se aplican estrategias de cuantificación relativas (Wang & Szeto, 2007).

El método más utilizado es el $\Delta\Delta C_t$ (Pfaffl, 2001) donde la cuantificación se logra a través de la diferencia de C_t s (ΔC_t) entre el gen de interés y un gen de referencia (también llamado gen de normalización) en la misma muestra. El método $\Delta\Delta C_t$ requiere que los genes de referencia elegidos tengan un nivel de expresión casi constante en todas las condiciones y muestras, porque los valores de C_t pueden verse influenciados por variaciones en la extracción de ARN (calidad y cantidad de ARN), transcripción inversa, concentración de ADNc y Reacción de PCR (incluidos componentes, parámetros y eficacia de la reacción). Los genes de referencia se seleccionan principalmente de genes de mantenimiento celular (*Housekeeping* en inglés) porque son esenciales para la supervivencia celular básica y normalmente se expresan constitutivamente en todas las células independientemente de las condiciones.

3 ANTECEDENTES

El diagnóstico de la actividad de la enfermedad y de la NL representan un desafío clínico. Dentro del gran abanico de autoanticuerpos que determinamos en la práctica clínica para LES, la mayoría tienen un importante papel como biomarcadores de autoinmunidad y de diagnóstico en un contexto clínico determinado. Por el contrario, dentro de este grupo de biomarcadores, muy pocos son indicadores de actividad de enfermedad (por ejemplo los anticuerpos dsDNA) y patogénicos de órgano (Mendez-Rayó et al., 2018). Particularmente, en casos de NL, la utilidad diagnóstica de la evaluación serológica (por ejemplo los anticuerpos anti-dsDNA, anti-Nuc, anti-C1q) puede variar entre los pacientes (Ugarte-Gil et al., 2019).

En pacientes con LES, la presencia de nefritis se sospecha por un análisis de orina anormal y/o elevación de la creatinina sérica, y el diagnóstico se confirma por hallazgos histopatológicos en la biopsia renal que es el estándar de oro en el diagnóstico, pronóstico y tratamiento de la NL. Sin embargo, por ser una técnica invasiva y por la imposibilidad de aplicarla de forma serial para el monitoreo de la NL, se hace necesario seguir explorando la utilidad diagnóstica de nuevos biomarcadores en fluidos biológicos cuya recolección sea menos invasiva (Saad-eldin, Abo Al-Fadl, Fathy, & El-Nashar, 2021).

De este modo, la β 2Microglobulina y la Semaforina3A han surgido como posibles biomarcadores relevantes en el contexto del LES y la NL.

La β 2Microglobulina es una proteína que se encuentra en la superficie de las células y juega un papel importante en el sistema inmunológico. En el contexto del LES, se ha observado un aumento significativo de la B2M urinaria en pacientes con esta enfermedad. Este aumento fue relativamente mayor en pacientes con NL, mientras que los niveles de B2M estaban significativamente elevados en pacientes con NL cuando se comparaba con los controles. Además, se ha encontrado que los niveles más altos de B2M en orina se correlacionan positivamente con la actividad de la enfermedad renal y

global del LES, así como con la presencia de proteinuria en pacientes con LES. Sin embargo, no se detectaron diferencias significativas en los niveles de B2M entre pacientes con NL activa e inactiva. Estos datos sugieren que la B2M urinaria podría ser un biomarcador potente de la actividad clínica general y el estado de afectación renal en pacientes con lupus (Argyropoulos et al., 2017; Choe et al., 2014; Huang et al., 2019; Kim et al., 2010; B. Liu et al., 2021; Morell et al., 2021; Tony EAE, 2016).

Por otro lado, la Semaforina3A es una proteína que participa en el desarrollo del sistema nervioso y también se ha implicado en la regulación del sistema inmunológico. Se ha sugerido que la Semaforina3A podría estar involucrada en la inflamación y la progresión de la NL en pacientes con LES. Según el estudio realizado por Torres-Salido et al., los niveles proteicos de Sema3A en la orina, medidos mediante ELISA, fueron significativamente más bajos en pacientes con NL activa en comparación con los grupos control (pacientes con LES activo no renal y controles sanos) mientras que los niveles urinarios de expresión génica de Sema3A en NL no presentaron diferencias entre pacientes con NL activa y otros grupos control (pacientes con LES activo no renal, pacientes con enfermedades glomerulares no lúpicas y controles sanos), ni entre los que respondieron y los que no respondieron al tratamiento (Torres-Salido et al., 2019).

En un estudio reciente realizado por Doron et al. se encontró que la excreción de Sema3A en la orina, medida mediante ELISA, fue significativamente menor en pacientes con LES en comparación con voluntarios sanos y pacientes con AR. Además, que la Sema3A en orina fue significativamente menor en pacientes con LES y nefritis lúpica en comparación con pacientes sin nefritis. También, se encontró una correlación inversa entre Sema3A en orina y la proteinuria, así como con la actividad de la enfermedad en LES (Doron et al., 2022).

4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La escases de biomarcadores para el seguimiento de la actividad del LES, especialmente no invasivos en la manifestación clínica de NL, ha llevado a la investigación continua de biomarcadores que pueden proporcionar información valiosa sobre el estado de la enfermedad.

En LES, los biomarcadores permanecen siendo objeto de constante investigación y desarrollo. Los estudios experimentales se centran en encontrar una combinación de biomarcadores no invasivos debido a la heterogeneidad en los mecanismos y fenotipos subyacentes a la enfermedad, con la esperanza que dicha combinación sea potencialmente más útil e informativa que los biomarcadores individuales (Anders et al., 2020; Borchers et al., 2012).

Esta búsqueda se realiza con el objetivo de proporcionar una mejor comprensión de la activación de LES y la participación específica de órganos, especialmente en el caso de la NL, una manifestación clínica que se asocia frecuentemente con un mal pronóstico debido a su progresión silenciosa y asintomática hasta etapas avanzadas (Anders et al., 2020). Además, en el ámbito de las enfermedades renales en general, también existe una necesidad insatisfecha de mejores biomarcadores (Argyropoulos et al., 2017). Y dado, que muchas enfermedades comparten vías moleculares comunes, es concebible que un biomarcador potencial no sea específico para una enfermedad en particular, pero podría ser útil para predecir y/o monitorear el proceso inflamatorio (Ugarte-Gil et al., 2019).

Por tanto, es fundamental contar con biomarcadores que permitan el seguimiento efectivo de la actividad de la enfermedad, especialmente en la NL, con el propósito de mejorar los resultados a largo plazo para los pacientes. Para ello, en este estudio evaluamos en la población de pacientes lúpicos la expresión génica en orina de dos biomarcadores específicos: β 2microglobulina y Semaforina3A.

4.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿La evaluación de los niveles de expresión génica de β 2microglobulina (β 2M) y Semaforina3A (Sema3A) en la orina de pacientes con LES es útil para distinguir la actividad de la enfermedad y la presencia de NL?

5 JUSTIFICACIÓN

En primer lugar, a diferencia de otras fuentes de muestras biológicas, como el suero o el tejido, el muestreo de orina no es invasivo, se puede recolectar, transportar y almacenar fácilmente, lo que permite un control frecuente en los pacientes con LES, en especial con NL. Además, los biomarcadores urinarios parecen ser más prometedores que los marcadores séricos en el estudio de la NL, dado que derivan de tejidos del sistema urinario, por lo que pueden reflejar directamente eventos patológicos renales. Por lo tanto, la orina es una fuente atractiva para encontrar biomarcadores potenciales de monitoreo de la actividad lúpica y el estudio de la NL (Morell et al., 2021; Tony EAE, 2016).

En segundo lugar, con los avances en la tecnología de la biología molecular, la cuantificación de la expresión del ARN mensajero (ARNm) en el sedimento urinario mediante transcripción inversa y reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (RT-qPCR), proporciona una herramienta adicional en la investigación de genes diana potencialmente involucrados en la patogenia de enfermedades renales (Wang & Szeto, 2007). Sugiriendo que puede proporcionar una información mucho más precoz de la actividad en LES y NL, ya que el ARNm es una molécula que se transcribe antes de la traducción de proteína (Schwanhäusser et al., 2011).

En tercer lugar, hasta el momento, el desempeño de la β 2Microglobulina y la Semaforina3A como biomarcadores en el diagnóstico de LES activo con afectación renal no ha sido completamente evaluado en pacientes lúpicos. A pesar del conocimiento relacionado de ambos biomarcadores poco se sabe sobre su expresión génica en orina, aún se requiere más investigación para confirmar la utilidad clínica de estos biomarcadores. Por tanto, surge la necesidad de realizar una investigación exhaustiva para determinar la utilidad de estos biomarcadores en la detección de la actividad de la enfermedad y la NL.

6 HIPÓTESIS

Los niveles de expresión de ARNm en orina de β 2microglobulina (β 2M) y Semaforina3A (Sema3A) podrían ser biomarcadores útiles en el diagnóstico de la actividad del LES y la presencia de NL.

7 OBJETIVOS

7.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el comportamiento de β 2Microglobulina y Semaforina3A en lupus eritematoso sistémico como biomarcadores de actividad de la enfermedad y nefritis lúpica mediante el análisis de la expresión génica por RT-qPCR en orina.

7.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Evaluar el comportamiento de biomarcadores potenciales en pacientes con LES y voluntarios sanos mediante la cuantificación por ELISA en suero.

Analizar el comportamiento de biomarcadores potenciales en pacientes con LES considerando la actividad de la enfermedad, mediante la cuantificación por ELISA en suero y orina.

Analizar el comportamiento de biomarcadores potenciales en pacientes con LES, diferenciando entre la presencia o ausencia de NL, mediante la cuantificación por ELISA en suero y orina.

Evaluar el comportamiento de β 2Microglobulina y Semaforina3A en pacientes con LES y voluntarios sanos mediante la cuantificación relativa de ARN mensajero por RT-qPCR en orina.

Analizar el comportamiento de β 2Microglobulina y Semaforina3A en pacientes con LES considerando la actividad de la enfermedad, mediante la cuantificación relativa de ARN mensajero por RT-qPCR en orina.

Analizar el comportamiento de β 2Microglobulina y Semaforina3A en pacientes con LES según la presencia o ausencia de NL mediante la cuantificación relativa de ARN mensajero por RT-qPCR en orina.

8 DISEÑO METODOLÓGICO

8.1 TIPO O DISEÑO DEL ESTUDIO

El estudio llevado a cabo fue un estudio observacional analítico de caso-control.

8.2 SITIO O CONTEXTO DEL ESTUDIO

El lugar de reclutamiento de los pacientes para el estudio fue la Unidad de Histocompatibilidad e Inmunogenética ubicada en el sexto piso del Instituto de Servicios de Laboratorio de Diagnóstico e Investigación en Salud (SELADIS) de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas de la Universidad Mayor de San Andrés en la Avenida Saavedra N° 2224 Zona Miraflores.

8.3 POBLACIÓN EN ESTUDIO

Los pacientes que se incluyeron en el estudio fueron aquellos que tenían un diagnóstico de LES y personas seleccionadas como voluntarios sanos.

8.3.1 Criterios de Inclusión

Se incluyeron pacientes mayores de 18 años, que otorgaron su consentimiento informado por escrito para participar de manera voluntaria en el estudio, diagnóstico de LES con o sin NL. Y que contaban con formulario de evaluación del índice de actividad de la enfermedad utilizando las puntuaciones SLEDAI-2000 (SLEDAI-2K) proporcionado por su médico tratante (ANEXO I).

Además, como grupo de control se inscribieron en el estudio personas aparentemente sanas considerando el área geográfica, edad y sexo del grupo caso.

El plazo para la inclusión en cada grupo fue en al menos 1 año y 6 meses durante el período de mayo de 2018 hasta noviembre de 2019.

8.3.2 Criterios de Exclusión

Se excluyeron pacientes con otras enfermedades autoinmunes, enfermedades sistémicas, trastornos hematológicos, cáncer, embarazo, infecciones y pacientes con uso de fármacos nefrotóxicos.

En el grupo control se excluyeron a personas emparentadas con pacientes con antecedentes de LES u otra enfermedad autoinmune, que estén cursando con proceso infeccioso, embarazo o enfermedad renal de otra causa.

8.3.3 Criterios de Eliminación

Se eliminaron pacientes que después de haber otorgado el consentimiento informado para participar en el estudio no asistieron al laboratorio para la toma de muestra sanguínea o recolección de muestra de orina.

8.4 TAMAÑO DE MUESTRA

En el presente estudio se recogieron los datos de 81 pacientes adultos de sexo femenino. El muestreo fue no probabilístico por conveniencia.

Grupo Caso: Pacientes con diagnóstico de LES (n =44).

Grupo Control: Voluntarios sanos (n =37).

8.5 DESCRIPCIÓN DE LAS TÉCNICAS Y PROCEDIMIENTOS

8.5.1 Recolección de las Muestras

8.5.1.1 Muestra sanguínea

Se extrajeron muestras de sangre periférica (5ml) de cada paciente y grupo de control después de un ayuno nocturno de 12 horas en un tubo sin anticoagulante. La muestra se centrifugó a 2000rpm/5min y se separó el suero para pruebas inmunológicas, creatinina, albúmina, ferritina, 25-OH-VitD y B2M.

8.5.1.2 Muestra urinaria

Se recolectaron 2 frascos de 100ml de la primera orina de la mañana de cada paciente, a los que se le indico que se lavaran sus manos con agua y jabón, abrieran el recipiente vacío para la orina, y orinaran una pequeña cantidad en la taza del inodoro y luego detengan el flujo de orina, para que después sostengan el recipiente de la orina a unas cuantas pulgadas (o unos pocos centímetros) de la uretra y orinen hasta que el recipiente esté lleno, y terminen de orinar en la taza del inodoro. Se recomendó que no tocan el interior del recipiente ni la tapa con las manos o los dedos para evitar contaminar la muestra. Y que además, entreguen la muestra al laboratorio lo antes posible después de su recolección.

8.5.2 Medición de biomarcadores serológicos

Las pruebas serológicas se midieron mediante la técnica de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) disponibles en el mercado siguiendo las instrucciones del protocolo de fabricación. Se midieron Anti-C1q, Anti-Nuc, B2M y 25 OH Vit-D (kit Orgentec, Alemania), Anti-dsDNA (kit Trinity, USA), y Ferritina (ACCUBIND, USA).

Mientras que los valores de albúmina, C3 y C4 fueron obtenidos de la historia clínica del paciente (ANEXO II).

8.5.3 Medición de biomarcadores Urinarios

La B2M se analizó mediante la técnica de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA) disponible en el mercado siguiendo las instrucciones del protocolo de fabricación (kit Orgentec, Alemania).

Por otro lado la cuantificación de los niveles de expresión de ARNm de β 2M y Sema3A se analizó mediante RT qPCR, como se detalla a continuación.

8.5.3.1 Extracción de ARN total

Se optó por utilizar el tampón guanidina isotiocianato-fenol-cloroformo (reactivo Trizol, Life Technologies-Invitrogen, Carlsbad, CA para realizar la extracción de ARN del sedimento urinario seguido de la precipitación con isopropanol.

Para ello, en un lapso no mayor a una hora se recolectaron en tubos cónicos libre de ARNsa de 50 ml, muestras de orina de los pacientes, se refrigeraron e inmediatamente se centrifugaron a $3000 \times g$ durante 30 min a 4°C . Se descartó el sobrenadante y se adicionó 1 ml de reactivo de Trizol (lisis). Se transfirió a un nuevo tubo de 1,5 ml. Se agitó en vórtex durante 15 segundos. Se dejó reposar durante toda la noche a -20°C .

Se descongeló y se dejó reposar 5 minutos a temperatura ambiente. Se añadió 200 μL de cloroformo. Se agitó en vórtex durante 15 segundos. Se dejó reposar durante 5 minutos a temperatura ambiente. Se centrifugó ($12.000 \times g$, 15 min, 4°C). Se transfirió la fase acuosa a un nuevo tubo de 1,5 ml. Se añadió un volumen de isopropanol. Se mezcló manualmente por inversión los tubos 4 veces. Se mantuvo en hielo durante toda la noche a -20°C .

Se centrifugó ($12.000 \times g$, 20 min, 4°C). Se descartó el sobrenadante. Se lavaron los tubos dos veces con 800 μl de etanol al 70% y se centrifugó ($12.000 \times g$, 10 min, 4°C). Se secó el sedimento de ARN manualmente por inversión de tubo y aspiración de los reactivos restantes mediante pipeteo prudente. Se resuspendió el ARN total en 35 μL de agua libre de RNasa y se transfirió a un nuevo tubo de 200 μL .

8.5.3.2 Concentración y pureza de las muestras mediante espectrofotometría

En el presente estudio se evaluó el rendimiento de ARN y la pureza determinados mediante espectrofotometría. De este modo la concentración de la muestra de ARN se calculó teniendo en cuenta el valor de absorbancia obtenido a una longitud de onda de 260 nm. Mientras que la presencia de ARN en la muestra se evaluó con un radio $A_{260}/A_{280} > 2.1$.

8.5.3.3 Transcripción inversa

El ARN celular se transcribió de forma inversa usando un kit de síntesis de ADNc de primera cadena de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se utilizó 1 µg de ARN aislado de cada orina para generar ADNc mediante transcripción inversa, en un volumen de reacción de 40 µl.

Para preparar la mezcla maestra para las reacciones de ADN copia para una muestra, se agregaron 2 µL Buffer RT 10X, 0.8 µL dNTP Mix 25X (100 mM), 2 µL Random Primers RT 10X, 1 µL MultiScribe™ Reverse Transcriptase y 4,2 µL Nuclease-free H₂O para un total de 10 µL por reacción. Para preparar la mezcla maestra y ARN de las reacciones de ADNc, se pipetearon 10 µL de la mezcla maestra de 2X RT y 10 µL de muestra de ARN. Luego se sellaron los tubos y se centrifugaron brevemente para eliminar las burbujas de aire. Finalmente, se colocaron los tubos en hielo hasta que estuvieran listos para cargar el termociclador.

Para realizar la transcripción reversa, se realizó lo siguiente; en un primer paso a 25°C durante 10 minutos, en un segundo paso a 37°C durante 120 minutos, en un tercer paso a 85°C durante 5 minutos y para finalizar en un cuarto paso se mantuvo a 4°C el tiempo que demoró retirar la muestra del termociclador.

8.5.3.4 Reacción en cadena de la polimerasa en tiempo real cuantitativa RT-qPCR

La cuantificación relativa de ARNm de Sema3A y β2M se realizó por RT-qPCR.

Todas las reacciones de amplificación RT-qPCR se realizaron por duplicado en un volumen final de 10 µL que contenía alícuotas de 2,5 de ADNc, 5 µl SYBR Potencia® Green PCR Master Mix (Applied Biosystems™), 0,4 µl de cebador Forward y Reverse (concentración final 10 nM).

La amplificación se realizó de acuerdo con las instrucciones del fabricante en un Termociclador eppendorf. El programa de PCR se inició con 95°C durante 10 min,

seguido de 40 ciclos a 95°C durante 15s y 61°C durante 1 min. En un termociclador StepOnePlus (Applied Biosystems, EE. UU.).

Todas las muestras de ARN celular se normalizaron en base a los ensayos de expresión génica para β -actina humana. Las secuencias de cebadores utilizados en este estudio se controlaron utilizando BLAST en el sitio web de NCBI, en la base de datos *Transcript Human Genomic Plus* (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) (ver Tabla 11).

Tabla 11. Secuencias de cebadores utilizadas en la cadena de la polimerasa cuantitativa en tiempo real (RT-qPCR) para Semaforina3A, β 2Microglobulina y β Actina

Genes	Primer	Secuencia (5'->3')	Tm	Producto esperado pares de bases (pb)
Sema3A	F	TGTTGGGACCGTTCTTAAAGTAGT	82	200
	R	TAGTTGTTGCTGCTTAGTGGAAG	82	
β 2M	F	TGCTGTCTCCATGTTTGATGTATCT	84	200
	R	TCTCTGCTCCCCACCTCTAAGT	83	
BActina	F	TGAAGATCAAGATCATTGCTCCTC	84	200
	R	CAACTAAGTCATAGTCCGCCTAGA	81	

Las curvas de disociación, 95 °C durante 15 segundos, 60°C durante 1 minuto y 95 °C 15 segundos, se realizaron al final de cada ejecución para controlar la especificidad de la amplificación con la presencia de una temperatura de fusión única y reproducible (ANEXO II).

8.5.3.5 Cuantificación relativa de la expresión génica por el método $2^{-\Delta\Delta Ct}$

El cálculo de los niveles de expresión urinaria relativa de los dos genes diana β 2M y Sema3A, se realizaron a partir de los resultados de las reacciones de RT-qPCR que se presentaron en forma de valores Ct (Valor umbral del ciclo). En los ensayos de RT-qPCR se logró evidenciar los niveles de expresión de los ARNm de β Actina y β 2M en cada una de las muestras estudiadas. En el caso, del ensayo para medir niveles de expresión del ARNm de Sema3A, únicamente se pudo detectar sus niveles de expresión en 8 casos (13.8%) (ANEXO III).

La expresión del número de copias del ARNm de β 2M se normalizó en relación al ARNm de β -actina mediante el cálculo de la diferencia de Ct (Δ Ct) entre ambos genes. En los pacientes con LES, se determinó Δ Ct LES = Ct gen β 2M LES – Ct gen β actina en LES, al igual que en los Controles Sanos Δ Ct Control = Ct gen β 2M Control – Ct gen β actina en Control.

Posteriormente, se evaluaron los cambios relativos en la expresión génica (cambio de pliegues - *fold change*) del gen de β 2M de pacientes con LES en comparación con los Controles sanos. Para esto, se calculó inicialmente $\Delta\Delta$ CT β 2M = Δ Ct LES - \bar{x} Δ Ct Control, y posteriormente se utilizó la fórmula $2^{-\Delta\Delta$ Ct β 2M}.

En el caso del gen de Sema3A los cambios relativos en la expresión génica de ARNm en comparación con el gen β -actina, se calcularon únicamente en pacientes con LES mediante la diferencia de Δ Ct = Ct gen Sema3A LES – Ct gen β actina, debido a que no se detectó la expresión del gen de Sema3A en Controles sanos (ANEXO III).

Un *fold change* (FC) de 1 indica que no hay cambio en la expresión, mientras que un FC mayor a 1 indica un aumento en la expresión y un FC menor a 1 indica una disminución en la expresión.

8.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

La tendencia central se expresó como la media o mediana dependiendo de la distribución de las variables evaluada según asimetría y curtosis. Las variables categóricas se presentan como frecuencias y porcentajes. El análisis de comparación del error estándar de los datos de medición entre dos grupos se realizó utilizando la prueba de la t de Student o la prueba de la U de Mann Whitney (Howell, 2013). El análisis de la eficiencia diagnóstica se evaluó con las curvas de características operativas del receptor (curva ROC) y el área bajo la curva (AUC) con un intervalo de confianza del 95%. El punto de corte se obtuvo del valor máximo del Índice de Youden (J). Se utilizó el software R (*The R Foundation for Statistical Computing 3.0.2 2013*), para el procesamiento de

datos estadísticos y la estadística descriptiva. Se consideró estadísticamente significativo un valor de p inferior a 0,05.

8.7 ASPECTOS BIOÉTICOS

El estudio siguió normas éticas internacionales (Pautas CIOMS/OMS; Helsinki/AMM, Ezequiel Emanuel) y obtuvo aprobación del Comité de Ética de la Investigación de la Universidad Mayor de San Andrés. No afectó el manejo posterior de los pacientes. Antes de su participación en el estudio, se informó a todos los pacientes acerca de los objetivos del mismo, y se les solicitó que firmaran un consentimiento informado para poder ser incluidos en la investigación (ANEXO I).

9 RESULTADOS

9.1 Características clínicas de los pacientes

En el presente estudio, se recopilaron datos de 81 pacientes adultos de sexo femenino. Los pacientes se dividieron en dos grupos: el grupo caso, compuesto por 44 pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES), y el grupo control, compuesto por 37 voluntarios sanos. Las características clínicas de los pacientes se resumen en la Tabla 12.

Tabla 12. Características clínicas de los 81 pacientes incluidos en el estudio

Características	Frecuencia	Porcentaje
Pacientes con LES	44	54
Anticuerpos antinucleares 1/160	33	75
Anticuerpos antinucleares 1/80	11	25
DEMOGRÁFICO		
Sexo	Femenino	
Edad media \pm desviación estándar (años)	36,3 \pm 1,9 años	
ÍNDICE DE ENFERMEDAD (SLEDAI-2K)		
Grupo Activo*	32	73
Grupo Inactivo**	12	27
Con Nefritis lúpica (NL)	22	50
Sin Nefritis lúpica (No-NL/LES)	22	50
Pacientes sanos	37	46
Anticuerpos antinucleares 1/80	21	57
Anticuerpos antinucleares 1/40	16	43
DEMOGRÁFICO		
Sexo	Femenino	
Edad media \pm desviación estándar (años)	32,5 \pm 1,7 años	

*actividad de la enfermedad moderada, alta y grave (SLEDAI-2K 6-32).

**sin actividad de la enfermedad y con actividad baja (SLEDAI-2K 0-5).

LES: Lupus Eritematoso Sistémico; NL: Nefritis Lúpica.

En el grupo caso, se encontró que el 75% de los pacientes con LES tenían resultados positivos para anticuerpos antinucleares (ANA) con un título de 1/160 y el restante 25% un título de 1/80. En el grupo control, se encontró que el 57% de los voluntarios sanos

tenían resultados positivos para anticuerpos antinucleares (ANA) con un título de 1/80 y el restante 43% un título de 1/40 (v. Anexo III).

La edad media de los pacientes con LES fue de $36,3 \pm 1,9$ años. Se utilizaron los resultados del índice de actividad de la enfermedad sistémica del lupus eritematoso 2000 (SLEDAI-2K) para clasificar a los pacientes en dos grupos; el Grupo Activo que incluía a aquellos con actividad de la enfermedad moderada, alta y grave (SLEDAI-2K 6-32) con un total de 32 pacientes, y el Grupo Inactivo, que incluía a aquellos sin actividad o actividad baja de la enfermedad (SLEDAI-2K 0-5) con un total de 12 pacientes. En cuanto a la presencia de nefritis lúpica (NL), se encontró que el 50% de los pacientes con LES presentaban esta complicación.

En el grupo control, la edad media de los voluntarios sanos fue de $32,5 \pm 1,7$ años. No se encontraron diferencias significativas en cuanto a edad ni el sexo entre los pacientes con LES y los voluntarios sanos.

9.2 Evaluación del comportamiento de biomarcadores potenciales en pacientes con LES y voluntarios sanos mediante la cuantificación proteica por ELISA en suero

9.2.1 Análisis comparativo de niveles séricos de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES y voluntarios sanos

Se encontró que los niveles séricos de anti-C1q, anti-Nuc, anti-dsDNA, ferritina y $\beta 2M$ fueron significativamente mayores en los pacientes con LES en comparación con los controles sanos ($p < 0,05$ para cada parámetro). Además, se observó que estos biomarcadores eran positivos en pacientes con LES y negativos en el grupo control, basándose en los valores de la media/mediana.

Por otro lado los niveles de la 25 OH Vit-D fueron estadísticamente similares entre los dos grupos, aunque se evidenció una mediana más baja en los pacientes con LES dentro del rango de niveles suficientes. Los resultados se resumen en la Tabla 13.

Tabla 13. Análisis comparativo de los niveles séricos de un perfil de biomarcadores de potenciales mediante ELISA en pacientes con LES y voluntarios sanos

	\bar{x} LES	\bar{x} Control	n LES	n Control	SE LES	SE Control	p-value
Anti-C1q (nmol/L)	11,2	5,0	44	37	2,3	0,7	0,013 ^a
Anti-Nuc (U/mL)	383,1	13,7	44	37	83,5	0,7	0,000 ^a
Anti-dsDNA (UI/mL)	133	29,5	44	37	453,0	0,6	0,000 ^b
25 OH Vit-D (ng/mL)	22,4	28,5	43	33	6,5	1,4	0,205 ^b
Ferritina (ng/mL)	27,0	14,8	40	21	3,6	2,7	0,027 ^a
B2M sérica(ug/mL)	3,2	1,9	43	37	0,3	0,1	0,000 ^a

Los valores resaltados en rojo representan diferencia significativa ($p < 0,05$). ^aSe utilizó la prueba de la t de Student para comparar los valores entre los pacientes con LES y Control. ^bSe utilizó la prueba de la U de Mann Whitney para comparar los valores entre los pacientes con LES y Control. SE: error estándar de la media. LES: Lupus Eritematoso Sistémico. n: número de pacientes.

9.2.2 Análisis de curva ROC de niveles séricos de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES y voluntarios sanos

A continuación, se realizó el análisis de características operativas del receptor (curva ROC) para determinar el mejor punto de corte que tuviera la máxima sensibilidad y especificidad para discriminar pacientes con LES de voluntarios sanos (Figura 7).

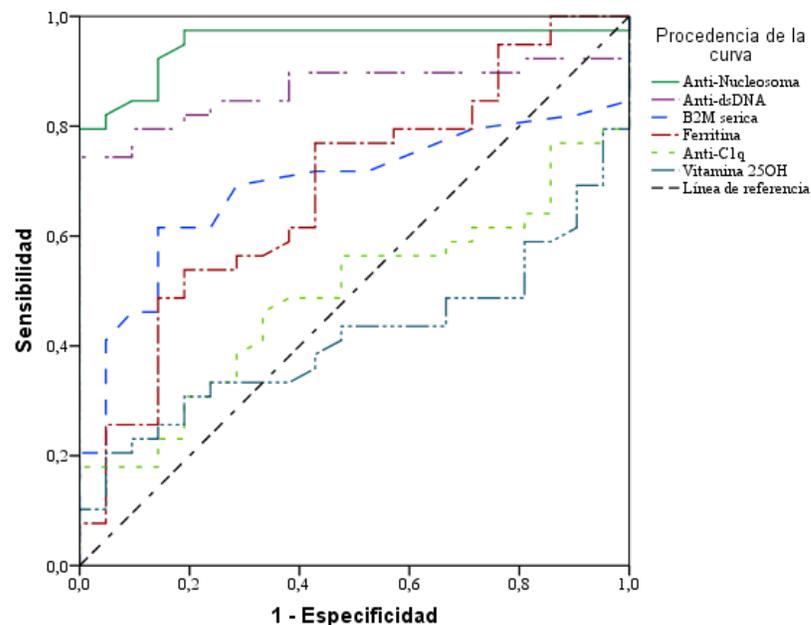


Figura 7. Análisis de curva ROC de niveles séricos de un perfil de biomarcadores de uso potencial mediante ELISA en pacientes con LES y voluntarios sanos.

Los niveles séricos de anti-Nuc presentan un AUC de 0,951 (IC:0,894–1,000) con una sensibilidad del 81,80% y una especificidad del 94,60% para un punto de corte mayor a 19,35 U/mL. Los de anti-dsDNA un AUC de 0,867 (IC: 0,771–0,963) con una sensibilidad del 77,30% y una especificidad del 100% (indica que no hubo falsos positivos entre las personas sin LES) para un punto de corte mayor a 42,15 UI/mL. Los de B2M sérica un AUC de 0,689 (IC: 0,554–0,823), con una sensibilidad del 65,90% y una especificidad del 75,70% para un punto de corte mayor a 2,20 ug/mL Los niveles de ferritina un AUC de 0,683 (IC: 0,543–0,824), con una sensibilidad del 59,10% y una especificidad del 45,90% para un punto de corte mayor a 19,65 ng/mL.

El análisis de la curva ROC para detectar LES reveló que no hubo diferencia significativa de los valores AUC entre los niveles séricos de anti-C1q que presentan un AUC de 0,491 (IC: 0,346–0,636) ni de Vitamina 25OH que presentan un AUC de 0,416 (IC: 0,274–0,558).

9.3 Análisis del comportamiento de biomarcadores potenciales en pacientes con LES considerando la actividad de la enfermedad, mediante la cuantificación proteica por ELISA en suero y orina

9.3.1 Análisis comparativo de los niveles séricos y urinarios de un perfil de biomarcadores de potenciales mediante ELISA en pacientes con LES Activo e Inactivo, según el índice de actividad del SLEDAI-2K

En el estudio, se evaluaron 44 pacientes con LES clasificados en dos grupos: LES Activo (SLEDAI-2K alto) y LES Inactivo (SLEDAI-2K bajo), con 32 y 12 pacientes respectivamente. Se encontró que el grupo LES Activo mostró niveles séricos significativamente más altos de biomarcadores como anti-C1q, anti-Nuc, anti-dsDNA y B2M en comparación con el grupo LES Inactivo. Sin embargo, los niveles séricos de ferritina y creatinina, al igual que los niveles urinarios de B2M, aunque más elevados en el grupo de LES Activo, no mostraron diferencias significativas con el grupo LES Inactivo (Tabla 14).

Además, se demostró que los niveles séricos de C3, C4, y albúmina fueron significativamente más bajos que el grupo LES Activo en comparación con el grupo LES Inactivo ($p < 0,05$ para cada parámetro). En cuanto a los niveles séricos de la 25 OH Vit-D, se encontró que eran relativamente más bajos en el grupo LES Activo, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa (Tabla 14).

Tabla 14. Análisis comparativo de los niveles séricos y urinarios de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES Activo e Inactivo, según el índice de actividad del SLEDAI-2K

	\bar{x} LES Activo	\bar{x} LES Inactivo	n LES Activo	n LES Inactivo	SE LES Activo	SE LES Inactivo	p-value
Anti-C1q (nmol/L)	13,9	4,1	32	12	3,0	1,5	0,005 ^a
Anti-Nuc (U/mL)	478,7	128,1	32	12	108,0	64,4	0,008 ^a
Anti-dsDNA (UI/mL)	345,6	31,1	32	12	608,7	2,2	0,000 ^b
C3 (mg/dL)	83,5	121,8	28	10	4,9	6,9	0,000 ^a
C4 (mg/dL)	13,4	25,3	28	10	1,4	3,4	0,000 ^a
25 OH Vit-D (ng/mL)	22,1	27,6	31	12	6,5	16,6	0,440 ^b
Ferritina (ng/mL)	29,0	22,2	28	12	4,5	5,8	0,398 ^a
Creatinina (mg/dL)	1,0	0,8	29	11	0,2	0,1	0,317 ^b
Albúmina (mg/dL)	3,5	4,3	28	10	0,2	0,2	0,003 ^a
B2M sérica(ug/mL)	3,6	2,1	31	12	0,4	0,3	0,015 ^a
B2M Orina (ug/mL)	2,5	1,3	9	9	0,6	0,1	0,084 ^a

Grupo LES Activo (SLEDAI-2K = 6-32); Grupo LES Inactivo (SLEDAI-2K = 0-5). Los valores resaltados en rojo representan diferencia significativa ($p < 0,05$). ^aSe utilizó la prueba de la t de Student para comparar los valores entre los pacientes con LES Activo y LES Inactivo. ^bSe utilizó la prueba de la U de Mann Whitney para comparar los valores entre los pacientes con LES Activo y LES Inactivo. SE: error estándar de la media. LES: Lupus Eritematoso Sistémico; n: número de pacientes; SLEDAI: índice de actividad de la enfermedad del LES. n: número de pacientes.

9.3.2 Análisis de curva ROC de los niveles séricos y urinarios de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES Activo e Inactivo, según el índice de actividad del SLEDAI-2K

El estudio también se enfocó en determinar el mejor punto de corte que tuviera la máxima sensibilidad y especificidad para discriminar pacientes con LES Activo de LES Inactivo clasificados según el índice de actividad del SLEDAI-2K (Figuras 8a-b).

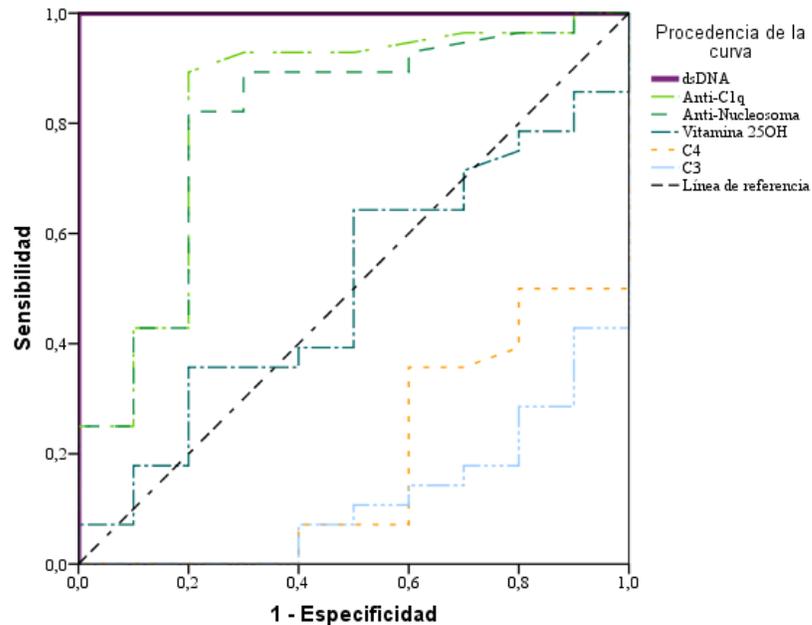


Figura 8a. Análisis de curva ROC de los niveles séricos de un perfil de biomarcadores de uso potencial mediante ELISA en pacientes con LES Activo e Inactivo, según el índice de actividad del SLEDAI-2K

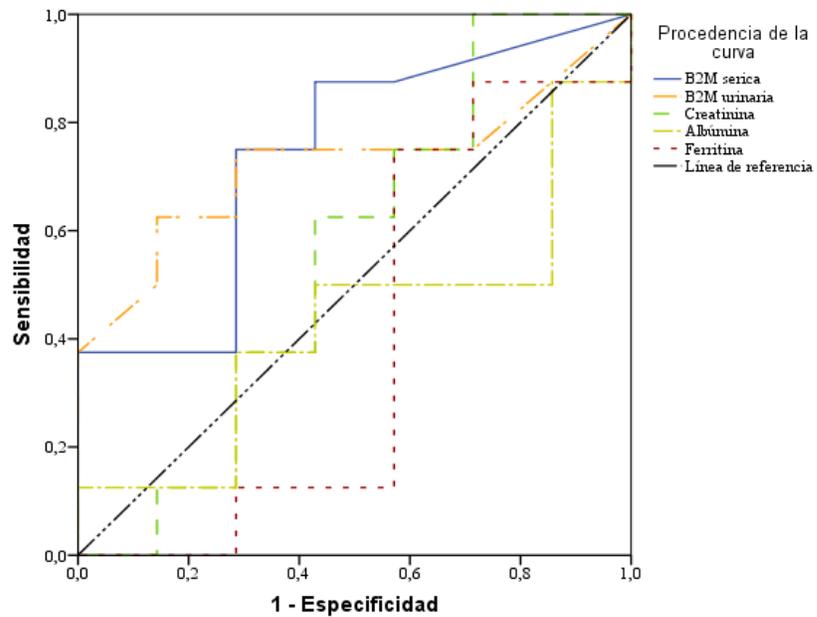


Figura 8b. Análisis de curva ROC de los niveles séricos y urinarios de un perfil de biomarcadores de uso potencial mediante ELISA en pacientes con LES Activo e Inactivo, según el índice de actividad del SLEDAI-2K

Los niveles séricos de anti-dsDNA presentan un AUC de 1,000 (IC: 1,000–1,000) con una sensibilidad y especificidad del 100% para un punto de corte mayor a 50,75 UI/mL.

Los de anti-C1q presentan un AUC de 0,827 (IC: 0,656–0,997) con una sensibilidad del

87,50% y una especificidad del 66,70% para un punto de corte mayor a 2,9 nmol/L. Los de anti-Nuc un AUC de 0,804 (IC: 0,633–0,974) con una sensibilidad del 78,10% y una especificidad del 75,00% para un punto de corte mayor a 38,5 U/mL.

El análisis de la curva ROC para evaluar actividad del LES reveló que no hubo diferencia significativa de los valores AUC entre los niveles séricos de Vitamina 25OH (AUC: 0,502; IC: 0,301–0,703), C4 (AUC: 0,188; IC: 0,035–0,340), C3 (AUC: 0,121; IC: 0,009–0,234), B2M sérica (AUC: 0,741; IC: 0,480–1,000), B2M urinaria (AUC: 0,723; IC: 0,450–0,996), Creatinina (AUC: 0,554; IC: 0,239–0,868), Albúmina (AUC: 0,429; IC: 0,124–0,733) y los de Ferritina (AUC de 0,393; IC: 0,073–0,713).

9.4 Análisis del comportamiento de biomarcadores potenciales en pacientes con LES diferenciando entre la presencia o ausencia de NL, mediante la cuantificación proteica por ELISA en suero y orina

9.4.1 Análisis comparativo de los niveles séricos y urinarios de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES, según presencia de afectación renal (NL) y ausencia de afectación renal (No-NL/LES)

Se realizó un análisis comparativo de los niveles séricos y urinarios de biomarcadores en pacientes con LES clasificándolos en dos grupos: aquellos con afectación renal (NL) y aquellos sin afectación renal (No-NL).

Se incluyeron en el estudio un total de 44 pacientes con LES, 22 de los cuales fueron clasificados con NL y 22 como No-NL. Los resultados se muestran en la (Tabla 15). Al analizar los datos, se demostró que los pacientes con NL mostraron niveles séricos significativamente más altos de los biomarcadores de anti-C1q, anti-Nuc, anti-dsDNA y B2M en comparación con los pacientes No-NL ($p < 0,05$ para cada parámetro). También, se encontraron niveles séricos elevados de ferritina, creatinina, así como en la B2M en orina en pacientes con NL, aunque estas diferencias no fueron estadísticamente significativas (Tabla 15).

Por otro lado, se encontraron niveles séricos significativamente más bajos de C3, C4 y albúmina en el grupo de pacientes con NL en comparación con el grupo No-NL ($p < 0,05$ para cada parámetro). Mientras que los niveles séricos de 25 OH Vit-D, fueron relativamente más bajos en el grupo de NL (Tabla 15).

Tabla 15. Análisis comparativo de los niveles séricos y urinarios de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES, según presencia de afectación renal (NL) y ausencia de afectación renal (No-NL/LES)

	\bar{x} NL	\bar{x} No-NL /LES	n NL	n No-NL /LES	SE NL	SE No-NL /LES	p-value
Anti-C1q (nmol/L)	18,5	3,9	22	22	4,0	0,5	0,001 ^a
Anti-Nuc (U/mL)	716,2	50,0	22	22	133,3	14,2	0,000 ^a
Anti-dsDNA (UI/mL)	2093,4	213,6	22	22	867,4	62,8	0,042 ^a
C3 (mg/dL)	83,3	103,9	19	19	7,1	5,9	0,033 ^a
C4 (mg/dL)	13,0	20,0	19	19	1,8	2,5	0,026 ^a
25 OH Vit-D (ng/mL)	22,0	29,2	22	21	7,5	10,9	0,220 ^b
Ferritina (ng/mL)	29,6	24,6	19	21	5,3	5,0	0,503 ^a
Creatinina (mg/dL)	1,0	0,8	21	19	0,3	0,1	0,217 ^b
Albúmina (mg/dL)	3,3	4,3	21	17	0,2	0,1	0,000 ^a
B2M sérica (ug/mL)	3,9	2,5	22	21	0,4	0,4	0,012 ^a
B2M Orina (ug/mL)	2,6	1,4	8	10	0,7	0,1	0,147 ^a

Los valores resaltados en rojo representan diferencia significativa ($p < 0,05$). ^aSe utilizó la prueba de la t de Student para comparar los valores entre los pacientes con NL y No-NL/LES. ^bSe utilizó la prueba de la U de Mann Whitney para comparar los valores entre los pacientes con NL y No-NL/LES. SE: error estándar de la media. NL: Nefritis Lúpica. n: número de pacientes.

9.4.2 Análisis de curva ROC de los niveles séricos y urinarios de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES, según presencia de afectación renal (NL) y ausencia de afectación renal (No-NL/LES)

A continuación, se realizó el análisis de características operativas del receptor (curva ROC) para determinar el mejor punto de corte que tuviera la máxima sensibilidad y especificidad para discriminar pacientes con NL de No-NL/LES (Figuras 9a-b).

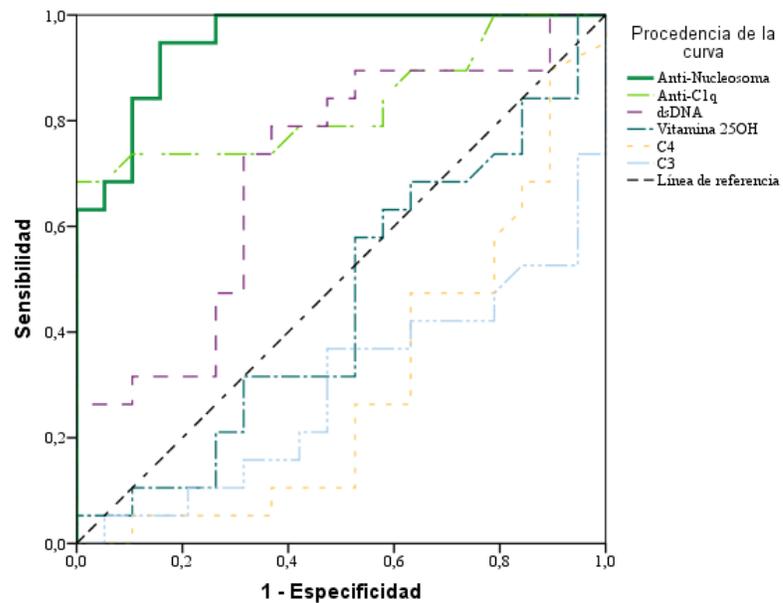


Figura 9a. Análisis de curva ROC de los niveles séricos de un perfil de biomarcadores potenciales mediante ELISA en pacientes con LES, según presencia de afectación renal (NL) y ausencia de afectación renal (No-NL/LES)

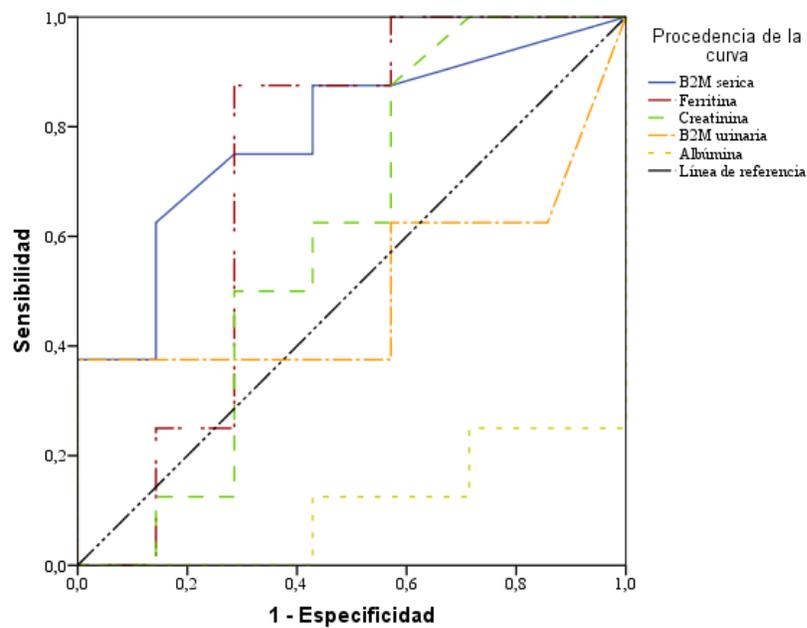


Figura 9b. Análisis de curva ROC de los niveles séricos y urinarios de un perfil de biomarcadores de uso potencial mediante ELISA en pacientes con LES, según presencia de afectación renal (NL) y ausencia de afectación renal (No-NL/LES).

Los niveles séricos de anti-Nuc presentan un AUC de 0,950 (IC: 0,889–1,000) con una sensibilidad del 95,50% y una especificidad del 86,40% para un punto de corte mayor a 71,85 U/mL. Los de anti-C1q un AUC de 0,832 (IC: 0,695–0,970) con una sensibilidad

del 59,10% y una especificidad del 100% para un punto de corte mayor a 9,30 nmol/L. Los de anti-dsDNA un AUC de 0,950 (IC: 0,534–0,874) con una sensibilidad del 77,30% y una especificidad del 68,20% para un punto de corte mayor a 113,70 UI/mL.

El análisis de la curva ROC para detectar NL reveló que no hubo diferencia significativa de los valores AUC entre los niveles séricos de Vitamina 25OH (AUC: 0,453; IC: 0,266–0,640), C4 (AUC: 0,298; IC: 0,128–0,467), C3 (AUC: 0,292; IC: 0,125–0,459), B2M sérica (AUC: 0,786; IC: 0,547–1,000), Ferritina (AUC: 0,714; IC: 0,414–1,000), B2M urinaria (AUC: 0,509; IC: 0,195–0,823), Creatinina (AUC: 0,598; IC: 0,284–0,913) y los de Albúmina (AUC: 0,107; IC: 0,000–0,275).

9.5 Evaluación del comportamiento de β 2Microglobulina y Semaforina3A en pacientes con LES y voluntarios sanos mediante la cuantificación relativa de ARN mensajero por RT-qPCR en orina

9.5.1 Análisis de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES y voluntarios sanos

Este estudio analizó los niveles de expresión urinaria de ARNm de dos genes, β 2M y Sema3A, en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES) normalizados con voluntarios sanos. Los resultados se presentan a continuación (Tabla 16):

Gen β 2M: En pacientes con LES, se encontró una expresión urinaria del gen β 2M que fue 2.4 (\pm 0,4) veces mayor en comparación con los voluntarios sanos. Esto sugiere una elevación notable en la expresión de β 2M en pacientes con LES en comparación con personas sanas.

Gen Sema3A: La expresión del gen Sema3A fue detectada en 11 (25%) de los pacientes con LES. No se encontró expresión de este gen en el grupo de control. En los pacientes con expresión detectable de Sema3A, la expresión fue en promedio 9.1 (\pm 2,7) veces mayor en comparación con los voluntarios sanos.

Tabla 16. Niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES normalizados con voluntarios sanos

	\bar{x} LES	n LES	SE LES
β2M			
FC ($2^{-\Delta\Delta Ct}$ β 2M)	2,4	44	0,4
Sema3A			
FC (Δ Ct Sema3A/ β Actina)	9,1	11	2,7

β 2M: β eta 2 Microglobulina. Sema3A: Semaforina3A. FC: Cambio de pliegue. SE: error estándar de la media. LES: Lupus Eritematoso Sistémico. n: número de pacientes.

9.6 Análisis del comportamiento de β 2Microglobulina y Semaforina3A en pacientes con LES considerando la actividad de la enfermedad, mediante la cuantificación relativa de ARN mensajero por RT-qPCR en orina

9.6.1 Análisis comparativo de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES , según el índice de actividad del SLEDAI-2K

En el análisis comparativo de los pacientes con LES según actividad (SLEDAI-2K), se observaron los siguientes resultados (Tabla 17):

Gen β 2M: En el grupo de LES Activo, el cambio de pliegue (fold change) de los niveles de expresión de β 2M en comparación con el grupo de LES Inactivo no muestra diferencia estadísticamente significativa, como lo indica el valor de p (0.230), que es mayor que el umbral comúnmente utilizado de 0.05.

Gen Sema3A: La diferencia en los niveles de expresión de Sema3A entre los grupos de LES Activo e Inactivo, no fue estadísticamente significativa (p = 0.797).

Tabla 17. Análisis comparativo de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES Activo e Inactivo, según el índice de actividad del SLEDAI-2K

	\bar{x} LES Activo	\bar{x} LES Inactivo	n LES Activo	n LES Inactivo	SE LES Activo	SE LES Inactivo	p-value
β2M							
FC ($2^{-\Delta\Delta Ct}$ β 2M)	0,5	0,2	32,0	12,0	0,5	3,8	0,230 ^b
Sema3A							
FC (Δ Ct Sema3A/ β - Actina)	9,3	8,8	7,0	4,0	1,3	0,8	0,797 ^a

Grupo LES Activo (SLEDAI-2K = 6-32); Grupo LES Inactivo (SLEDAI-2K = 0-5). Los valores resaltados en rojo representan diferencia significativa ($p < 0,05$). ^aSe utilizó la prueba de la t de Student para comparar los valores entre los pacientes con LES Activo y LES Inactivo. ^bSe utilizó la prueba de la U de Mann Whitney para comparar los valores entre los pacientes con LES Activa y LES Inactivo. SLEDAI-2K: índice de actividad de la enfermedad del LES. β 2M: β eta 2 Microglobulina. Sema3A: Semaforina3A. FC: Cambio de pliegue. SE: error estándar de la media. LES: Lupus Eritematoso Sistémico. n: número de pacientes.

9.6.2 Análisis de curva ROC de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES Activo e Inactivo, según el índice de actividad del SLEDAI-2K

El análisis de la curva ROC proporciona información valiosa sobre la capacidad de un biomarcador para discriminar entre dos grupos en este caso, LES Activo y LES Inactivo. Los resultados se presentan a continuación (Figura 10):

Gen β 2M: El área bajo la curva (AUC) para los niveles de expresión génica urinaria de β 2M fue de 0.750. Un AUC de 0.75 indica una capacidad moderada para discriminar entre los pacientes con LES Activo y LES Inactivo. Sin embargo, el intervalo de confianza del 95% es bastante amplio (0.452–1.000), lo que sugiere cierta incertidumbre en la precisión del biomarcador. Un intervalo más estrecho habría indicado una estimación más precisa.

Gen Sema3A: En cuanto a los niveles de expresión de Sema3A, el AUC fue de 0.536, lo que indica una capacidad limitada para distinguir entre los grupos. Además, el intervalo de confianza del 95% (0.170–0.902) es bastante amplio.

Además, el área bajo la curva (AUC) para ambos biomarcadores, β 2M y Sema3A, no alcanzó significancia estadística en el análisis de la curva ROC. Esto significa que, en este estudio específico y en esta muestra de pacientes, estos biomarcadores no muestran una capacidad suficientemente robusta para distinguir de manera significativa entre pacientes con LES Activo y LES Inactivo.

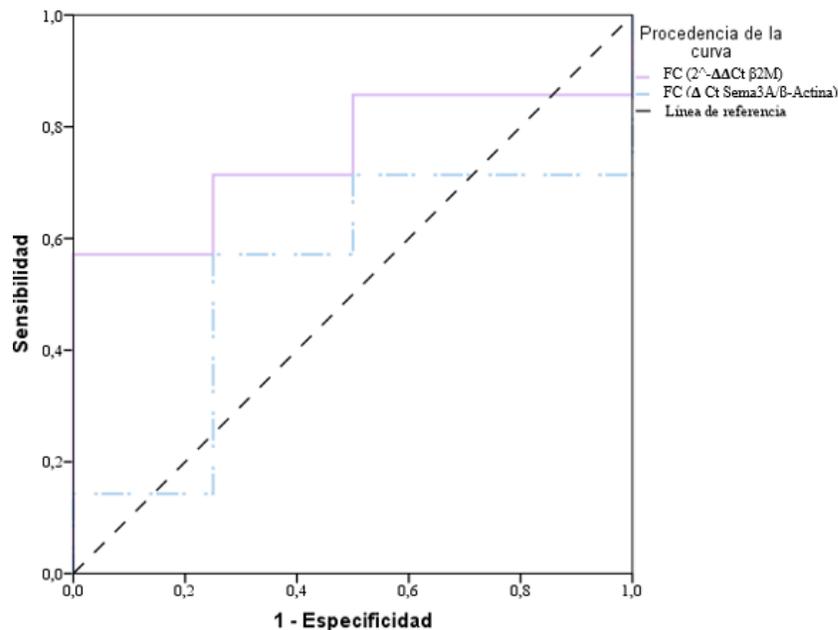


Figura 10. Análisis de curva ROC de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES Activo e Inactivo, según el índice de actividad del SLEDAI-2K

9.7 Análisis del comportamiento de β 2Microglobulina y Semaforina3A en pacientes con LES según la presencia o ausencia de NL, mediante la cuantificación relativa de ARN mensajero por RT-qPCR en orina

9.7.1 Análisis comparativo de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES, según presencia (NL) y ausencia de afectación renal (No-NL/LES)

En la Tabla 18 se presenta un análisis comparativo de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A en pacientes con LES diferenciando entre aquellos con

afectación renal (NL) y aquellos sin afectación renal (No-NL/LES). Aquí está un resumen de los resultados:

Gen β 2M: No se encontraron diferencias significativas en los niveles de expresión urinaria de β 2M entre pacientes con afectación renal (NL) y pacientes sin afectación renal (No-NL/LES). Ambos grupos presentan niveles similares de expresión de β 2M en la orina (valor $p = 0,794$).

Gen Sema3A: Tampoco se observaron diferencias significativas en los niveles de expresión urinaria de Sema3A entre los grupos NL y No-NL/LES.

Tabla 18. Análisis comparativo de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES, según presencia (NL) y ausencia de afectación renal (No-NL/LES)

	\bar{x} NL	\bar{x} No-NL /LES	n NL	n No-NL /LES	SE NL	SE No-NL /LES	p- value
β2M							
FC ($2^{-\Delta\Delta Ct}$ β 2M)	2,1	2,7	22	22	0,7	2,0	0,794
Sema3A							
FC (ΔCt Sema3A/ β - Actina)	9,9	7,0	8	3	0,9	1,3	0,140

Los valores resaltados en rojo representan diferencia significativa ($p < 0,05$). Se utilizó la prueba de la t de Student para comparar los valores entre los pacientes con NL y No-NL /LES. β 2M: β 2 Microglobulina. Sema3A: Semaforina3A. FC: Cambio de pliegue. SE: error estándar de la media. LES: Lupus Eritematoso Sistémico. n: número de pacientes.

9.7.2 Análisis de curva ROC de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES, según presencia (NL) y ausencia de afectación renal (No-NL/LES)

El análisis de la curva ROC de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M y Sema3A para evaluar la capacidad de estos biomarcadores para distinguir entre pacientes con y sin afectación renal presentan los resultados a continuación (Figura 11). Cabe resaltar, que aunque hubo cierta capacidad para discriminar entre los grupos, esta capacidad no fue lo suficientemente fuerte como para ser considerada estadísticamente significativa.

Gen $\beta 2M$: El AUC de 0.708 sugiere una capacidad moderada para distinguir entre pacientes con afectación renal y aquellos sin ella. Un AUC de 0.5 indica una discriminación aleatoria, por lo que un valor de 0.708 sugiere que $\beta 2M$ tiene cierta capacidad para diferenciar entre estos grupos, aunque no es extremadamente preciso debido al amplio IC del 95 % (0,401–1,000).

Gen Sema3A: El AUC de 0.667 también sugiere una capacidad moderada para distinguir entre pacientes con y sin afectación renal, aunque es un poco menor que el AUC de $\beta 2M$. Similar a $\beta 2M$, Sema3A muestra cierta capacidad para discriminar entre estos grupos, pero no es altamente preciso (IC del 95 %: 0,301–1,000).

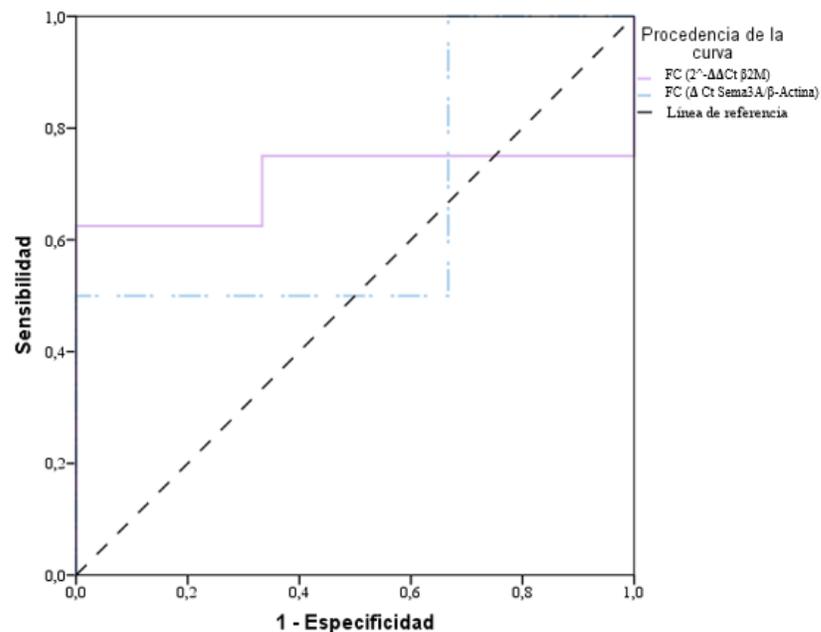


Figura 11. Análisis de curva ROC de los niveles de expresión génica urinaria de $\beta 2M$ y Sema3A mediante RT-qPCR como biomarcadores emergentes en pacientes con LES, según presencia (NL) y ausencia de afectación renal (No-NL/LES)

10 DISCUSIÓN

Actualmente, existe poca información disponible sobre los niveles de expresión génica de β 2Microglobulina y Semaforina3A en orina, y su potencial aplicación en el diagnóstico y seguimiento de pacientes con LES. Este estudio representa un primer intento de investigar la utilidad en conjunto de estos biomarcadores para el diagnóstico de actividad de la enfermedad lúpica y la nefritis lúpica (NL).

Para ello, se llevó a cabo un análisis comparativo entre voluntarios sanos y pacientes con LES, teniendo en cuenta es estado de actividad de la enfermedad (activo e inactivo) y la presencia o ausencia de NL.

10.1 Dificultades del muestreo

El muestreo en esta investigación se realizó utilizando únicamente muestras de un solo centro de pacientes con LES. Aunque, idealmente el muestreo debería haberse realizado de manera aleatoria, teniendo en cuenta la prevalencia e incidencia de la enfermedad en Bolivia. No obstante, en la práctica esto resultó imposible debido a la falta de datos epidemiológicos oficiales sobre la enfermedad en el país.

En Bolivia un país en desarrollo donde la cobertura sanitaria es precaria, la realización de un estudio epidemiológico de esta enfermedad constituye un gran desafío debido no solo a la dificultad que involucra la captura de datos confiables de pacientes diagnosticados, sino también, a la diversidad genética y ambiental de la población. A propósito, es importante mencionar que hasta el momento ningún estudio poblacional ha definido todavía la prevalencia e incidencia del lupus en grupos étnicos/raciales en América Latina (Ugarte-Gil et al., 2019). Esto resalta la necesidad de realizar investigaciones más amplias y representativas en la región que ayuden a comprender mejor la enfermedad en diferentes grupos de la población, y que permitan la implementación de políticas y programas más efectivos de prevención y manejo adecuados.

Sin embargo, se infiere que la población boliviana es altamente vulnerable al lupus debido a varios factores. Uno de ellos es la comparación con datos a nivel mundial, como las cohortes GLADEL y LUMINA, que indican que el LES se presenta a edades más tempranas, con mayor frecuencia y gravedad en poblaciones cercanas a la etnia de la población mestiza-hispana y afro-latinoamericana (Ugarte-Gil et al., 2019). Esto sugiere que la población boliviana, que incluye a estas etnias, puede tener un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad.

Además, los factores ambientales también desempeñan un papel importante en la vulnerabilidad al LES en Bolivia. La exposición a la radiación ultravioleta (UV), se considera un desencadenante conocido del LES, y Bolivia, especialmente en la región andina, experimenta una radiación UV intensa debido a su altitud (Zaratti, Forno, García, & Andrade, 2003). Dado que el 40% de la población boliviana reside en esta región, es probable que estén expuestos a niveles más altos de radiación UV, lo que puede aumentar el riesgo de desarrollar LES.

Por otro lado, la estructuración de los grupos de pacientes según el grado de actividad de la enfermedad (activo e inactivo) ha sido basada en la puntuación del score SLEDAI-2K, que evalúa la actividad de la enfermedad. Sin embargo, esta puntuación puede estar sujeta a una variabilidad sustancial debido a la dificultad de diagnóstico, producto de la heterogeneidad de la enfermedad entre los pacientes, que requiere un repaso cuidadoso de la historia médica completa en conjunto con el análisis de los resultados de los exámenes de laboratorio rutinarios y varios exámenes especializados relacionados con el sistema inmune (Kaul et al., 2016).

Además, la clasificación de los pacientes en estudio: con nefritis y sin nefritis lúpica, fue realizada de manera exclusiva por el especialista médico que estaba a cargo del paciente. Por lo antes mencionado, la estructuración de los grupos de pacientes según la presencia o ausencia sin conocer con certeza la clasificación según la clase de nefritis

puede ser responsable de la variabilidad de los datos en los niveles de expresión de los genes evaluados.

Asimismo, otra limitación a tomar en cuenta fue el número reducido de pacientes (27%) sin actividad o actividad baja de la enfermedad (SLEDAI-2K 0-5) que generó la estructuración de los pacientes con lúpicos en diferentes grupos según la condición de LES activo o inactivo. Una de las razones puede deberse a que los pacientes diagnosticados lúpicos, suelen acudir a su control médico cuando presentan manifestaciones clínicas, a pesar de que los pacientes debieran ser examinados periódicamente, un motivo que puede estar ligado al estado socioeconómico de nuestro país.

En este contexto, debido a estas limitaciones antes mencionadas es importante tener en cuenta que en este estudio “piloto” no podemos reclamar un conjunto de datos perfecto, y los resultados de este estudio deberán confirmarse en un estudio con mayor tamaño muestra y en base a una clasificación más apropiada de los pacientes involucrados en el mismo, con lo cual se subsanarán las dificultades mencionadas. Sin embargo, a fin de verificar que todas las limitaciones no constituyan un sesgo en la evaluación del comportamiento de los biomarcadores emergentes objeto de este estudio, se ha evaluado en una primera instancia los biomarcadores de uso potencial ampliamente aceptados en los grupos estructurados de pacientes con LES según el estatus de actividad de la enfermedad y la presencia o ausencia de NL.

10.2 Distribución según sexo y edad

El LES es una enfermedad autoinmune que afecta principalmente a mujeres, especialmente a aquellas en edad reproductiva. Este estudio donde todos los pacientes adultos reclutados fueron del sexo femenino en edad fértil respalda consistentemente esta observación, en concordancia con estudios anteriores que denotan que el LES es una de las enfermedades autoinmunes más diferenciadas por sexo (Dall'Era et al., 2017; Izmirly et al., 2017). Aunque la razón exacta de esta diferencia de género no está

completamente comprendida, se cree que factores hormonales y genéticos pueden desempeñar un papel importante en el desarrollo de la enfermedad. Las hormonas sexuales femeninas, como los estrógenos, cuyos niveles son más altos en edad reproductiva, se han relacionado con la activación del sistema inmunológico y podrían contribuir al mayor riesgo a desarrollo de LES en mujeres (Mok & Lau, 2003; Tsokos et al., 2016). Además, se han identificado que varios genes relacionados con la respuesta inmune que están implicados en la predisposición genética al LES, pueden tener expresión diferencial entre sexos. Por ejemplo, el gen IRF5, relacionado con la vía del IFN tipo I, ha demostrado tener una mayor expresión en mujeres con LES (Anders et al., 2020).

10.3 Distribución según la actividad de la enfermedad

En este estudio se ha evaluado el comportamiento de los biomarcadores según la actividad de la enfermedad, clasificando a los pacientes en grupos activo e inactivo mediante la puntuación del índice SLEDAI-2K (Fanouriakis et al., 2021; Kaul et al., 2016). La diferenciación entre ambos grupos tiene implicaciones significativas en el manejo clínico del LES, debido a que permite una intervención más temprana y agresiva en pacientes con actividad más alta de la enfermedad, mientras que aquellos con actividad baja o ausente pueden beneficiarse de un enfoque más conservador.

En el grupo “LES activo”, representado por el 73% de los pacientes la actividad de la enfermedad fue moderada, alta o grave, con puntajes SLEDAI-2K que oscilaban entre 6 y 32. En contraste, en el grupo “LES inactivo” el 27% de los pacientes tenía actividad baja o ausente, reflejada en puntajes SLEDAI-2K entre 0 y 5. Es importante tener en cuenta que estos porcentajes se basan en el grupo específico de pacientes de este estudio y no representan la distribución general de la actividad del LES en la población en general de pacientes lúpicos.

10.4 Distribución según presencia o ausencia de Nefritis Lúpica

El 50% de los pacientes con lupus involucrados en el presente estudio referían haber cursado por NL, una manifestación clínica que contribuye significativamente a la morbilidad de la enfermedad. Al respecto, otros estudios similares reportaron que entre el 25% y el 60% de los pacientes con LES desarrollan NL durante el curso de la enfermedad. Además, la NL suele presentarse en pacientes con LES activo de moderado a grave (Anders et al., 2020; Morell et al., 2021).

10.5 Comportamiento de biomarcadores potenciales en pacientes con LES y voluntarios sanos mediante la cuantificación proteica por ELISA en suero

En este estudio, se evaluaron varios biomarcadores serológicos y un urinario de uso potencial para el diagnóstico de los pacientes con LES. Se encontró que los pacientes con LES tenían concentraciones séricas significativamente elevadas de anti-C1q, anti-Nuc, anti-dsDNA, ferritina y B2M en comparación con los voluntarios sanos.

En consonancia con estudios previos, los anticuerpos anti-dsDNA y anti-Nuc demostraron tener una excelente capacidad para distinguir entre pacientes con y sin LES, lo que sugiere una buena capacidad diagnóstica (Mok, 2010; Yung & Chan, 2012). Siendo que algunos estudios han sugerido que los anticuerpos anti-Nuc podrían ser un biomarcador importante y complementario a los anticuerpos anti-dsDNA, y que debieran incluirse en los criterios para el diagnóstico de LES. Sin embargo, el uso clínico de los anticuerpos anti-Nuc sigue siendo esporádico debido a que su rendimiento diagnóstico aún se está debatiendo y se desconoce en gran medida (Elsayed et al., 2022).

En cuanto a los anticuerpos anti anti-C1q, al igual que en otros estudios, si bien se han encontrado significativamente más elevados en pacientes lúpicos respecto al grupo control no son útiles para distinguir entre personas con y sin LES. A diferencia con nuestros hallazgos, Katsumata et al, el 2011 reportó una sensibilidad moderada del 63% (Katsumata et al., 2011).

La B2M sérica por su parte también se ha encontrado significativamente más elevada en pacientes con LES, lo cual infiere una mayor producción y liberación de B2M por los linfocitos activados (Aghdashi, Salami, & Nezhadisalami, 2019). Aunque, si bien esta diferencia de niveles entre casos y control fue significativa, el análisis de la eficacia diagnóstica fue moderada con una sensibilidad del 65,90% y una especificidad del 75,70% para un punto de corte mayor a 2,20 ug/mL.

Con respecto a la ferritina, de manera similar a los resultados del estudio de Tripathy et al., este estudio encontró concentraciones significativamente elevadas de ferritina en pacientes con LES en comparación con los voluntarios sanos (Tripathy et al., 2014). Sin embargo, los niveles de ferritina se mantuvieron dentro de su rango de referencia, resultando poco útiles en la práctica clínica. No obstante, el estudio actual determinó que para un valor mayor a 20 ng/ml la ferritina presenta una utilidad diagnóstica moderada, con una sensibilidad del 59,10% y una especificidad del 45,90%. La Vitamina 25OH, por su parte demostró que no ser útil para distinguir entre personas con y sin LES.

Cabe destacar que se observó que el 43% de voluntarios sanos estudiados, demuestran una frecuencia con títulos positivos de anticuerpos antinucleares (ANA) hasta 1/40 y el 57% hasta 1/80, ningún paciente mostró títulos positivos de ANA hasta títulos 1/160. Mientras que otros estudios similares señalan que hasta un 32% de la población sana cuenta con títulos de ANA 1/40 y aproximadamente el 13% tiene títulos 1/80 (Mendez-Rayó et al., 2018). Las disparidades significativas entre las tasas de títulos de ANA en nuestra muestra y las cifras reportadas por otros estudios podrían atribuirse a las características genéticas de la población estudiada o incluso factores ambientales. Si bien en nuestro estudio ninguno de los voluntarios sanos exhibió títulos de 1/160, Mendez-Rayó et al., reporta que podrían encontrarse hasta en un 5% de la población sana (Mendez-Rayó et al., 2018).

En el caso de los pacientes con LES, los criterios de la Liga Europea contra el Reumatismo (EULAR) y el ACR del año 2019, señalan como criterio de clasificación de LES la presencia de ANA a un título $\geq 1:80$ (Fanouriakis et al., 2021; Justiz Vaillant, 2020). Motivo por el cual el 25% de los pacientes con títulos 1/80 con diagnóstico de LES fueron considerados en este estudio.

10.6 Comportamiento de biomarcadores potenciales en pacientes con LES considerando la actividad de la enfermedad, mediante la cuantificación proteica por ELISA en suero y orina

En términos de comparación de los niveles de los biomarcadores según actividad de la enfermedad, se encontró diferencias significativas en las concentraciones séricas de anti-C1q, anti-Nuc, anti-dsDNA, B2M, C3, C4 y albúmina entre el grupo con enfermedad activa (SLEDAI-2K ≥ 6) y el grupo con enfermedad inactiva (SLEDAI-2K de 0 a 5).

Entre estos biomarcadores, de manera similar a los hallazgos reportados por Anders et al., se corroboró la relación inversa de la concentración sérica de anticuerpos anti-dsDNA que aumenta, y los niveles de complemento (C3 y C4) que generalmente disminuyen a medida que aumenta la actividad clínica del LES (Anders et al., 2020). No obstante, los niveles del complemento de C3 y C4, si bien se observaron disminuidos significativamente, al igual que lo reportado en otros estudios como el de Morell et al., 2021, solo la concentración de C4 estaba por debajo de su rango de referencia, y en ambos casos con una baja sensibilidad y especificidad diagnóstica para distinguir la actividad de la enfermedad (Morell et al., 2021).

Se confirmó que el anticuerpo anti-dsDNA es un biomarcador que varía de acuerdo a la evolución de la enfermedad, por lo cual, es un biomarcador confiable para evaluar la actividad de la enfermedad, destacándose por su sensibilidad y especificidad del 100% para un punto de corte superior a 50,75 UI/mL, lo que significa que es altamente efectivo

para distinguir entre LES Activo e Inactivo. Razón por el que es incluido en el Índice de Actividad de Enfermedad de LES (SLEDAI) (Pisetsky & Lipsky, 2020).

Además, al igual, que los anticuerpos anti-dsDNA, los anticuerpos anti-Nuc también tienen una buena capacidad discriminativa. Estando significativamente elevados en el LES activo, como lo observado en otros estudios (Elsayed et al., 2022; Pisetsky & Lipsky, 2020). Sugiriendo que ambos biomarcadores pueden ser indicadores de la actividad de la enfermedad.

Sin embargo, en este estudio se ha observado que la utilidad clínica de los anticuerpos anti-Nuc es cuestionable en comparación con los anticuerpos anti-dsDNA debido a que también se detectan concentraciones elevadas de anti-Nuc en el grupo de pacientes con LES inactivo. No obstante, es de destacar que los niveles séricos de anti-Nuc expresados en pacientes con LES activo es 4 veces mayor al de LES inactivo. Una observación que se refleja en una sensibilidad del 78,10% y una especificidad del 75,00% para un punto de corte mayor a 38,5 U/mL, aproximadamente 2 veces mayor a las instrucciones del fabricante.

También, al igual que en otros estudios se ha observado concentraciones séricas significativamente elevadas de anti-C1q (Katsumata et al., 2011) asociadas con la actividad global de la enfermedad. Se encontró que a un nivel de corte de 2,9 nmol/L tiene una buena capacidad discriminativa.

Mientras que, si bien se encontraron diferencias significativas en los niveles séricos de Albúmina entre los grupos, siendo significativamente más bajos en el grupo LES Activo. Y, los niveles séricos de B2M significativamente más altos en el grupo LES Activo. Los niveles séricos de Albúmina y B2M sérica no mostraron diferencias significativas entre los grupos LES Activo e Inactivo en el análisis de la curva ROC, al igual que la 25OH Vitamina D, que aunque tenía niveles más bajos en LES activo no fueron significativos. Sugiriendo que estos biomarcadores no son útiles para distinguir entre los estados activo e inactivo del LES en esta población específica. En tanto que

los niveles séricos de Ferritina y Creatinina, así como los niveles urinarios de B2M, aunque más elevados en el grupo LES Activo, no mostraron diferencias significativas con el grupo LES Inactivo ni tampoco pueden considerarse como un biomarcador distintivo en la práctica clínica para discriminar la actividad del LES.

A propósito, otros estudios encontraron una asociación negativa significativa entre la albúmina sérica y el SLEDAI (Mok, 2010; Zeraati et al., 2022). Sin embargo, en este estudio la concentración reducida de albúmina, a pesar de mostrar diferencias significativas entre los grupos con enfermedad activa e inactiva, estaban dentro de los rangos de referencia normales. Esto indica que, aunque pueden ser útiles en ciertos casos, no son biomarcadores altamente confiables para distinguir la actividad de la enfermedad en la práctica clínica debido a su baja sensibilidad y especificidad diagnóstica.

10.7 Comportamiento de biomarcadores potenciales en pacientes con LES diferenciando entre la presencia o ausencia de NL, mediante la cuantificación proteica por ELISA en suero y orina

En este estudio comparativo de pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES) clasificados en grupos con y sin afectación renal (NL y No-NL respectivamente), se encontraron diferencias significativas en los niveles séricos de varios biomarcadores entre los dos grupos. Se encontró que Anti-Nuc, Anti-C1q y Anti-dsDNA tuvieron niveles significativamente más altos en pacientes con NL. Los tres biomarcadores mostraron buenos valores de AUC en la curva ROC, lo que indica que tienen capacidad para discriminar entre NL y No-NL. En conjunto, estas observaciones respaldan la importancia de los biomarcadores analizados para la evaluación de la nefritis lúpica.

Estos biomarcadores respaldan la evidencia acumulada que indica la contribución en orden de prevalencia de los autoanticuerpos anti-dsDNA, anti-Nuc y anti-C1q en la formación de inmunocomplejos que activan el sistema del complemento que desencadena la inflamación renal en LES (Tsokos, 2020). Actualmente, en el ámbito

clínico y en base a la evidencia científica, por la correlación predominante de estos biomarcadores y el fenotipo clínico de la NL, se los ha denominado anticuerpos nefritogénicos (Anders et al., 2020; Fortuna & Brennan, 2013; Ugarte-Gil et al., 2019).

Recientemente, se ha sugerido que la positividad combinada de anticuerpos anti-Nuc y anti-dsDNA puede tener un valor pronóstico, especialmente en relación con la afectación renal, lo cual respalda la evaluación de rutina de estos autoanticuerpos (Elsayed et al., 2022). Al respecto, en este estudio se encontró que ambos anticuerpos presentaron concentraciones séricas significativamente elevadas en los pacientes con NL en comparación con los pacientes sin NL.

Sin embargo, en este análisis comparativo también se observaron concentraciones elevadas en el grupo de pacientes sin NL debido a la contribución de los pacientes con lupus activo que no padecían nefropatía lúpica. No obstante, es importante destacar que aunque se encontraron concentraciones elevadas en ambos grupos, se observó que la concentración promedio de anti-Nuc en los pacientes con NL fue aproximadamente 14 veces mayor que en los pacientes sin NL, mientras que la concentración promedio de anti-dsDNA fue aproximadamente de 10 veces. Estas evidencias sugieren que la presencia y altos títulos de estos autoanticuerpos con alta probabilidad apoyarían la sospecha clínica de NL. De acuerdo con estos resultados, Hung et al., observaron que el nivel de anticuerpos anti-Nuc era significativamente mayor en pacientes con NL en comparación con pacientes lúpicos sin afectación renal (Hung et al., 2011).

Una observación que se refleja en la sensibilidad del 95,50% y una especificidad del 86,40% para un punto de corte mayor a 71,85 U/mL para el anti-Nuc frente a una sensibilidad del 77,30% y una especificidad del 68,20% para un punto de corte mayor a 113,70 UI/mL para el anti-dsDNA. En el caso de anti-Nuc aprox. 4 veces superior al sugerido, mientras que para el anti-dsDNA con un punto de corte aprox. 2 veces mayor según las instrucciones del fabricante.

Por otro lado, al igual que otros estudios, se observó que la concentración sérica de anti-C1q fue significativamente elevada en pacientes con NL en comparación con pacientes sin NL (Elrefaey et al., 2022) siendo la sensibilidad del 59,10% y la especificidad del 100% para un punto de corte mayor a 9,30 nmol/L, muy similar al del fabricante.

Del mismo modo, se observó que la concentración sérica de B2M era significativamente más alta en pacientes con NL al igual que en otros estudios (Kim et al., 2010), indicando que son biomarcadores altamente confiables para distinguir la actividad de la enfermedad, sin embargo en la práctica clínica no resulta útil debido a su cuestionable utilidad diagnóstica.

Además, de manera similar al estudio de Kim et al., en este estudio se observó que la concentración sérica de C3 y C4 estaban significativamente disminuidos en los pacientes con NL en comparación con los pacientes sin NL (Kim, Jeon, Yoon, & Suh, 2010). En el caso de C4 por debajo de su rango de referencia, a diferencia de C3, que aunque también disminuyó permaneció dentro de su rango de referencia, demostrando poca utilidad clínica reflejada en su baja sensibilidad y especificidad diagnóstica.

Por su parte, los niveles de concentración de albúmina sérica estaban significativamente disminuidos por debajo de sus rangos de referencia en los pacientes con NL en comparación con los pacientes sin NL. Esto coincide con los hallazgos de otros investigadores, que demostraron que la albúmina sérica está inversamente asociada con la actividad de la enfermedad de LES y esta asociación es más fuerte en aquellos con NL (Sui et al., 2014). Pero a pesar de esta observación tampoco son biomarcadores altamente confiables para distinguir la actividad de la enfermedad en la práctica clínica debido a su baja sensibilidad y especificidad diagnóstica.

En tanto que la Vitamina 25OH, B2M Urinaria, Ferritina y Creatinina no mostraron diferencias significativas entre los grupos NL y No-NL ni tampoco en los análisis de la curva ROC. Esto sugiere que estos biomarcadores no son útiles para distinguir entre pacientes con afectación renal y sin afectación renal en esta cohorte específica.

Por tanto, luego de analizar los resultados obtenidos de los niveles de biomarcadores potenciales y compararlos con los resultados de otros estudios, se identifica a los biomarcadores que por su sensibilidad y especificidad se diferencian significativamente como biomarcadores de presencia o ausencia de enfermedad, activación de la enfermedad y presencia de nefritis lúpica. Y, por ende, parece razonable el sistema de ensayo utilizado en la estructuración en grupos a los que fueron asignados la cohorte de pacientes con LES de este estudio. Y por ende, nos brindan una perspectiva valiosa para continuar evaluando en los mismos grupos los biomarcadores emergentes.

10.8 Comportamiento de β 2microglobulina y Semaforina3A en pacientes con LES y voluntarios sanos mediante la cuantificación relativa de ARN mensajero por RT-qPCR en orina

10.8.1 Expresión génica de β 2microglobulina

En este estudio el aumento notable en los niveles de expresión urinaria del gen β 2M en pacientes con LES de 2,4 veces mayor en comparación a los niveles expresados por los voluntarios sanos, sugiere una actividad genética aumentada relacionada en estos pacientes. Estos resultados coinciden con otros estudios como el de Tony et al. (2016) que en pacientes con LES documentaron elevados niveles de concentración proteica de B2M en orina (Tony EAE, 2016).

Esta observación concuerda con los niveles séricos de la proteína β 2M significativamente elevados en pacientes con LES evidenciados en el presente estudio, similar a hallazgos reportados en otros estudios (Abd-Elbaky, Albeltagy, Hammour, & Ibrahim, 2019). Esto puede indicar que la información genética contenida en los genes relacionados con la β 2M se está transcribiendo en ARNm a un ritmo más alto de lo normal, lo que resulta en una mayor síntesis de proteína β 2M.

Por ende, se denota una activación significativa de los procesos celulares relacionados con β 2M en los pacientes con LES, lo que sugiere la utilidad de este biomarcador como indicador útil de apoyo al diagnóstico de la enfermedad.

Es esencial destacar que este aumento del gen β 2M en orina y los niveles elevados de proteína β 2M en suero puede ser el resultado de una serie de procesos interconectados que ocurren tanto a nivel sistémico como local en el riñón. Uno de los factores clave es la producción sistémica elevada de B2M, como se evidencia en los resultados serológicos de proteína de este estudio. Esta sobreproducción conduce a una carga excesiva de proteínas en las células tubulares proximales del riñón. En este contexto, la capacidad de filtración y reabsorción renal de β 2M se ve afectada, llevando a su excreción en la orina. Esta sobrecarga proteica, debido a la capacidad de β 2M para estimular la secreción de citocinas proinflamatorias, podría ocasionar lesiones en el parénquima renal, como las observadas en la NL, y también podrían contribuir al aumento del gen β 2M en la orina (Li et al., 2006). Creando un efecto cíclico que perpetúa el daño renal y la excreción de β 2M en la orina (Monteiro et al., 2016).

10.8.2 Expresión génica de Semaforina3A

Uno de los hallazgos notables de este estudio es que solo se detectó expresión urinaria del gen Sema3A en el 25% de los pacientes con LES, mientras que no se observó en el restante 75%. Esto indica una regulación negativa específica de Sema3A en orina en el contexto del LES a nivel de ARNm, evaluado en este estudio. Asimismo, otros estudios como el de Torres et al y Doron et al. demostraron niveles bajos de proteína Sema3A urinaria (Doron et al., 2022; Torres-Salido et al., 2019). De la misma manera Z Vadasz & Toubi, en el 2012, reportaron niveles séricos reducidos de Sema3A en pacientes con LES (Z Vadasz & Toubi, 2012).

La observación de que la expresión de Sema3A es baja o indetectable en la mayoría de los pacientes con LES sugiere una desregulación negativa de la expresión génica de Sema3A, lo que podría estar vinculado con la patogénesis del LES. Dado a que las

interacciones entre las células inmunológicas y las proteínas señalizadoras, como Sema3A, son fundamentales para la adecuada regulación del sistema inmunológico, la supresión de Sema3A podría influir negativamente en estas interacciones, llevando a un desequilibrio inmunológico y posiblemente contribuye a la patogénesis del LES.

No obstante, a pesar de que la expresión de Sema3A es baja en la mayoría de los pacientes con LES, en aquellos en los que se detectó, los niveles de expresión fueron en promedio 9.1 veces mayor en comparación con los voluntarios sanos. Esta observación denota la heterogeneidad de los pacientes con LES y sugiere que Sema3A podría ser un biomarcador útil para identificar un subconjunto específico de pacientes con LES que presentan una regulación diferencial de la expresión de este gen.

Cabe resaltar que los niveles de expresión del gen Sema3A no fueron detectables en los voluntarios sanos. Al respecto Jayakumar et al., el 2013 demostró que en personas sin problemas renales la excreción urinaria de Sema3A es indetectable (Jayakumar et al., 2013). Otro estudio similar reporta que en ausencia de daño renal por diabetes su excreción urinaria es limitada (Mohamed et al., 2014).

10.9 Comportamiento de β 2microglobulina y Semaforina3A en pacientes con LES considerando la actividad de la enfermedad mediante la cuantificación relativa de ARN mensajero por RT-qPCR en orina

10.9.1 Expresión génica de β 2microglobulina

Con respecto al análisis comparativo de los niveles de expresión génica urinaria de β 2M en pacientes con Lupus Eritematoso Sistémico (LES) clasificados en grupos de LES Activo e Inactivo, los datos no muestran diferencias significativas en los niveles de expresión urinaria del gen β 2M. Al igual que lo observado en la concentración proteica sérica y urinaria. No obstante, la falta de significancia podría deberse a la necesidad de una muestra más grande para detectar diferencias significativas, debido a que se denota una limitada tendencia para distinguir la actividad de la enfermedad con valores más elevados en LES activo. Tal y como reporta el estudio de Choe et al., que evidenció

niveles de proteína de B2M en orina más elevados en LES activo (Choe et al., 2014). Y el estudio de Abd-Elbaky et al., en cuanto a los niveles séricos de B2M más altos en pacientes con LES, especialmente durante las etapas activas de la enfermedad (Abd-Elbaky et al., 2019).

10.9.1 Expresión génica de Semaforina3A

En el 25% de los pacientes con LES donde se detectó la expresión del gen Sema3A, no hay suficiente evidencia para afirmar que hay una diferencia significativa entre los grupos de LES Activo e Inactivo, lo que significa que la precisión de este biomarcador es aún más incierta.

10.10 Comportamiento de β 2microglobulina y Semaforina3A en pacientes con LES según la presencia o ausencia de NL mediante la cuantificación relativa de ARN mensajero por RT-qPCR en orina

10.10.1 Expresión génica de β 2microglobulina

Mientras que tampoco se encontraron diferencias significativas en los niveles de expresión génica urinaria de β 2M entre pacientes con afectación renal (NL) y pacientes sin afectación renal (No-NL/LES). Y la tendencia hacia niveles elevados de este biomarcador a nivel genético urinario se inclina en pacientes No-NL/LES. En tanto que la concentración proteica sérica y urinaria se inclina en pacientes con NL. Por lo tanto, en el contexto de este estudio y esta muestra específica, no se puede afirmar con confianza que β 2M sea un biomarcador válido para discriminar pacientes con daño renal.

10.10.2 Expresión génica de Semaforina3A

Si bien los niveles de expresión de ARNm de Sema3A están ligeramente elevados en NL y la curva ROC establece una capacidad moderada para distinguir entre pacientes con y sin afectación renal en LES, estas diferencias no fueron significativas; lo que a su

vez sugiere que este biomarcador tiene limitaciones para distinguir entre el 25% de los pacientes con LES donde se detectó la expresión del gen Sema3A. Estos hallazgos concuerdan con un estudio previo de Torres et al., donde la expresión de ARNm de Sema3A en orina no difirió entre los pacientes con NL activa en comparación con los pacientes con LES activo sin NL (Torres-Salido et al., 2019).

Por el contrario, en el estudio de Torres et al., se ha informado una disminución significativa de los niveles de proteína de Sema3A en la orina en pacientes con NL activa en comparación con los pacientes con LES activo sin NL. Del mismo modo, Doron et al. informaron que la Sema3A en orina está disminuida en pacientes con NL (Doron et al., 2022). Desafortunadamente, no podemos comparar resultados debido a que en nuestro estudio no se realizaron mediciones de los niveles de proteína de Sema3A por ELISA.

El ligero aumento en la expresión génica de Sema3A en pacientes con NL en este estudio, y en el estudio de Torres et al, en contraste con la disminución de los niveles de proteína reportada por Torres et al y Doron et al. (Doron et al., 2022; Torres-Salido et al., 2019) podría indicar que los niveles de expresión génica de Sema3A podrían estar aumentados como un mecanismo compensatorio para contrarrestar los niveles reducidos de proteína de Sema3A observados en NL. Tal como se demostró en un estudio de daño renal consecuencia de cirugías riesgosas donde fue sugerido como biomarcador de daño renal dentro de las primeras 24 horas, convirtiéndose en un biomarcador precoz que disminuyó rápidamente, en contraste con la expresión de proteínas que tendió a elevarse (Jayakumar et al., 2013).

Este mecanismo de regulación permite que las células ajusten la cantidad de proteínas producidas en respuesta a las necesidades fisiológicas o las condiciones de su entorno. Es así, que la transcripción de ARNm será estimulada hasta que se alcance el nivel proteico deseado, y solo hasta entonces la transcripción de ARNm será detenida (Schwanhäusser et al., 2011). Sin embargo, es importante tener en cuenta que la relación entre los niveles de ARNm y los niveles de proteína puede variar dependiendo del gen

especifico y las condiciones epigenéticas que inducen su expresión o represión. Por ende, se necesita más investigación para comprender completamente los mecanismos de regulación de Sema3A y la relación entre los niveles de ARNm y los niveles de proteína en NL.

Por otro lado, el motivo de que tanto en nuestro estudio como el de Torres et al., no se tengan diferencias significativas del ARNm en NL, puede deberse a las características intrínsecas del ARNm como ser su tiempo de vida corto en promedio de 10 horas (Schwanhäusser et al., 2011), y la rápida degradación del ARNm debido a la presencia de diversos tipos de células activas en condiciones patológicas como el daño renal, incluidos glóbulos rojos, leucocitos, células tubulares renales, células escamosas y epiteliales urinarias (Wang & Szeto, 2007) que pueden expresar ARNasas que contribuirán a una degradación más rápida de ARNm. Además, la concordancia de nuestros hallazgos hace probable que la metodología empleada era la adecuada.

Asimismo, la expresión génica de Sema3A ligeramente aumentada en pacientes con NL, coincide con estudios previos que también han encontrado un incremento en la tinción de Sema3A en los túbulos renales en pacientes con NL activa (Torres-Salido et al., 2019; Zahava Vadasz et al., 2011). Esto sugiere una posible importancia funcional de Sema3A en la fisiología renal y su implicación en la NL.

Es interesante destacar la diferencia en los niveles proteicos de Sema3A en orina de pacientes con NL activa, en comparación con pacientes que tienen otras patologías renales. En los pacientes con NL activa, los niveles de Sema3A en orina son bajos, según investigaciones recientes (Doron et al., 2022; Torres-Salido et al., 2019). Esta observación contrasta con lo que se encuentra en otras enfermedades renales, donde los niveles de Sema3A en orina son elevados (Aggarwal et al., 2015; Doi et al., 2014; Jayakumar et al., 2013; Mohamed et al., 2014; Viazzi et al., 2015).

Esta disparidad en los niveles proteicos de Sema3A en orina podría indicar una desregularización específica negativa en el contexto del LES y la nefritis. Esta supresión

podría estar relacionada con una disminución de la función renal y un desequilibrio en el sistema inmunológico.

Estudios previos han establecido que la Sema3A actúa como un regulador de la supervivencia de las células endoteliales en los capilares del glomérulo renal, y su supresión podría llevar a una sobreexpresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), una proteína angiogénica que utiliza el mismo correceptor, NP-1, que Sema3A, lo que resulta en un desequilibrio en la formación del sistema vascular renal. Por otro lado, la sobreexpresión de Sema3A a nivel tubular en NL está directamente correlacionada con la proteinuria y las pruebas de función renal. Por ende, esta expresión aumentada de Sema3A en NL aún podría considerarse perjudicial para el riñón enfermo (Zahava Vadasz et al., 2011).

11 CONCLUSIONES

En el presente estudio, la evaluación del comportamiento de β 2Microglobulina y Semaforina3A como biomarcadores de actividad del Lupus Eritematoso Sistémico y nefritis lúpica a través del análisis de la expresión génica en orina por RT-qPCR, demuestra un aumento de expresión genética significativa relacionada con β 2M, en contraste, con una disminución de expresión de Sema3A en pacientes con LES; evidenciándose una limitada utilidad para distinguir el estado de actividad del LES o la presencia de NL.

La evaluación del comportamiento de los biomarcadores serológicos entre pacientes lúpicos y controles demuestran que Anti-Nuc y Anti-dsDNA son biomarcadores efectivos para el diagnóstico de LES, siendo Anti-dsDNA 100% específico. Mientras que B2M Sérica y Ferritina tienen una capacidad diagnóstica moderada. Finalmente Anti-C1q y Vitamina 25OH no mostraron utilidad diagnóstica.

El análisis del comportamiento de los biomarcadores serológicos y urinarios considerando la actividad de la enfermedad sugiere que Anti-dsDNA es un marcador altamente efectivo para distinguir entre pacientes con LES Activo e Inactivo, mientras que otros biomarcadores como Anti-C1q y Anti-Nuc también tienen cierta utilidad en este contexto. Por otro lado, los niveles de varios otros biomarcadores, incluyendo Vitamina 25OH, C3, C4, B2Msérica y urinaria, Creatinina, Albúmina y Ferritina, no demostraron ser útiles para diferenciar entre los estados de actividad e inactividad del LES.

El análisis del comportamiento de los biomarcadores serológicos y urinarios diferenciando entre la presencia o ausencia de NL sugiere que Anti-Nuc, Anti-C1q y Anti-dsDNA son biomarcadores útiles para discriminar la afectación renal. El resto de los biomarcadores evaluados no mostraron diferencias significativas entre los grupos y, por lo tanto, no son útiles para este propósito.

La evaluación del comportamiento de los niveles de expresión urinaria del gen de β 2Microglobulina entre pacientes y controles reveló una mayor expresión genética en los pacientes con LES, sugiriendo activación significativa de los procesos celulares vinculados a β 2M, lo cual la convierte en una herramienta de apoyo al diagnóstico de la enfermedad. En el caso de la expresión del gen de Semaforina3A en pacientes con LES los datos encontrados revelan la baja o ausencia de expresión en el 75% de los pacientes estudiados.

El análisis del comportamiento de los niveles de expresión urinaria de los genes de β 2Microglobulina y Semaforina3A en pacientes con LES considerando la actividad de la enfermedad no mostró una capacidad para discriminar de manera significativa la actividad de la inactividad del LES.

El análisis del comportamiento de los niveles de expresión urinaria de los genes de β 2Microglobulina y Semaforina3A en pacientes con LES no demostró capacidad para distinguir entre pacientes con afectación renal y aquellos sin afectación renal.

12 RECOMENDACIONES

Dado que la estructuración es la base de la investigación en el manejo de LES debido a su heterogeneidad el estandarizar los ensayos es esencial para el progreso futuro.

Es importante tener en cuenta que este estudio exploratorio se basa en una muestra específica de pacientes con LES y un grupo de control. Para comprender mejor el papel en la enfermedad de estos biomarcadores y validar la utilidad de estos se necesitarían estudios adicionales con muestras más grandes y diversas.

La búsqueda de biomarcadores más sensibles y fiables de actividad de la enfermedad y NL en pacientes con LES surgirán de los esfuerzos comunes entre reumatólogos, inmunólogos, nefrólogos, y otras áreas de la ciencia, incluida la biología molecular.

Existe una necesidad constante y crítica de elucidar los mecanismos inmunes detrás de la NL para poder identificar nuevos biomarcadores que sean fácilmente evaluables y faciliten el diagnóstico y monitoreo de los pacientes, lo cual llevará al desarrollo de terapias mucho más efectivas con mejores resultados y menos efectos adversos.

13 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abd-Elbaky, N. M., Albeltagy, E. S., Hammour, A. E., & Ibrahim, A. S. (2019). Evaluation of Serum beta2-microglobulin in Egyptian Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Egypt J Immunol*, 26(2), 143-153.
- Aggarwal, P. K., Veron, D., Thomas, D. B., Siegel, D., Moeckel, G., Kashgarian, M., & Tufro, A. (2015). Semaphorin3a promotes advanced diabetic nephropathy. *Diabetes*, 64(5), 1743-1759. doi: 10.2337/db14-0719
- Aghdashi, M., Salami, S., & Nezhadislami, A. (2019). Evaluation of the serum β 2 Microglobulin level in patients with systemic lupus erythematosus and its correlation with disease activity. *Biomedicine (Taipei)*, 9(3), 16. doi: 10.1051/bmdcn/2019090316
- Agmon-Levin, N., Damoiseaux, J., Kallenberg, C., Sack, U., Witte, T., Herold, M., . . . Shoenfeld, Y. (2014). International recommendations for the assessment of autoantibodies to cellular antigens referred to as anti-nuclear antibodies. *Ann Rheum Dis*, 73(1), 17-23. doi: 10.1136/annrheumdis-2013-203863
- Aguirre Zamorano, M. A., López Pedrera, R., & Cuadrado Lozano, M. J. (2010). [Drug-induced lupus]. *Medicina clinica*, 135(3), 124-129. doi: 10.1016/j.medcli.2009.04.035
- Alarcon, G. S., Calvo-Alen, J., McGwin, G., Jr., Uribe, A. G., Toloza, S. M., Roseman, J. M., . . . Group, L. S. (2006). Systemic lupus erythematosus in a multiethnic cohort: LUMINA XXXV. Predictive factors of high disease activity over time. *Ann Rheum Dis*, 65(9), 1168-1174. doi: 10.1136/ard.200X.046896
- Anders, H. J., & Fogo, A. B. (2014). Immunopathology of lupus nephritis. *Semin Immunopathol*, 36(4), 443-459. doi: 10.1007/s00281-013-0413-5
- Anders, H. J., Saxena, R., Zhao, M. H., Parodis, I., Salmon, J. E., & Mohan, C. (2020). Lupus nephritis. *Nat Rev Dis Primers*, 6(1), 7. doi: 10.1038/s41572-019-0141-9
- Anderson, J. E., Do, M.-K. Q., Daneshvar, N., Suzuki, T., Dort, J., Mizunoya, W., & Tatsumi, R. (2017). The role of semaphorin3A in myogenic regeneration and the formation of functional neuromuscular junctions on new fibres. *Biological Reviews*, 92(3), 1389-1405. doi: <https://doi.org/10.1111/brv.12286>
- Argyropoulos, C. P., Chen, S. S., Ng, Y.-H., Roumelioti, M.-E., Shaffi, K., Singh, P. P., & Tzamaloukas, A. H. (2017). Rediscovering Beta-2 Microglobulin As a Biomarker across the Spectrum of Kidney Diseases. *Frontiers in Medicine*, 4. doi: 10.3389/fmed.2017.00073
- Arnaud, L., Fagot, J. P., Mathian, A., Paita, M., Fagot-Campagna, A., & Amoura, Z. (2014). Prevalence and incidence of systemic lupus erythematosus in France: a 2010 nationwide population-based study. *Autoimmun Rev*, 13(11), 1082-1089. doi: 10.1016/j.autrev.2014.08.034
- Bejar, J., Kessler, O., Sabag, A. D., Sabo, E., Itzhak, O. B., Neufeld, G., & Vadasz, Z. (2018). Semaphorin3A: A Potential Therapeutic Tool for Lupus Nephritis. *Frontiers in Immunology*, 9.
- Bernatsky, S., Joseph, L., Pineau, C. A., Tamblyn, R., Feldman, D. E., & Clarke, A. E. (2007). A population-based assessment of systemic lupus erythematosus incidence and prevalence--results and implications of using administrative data for epidemiological studies. *Rheumatology (Oxford)*, 46(12), 1814-1818. doi: 10.1093/rheumatology/kem233

- Borchers, A. T., Leibushor, N., Naguwa, S. M., Cheema, G. S., Shoenfeld, Y., & Gershwin, M. E. (2012). Lupus nephritis: a critical review. *Autoimmun Rev*, *12*(2), 174-194. doi: 10.1016/j.autrev.2012.08.018
- Cervera, R., Khamashta, M. A., Font, J., Sebastiani, G. D., Gil, A., Lavilla, P., . . . European Working Party on Systemic Lupus, E. (2003). Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period: a comparison of early and late manifestations in a cohort of 1,000 patients. *Medicine (Baltimore)*, *82*(5), 299-308. doi: 10.1097/01.md.0000091181.93122.55
- Conde Sánchez, J. (2019). EL PAPEL FUNDAMENTAL DE LA VITAMINA D EN LA INMUNIDAD. *FACULTAD DE FARMACIA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE*.
- Crispin, J. C., Liossis, S. N., Kis-Toth, K., Lieberman, L. A., Kyttaris, V. C., Juang, Y. T., & Tsokos, G. C. (2010). Pathogenesis of human systemic lupus erythematosus: recent advances. *Trends Mol Med*, *16*(2), 47-57. doi: 10.1016/j.molmed.2009.12.005
- Chiu, Y. M., & Lai, C. H. (2010). Nationwide population-based epidemiologic study of systemic lupus erythematosus in Taiwan. *Lupus*, *19*(10), 1250-1255. doi: 10.1177/0961203310373780
- Choe, J. Y., Park, S. H., & Kim, S. K. (2014). Urine β 2-microglobulin is associated with clinical disease activity and renal involvement in female patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*, *23*(14), 1486-1493. doi: 10.1177/0961203314547797
- Dall'Era, M., Cisternas, M. G., Snipes, K., Herrinton, L. J., Gordon, C., & Helmick, C. G. (2017). The Incidence and Prevalence of Systemic Lupus Erythematosus in San Francisco County, California: The California Lupus Surveillance Project. *Arthritis Rheumatol*, *69*(10), 1996-2005. doi: 10.1002/art.40191
- Danila, M. I., Pons-Estel, G. J., Zhang, J., Vila, L. M., Reveille, J. D., & Alarcon, G. S. (2009). Renal damage is the most important predictor of mortality within the damage index: data from LUMINA LXIV, a multiethnic US cohort. *Rheumatology (Oxford)*, *48*(5), 542-545. doi: 10.1093/rheumatology/kep012
- Doi, K., Noiri, E., Nangaku, M., Yahagi, N., Jayakumar, C., & Ramesh, G. (2014). Repulsive guidance cue semaphorin 3A in urine predicts the progression of acute kidney injury in adult patients from a mixed intensive care unit. *Nephrology Dialysis Transplantation*, *29*(1), 73-80. doi: 10.1093/ndt/gft414
- Doron, R., Merav, L., Nasrin, E., Adi, S. D., Elias, T., Gleb, S., . . . Zahava, V. (2022). Low Urine Secretion of Semaphorin3A in Lupus Patients with Proteinuria. *Inflammation*, *45*(2), 603-609. doi: 10.1007/s10753-021-01570-4
- Durcan, L., O'Dwyer, T., & Petri, M. (2019). Management strategies and future directions for systemic lupus erythematosus in adults. *Lancet*, *393*(10188), 2332-2343. doi: 10.1016/S0140-6736(19)30237-5
- Elrefaey, W., Gawaly, A., Hagag, R., Mohammed, H., Abdelnaby, A., & Aboelnasr, M. (2022). Assessment of systemic lupus erythematosus disease activity and lupus nephritis flare using anti-nucleosome and anti-C1q antibodies. *Menoufia Medical Journal*, *35*(1), 110-115. doi: 10.4103/mmj.mmj_144_21
- Elsayed, S. A.-R., Kamaly, H. M., & Esmail, M. A. (2022). Co-positivity of anti-dsDNA, anti-nucleosome, and anti-smith autoantibodies as serological biomarkers for disease activity in systemic lupus erythematosus. *Egyptian Rheumatology and Rehabilitation*, *49*(1), 8. doi: 10.1186/s43166-021-00110-0
- Espinoza Cuevas, G., Calcina Cuevas, N. V., Mamani Ortiz, Y., Jiménez de Sánchez, M., & E., G. M. J. (2015). Características clínico-epidemiológicas de la nefritis lúpica en

- pacientes con lupus en el Complejo Hospitalario Viedma, gestión 2010-2015. *Revista Científica Ciencia Médica*, 18(2), 5-9.
- Fanouriakis, A., Tziolos, N., Bertsias, G., & Boumpas, D. T. (2021). Update on the diagnosis and management of systemic lupus erythematosus. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 80(1), 14-25. doi: 10.1136/annrheumdis-2020-218272
- Fava, A., & Petri, M. (2019). Systemic lupus erythematosus: Diagnosis and clinical management. *J Autoimmun*, 96, 1-13. doi: 10.1016/j.jaut.2018.11.001
- Felechosa, M. D., Gallego, N. V., Fernández, M. L. G.-A., & Alvarez, F. C. (2013). Hypoglycemia as a manifestation of iatrogenic adrenal insufficiency due to topical steroids. *Endocrinología y nutrición (English Edition)*, 9(60), e21-e22.
- Fernandez-Avila, D. G., Bernal-Macias, S., Rincon-Riano, D. N., Gutierrez Davila, J. M., & Rosselli, D. (2019). Prevalence of systemic lupus erythematosus in Colombia: data from the national health registry 2012-2016. *Lupus*, 28(10), 1273-1278. doi: 10.1177/0961203319864168
- Flower, C., Hennis, A. J., Hambleton, I. R., Nicholson, G. D., Liang, M. H., & Barbados National Lupus Registry, G. (2012). Systemic lupus erythematosus in an African Caribbean population: incidence, clinical manifestations, and survival in the Barbados National Lupus Registry. *Arthritis Care Res (Hoboken)*, 64(8), 1151-1158. doi: 10.1002/acr.21656
- Fortuna, G., & Brennan, M. T. (2013). Systemic lupus erythematosus: epidemiology, pathophysiology, manifestations, and management. *Dent Clin North Am*, 57(4), 631-655. doi: 10.1016/j.cden.2013.06.003
- Furst, D. E., Clarke, A. E., Fernandes, A. W., Bancroft, T., Greth, W., & Iorga, S. R. (2013). Incidence and prevalence of adult systemic lupus erythematosus in a large US managed-care population. *Lupus*, 22(1), 99-105. doi: 10.1177/0961203312463110
- Gamboa, R., Medina, M., Acevedo, E., Pastor, C., Cucho, J., Gutiérrez, C., . . . Zevallos, F. (2009). Prevalencia de enfermedades reumatológicas y discapacidad en una comunidad urbano-marginal: resultados del primer estudio Copcord en el Perú. *Revista Peruana de Reumatología*, 15(1)
- Garcia, S. (2019). Role of Semaphorins in Immunopathologies and Rheumatic Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(2), 374.
- Gergianaki, I., Bortoluzzi, A., & Bertsias, G. (2018). Update on the epidemiology, risk factors, and disease outcomes of systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 32(2), 188-205. doi: 10.1016/j.berh.2018.09.004
- Giannico, G., & Fogo, A. B. (2013). Lupus nephritis: is the kidney biopsy currently necessary in the management of lupus nephritis? *Clin J Am Soc Nephrol*, 8(1), 138-145. doi: 10.2215/CJN.03400412
- Gomez-Puerta, J. A., Barbhuiya, M., Guan, H., Feldman, C. H., Alarcon, G. S., & Costenbader, K. H. (2015). Racial/Ethnic variation in all-cause mortality among United States medicaid recipients with systemic lupus erythematosus: a Hispanic and asian paradox. *Arthritis Rheumatol*, 67(3), 752-760. doi: 10.1002/art.38981
- Hermansen, M. L., Lindhardsen, J., Torp-Pedersen, C., Faurschou, M., & Jacobsen, S. (2016). Incidence of Systemic Lupus Erythematosus and Lupus Nephritis in Denmark: A Nationwide Cohort Study. *J Rheumatol*, 43(7), 1335-1339. doi: 10.3899/jrheum.151221
- Hiraki, L. T., Feldman, C. H., Liu, J., Alarcon, G. S., Fischer, M. A., Winkelmayr, W. C., & Costenbader, K. H. (2012). Prevalence, incidence, and demographics of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis from 2000 to 2004 among children in the US

- Medicaid beneficiary population. *Arthritis Rheum*, 64(8), 2669-2676. doi: 10.1002/art.34472
- Housey, M., DeGuire, P., Lyon-Callo, S., Wang, L., Marder, W., McCune, W. J., . . . Somers, E. C. (2015). Incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus among Arab and Chaldean Americans in southeastern Michigan: the Michigan Lupus Epidemiology and Surveillance Program. *Am J Public Health*, 105(5), e74-79. doi: 10.2105/AJPH.2014.302423
- Howell, D. C. (2013). *Fundamental statistics for the behavioral sciences* (8 ed.). Mason, OH, Estados Unidos de América: South-Western.
- Huang, Y., Chen, L., Chen, K., Huang, F., Feng, Y., Xu, Z., & Wang, W. (2019). Anti- α -enolase antibody combined with β 2 microglobulin evaluated the incidence of nephritis in systemic lupus erythematosus patients. *Lupus*, 28(3), 365-370. doi: 10.1177/0961203319828822
- Hung, W. T., Chen, Y. M., Lan, J. L., Chen, H. H., Chen, Y. H., Chen, D. Y., . . . Wen, M. C. (2011). Antinucleosome antibodies as a potential biomarker for the evaluation of renal pathological activity in patients with proliferative lupus nephritis. *Lupus*, 20(13), 1404-1410. doi: 10.1177/0961203311417033
- Izmirly, P. M., Wan, I., Sahl, S., Buyon, J. P., Belmont, H. M., Salmon, J. E., . . . Parton, H. (2017). The Incidence and Prevalence of Systemic Lupus Erythematosus in New York County (Manhattan), New York: The Manhattan Lupus Surveillance Program. *Arthritis Rheumatol*, 69(10), 2006-2017. doi: 10.1002/art.40192
- Jayakumar, C., Ranganathan, P., Devarajan, P., Krawczeski, C. D., Looney, S., & Ramesh, G. (2013). Semaphorin 3A is a new early diagnostic biomarker of experimental and pediatric acute kidney injury. *PLoS One*, 8(3), e58446. doi: 10.1371/journal.pone.0058446
- Justiz Vaillant, A. A. G., A.; Bansal, P.; (2020). Systemic Lupus Erythematosus. In: *StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2021 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK535405/>*.
- Kamen, D. L. (2014). Environmental influences on systemic lupus erythematosus expression. *Rheum Dis Clin North Am*, 40(3), 401-412, vii. doi: 10.1016/j.rdc.2014.05.003
- Katsumata, Y., Miyake, K., Kawaguchi, Y., Okamoto, Y., Kawamoto, M., Gono, T., . . . Yamanaka, H. (2011). Anti-C1q antibodies are associated with systemic lupus erythematosus global activity but not specifically with nephritis: a controlled study of 126 consecutive patients. *Arthritis Rheum*, 63(8), 2436-2444. doi: 10.1002/art.30401
- Kaul, A., Gordon, C., Crow, M. K., Touma, Z., Urowitz, M. B., van Vollenhoven, R., . . . Hughes, G. (2016). Systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Dis Primers*, 2, 16039. doi: 10.1038/nrdp.2016.39
- Kim, H. A., Jeon, J. Y., Yoon, J. M., & Suh, C. H. (2010). Beta 2-microglobulin can be a disease activity marker in systemic lupus erythematosus. *Am J Med Sci*, 339(4), 337-340. doi: 10.1097/MAJ.0b013e3181d26dfb
- Kiriakidou, M., & Ching, C. L. (2020). Systemic Lupus Erythematosus. *Ann Intern Med*, 172(11), ITC81-ITC96. doi: 10.7326/AITC202006020
- Lech, M., & Anders, H. J. (2013). The pathogenesis of lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol*, 24(9), 1357-1366. doi: 10.1681/ASN.2013010026
- Lerang, K., Gilboe, I., Garen, T., Thelle, D. S., & Gran, J. T. (2012). High incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus in Norway. *Lupus*, 21(12), 1362-1369. doi: 10.1177/0961203312458168

- Li, Y., Tucci, M., Narain, S., Barnes, E. V., Sobel, E. S., Segal, M. S., & Richards, H. B. (2006). Urinary biomarkers in lupus nephritis. *Autoimmun Rev*, 5(6), 383-388. doi: 10.1016/j.autrev.2005.10.006
- Lim, S. S., Bayakly, A. R., Helmick, C. G., Gordon, C., Easley, K. A., & Drenkard, C. (2014). The incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus, 2002-2004: The Georgia Lupus Registry. *Arthritis Rheumatol*, 66(2), 357-368. doi: 10.1002/art.38239
- Lisnevskaja, L., Murphy, G., & Isenberg, D. (2014). Systemic lupus erythematosus. *Lancet*, 384(9957), 1878-1888. doi: 10.1016/S0140-6736(14)60128-8
- Liu, B., Lu, F., Lin, J., & Zou, H. (2021). Correlations of serum beta 2-microglobulin level with disease activity and renal involvement in patients with systemic lupus erythematosus. *Journal of Laboratory Medicine*, 45(1), 13-18. doi: doi:10.1515/labmed-2020-0115
- Liu, C.-C., Manzi, S., & Ahearn, J. M. (2005). Biomarkers for systemic lupus erythematosus: a review and perspective. *Current Opinion in Rheumatology*, 17(5), 543-549. doi: 10.1097/01.bor.0000174182.70159.22
- Lorenz, G., Desai, J., & Anders, H. J. (2014). Lupus nephritis: update on mechanisms of systemic autoimmunity and kidney immunopathology. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 23(3), 211-217. doi: 10.1097/01.mnh.0000444816.57378.21
- Lotfi, R., & Zamanimehr, N. (2022). Semaphorin-3A: a promising therapeutic tool in allergic rhinitis. *Immunologic Research*, 70(2), 135-142. doi: 10.1007/s12026-022-09264-1
- Madureira Silva, M. V., Moscoso-Solorzano, G. T., Nishida, S. K., & Mastroianni-Kirsztajn, G. (2012). Serum Beta 2-Microglobulin/Cystatin C Index: A Useful Biomarker in Lupus Nephritis. *Nephron Extra*, 2(1), 169-176. doi: 10.1159/000339643
- Maria, N. I., & Davidson, A. (2020). Protecting the kidney in systemic lupus erythematosus: from diagnosis to therapy. *Nat Rev Rheumatol*, 16(5), 255-267. doi: 10.1038/s41584-020-0401-9
- Mendez-Rayó, T., Ochoa-Zárate, L., Posso-Osorio, I., Ortiz, E., Naranjo-Escobar, J., & Tobón, G. J. (2018). Interpretación de los autoanticuerpos en enfermedades reumatológicas. *Revista Colombiana de Reumatología*, 25(2), 112-125. doi: 10.1016/j.rcreu.2018.02.004
- Mohamed, R., Ranganathan, P., Jayakumar, C., Nauta, F. L., Gansevoort, R. T., Weintraub, N. L., . . . Ramesh, G. (2014). Urinary semaphorin 3A correlates with diabetic proteinuria and mediates diabetic nephropathy and associated inflammation in mice. *J Mol Med (Berl)*, 92(12), 1245-1256. doi: 10.1007/s00109-014-1209-3
- Mok, C. C. (2010). Biomarkers for lupus nephritis: a critical appraisal. *J Biomed Biotechnol*, 2010, 638413. doi: 10.1155/2010/638413
- Mok, C. C. (2011). Epidemiology and survival of systemic lupus erythematosus in Hong Kong Chinese. *Lupus*, 20(7), 767-771. doi: 10.1177/0961203310388447
- Mok, C. C., & Lau, C. S. (2003). Pathogenesis of systemic lupus erythematosus. *J Clin Pathol*, 56(7), 481-490. doi: 10.1136/jcp.56.7.481
- Monteiro, M. B., Thieme, K., Santos-Bezerra, D. P., Queiroz, M. S., Woronik, V., Passarelli, M., . . . Corrêa-Giannella, M. L. (2016). Beta-2-microglobulin (B2M) expression in the urinary sediment correlates with clinical markers of kidney disease in patients with type 1 diabetes. *Metabolism*, 65(6), 816-824. doi: https://doi.org/10.1016/j.metabol.2016.02.012
- Morell, M., Pérez-Cózar, F., & Marañón, C. (2021). Immune-Related Urine Biomarkers for the Diagnosis of Lupus Nephritis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 7143.

- Nusbaum, J. S., Mirza, I., Shum, J., Freilich, R. W., Cohen, R. E., Pillinger, M. H., . . . Buyon, J. P. (2020). Sex Differences in Systemic Lupus Erythematosus: Epidemiology, Clinical Considerations, and Disease Pathogenesis. *Mayo Clin Proc*, 95(2), 384-394. doi: 10.1016/j.mayocp.2019.09.012
- Oyoo, G. O., & Mody, G. M. (2007). Report on the Fifth African League Against Rheumatism Congress in Nairobi, Kenya. *Clin Rheumatol*, 26(7), 1033-1035. doi: 10.1007/s10067-007-0620-3
- Parikh, S. V., Almaani, S., Brodsky, S., & Rovin, B. H. (2020). Update on Lupus Nephritis: Core Curriculum 2020. *Am J Kidney Dis*, 76(2), 265-281. doi: 10.1053/j.ajkd.2019.10.017
- Parks, C. G., de Souza Espindola Santos, A., Barbhaiya, M., & Costenbader, K. H. (2017). Understanding the role of environmental factors in the development of systemic lupus erythematosus. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 31(3), 306-320. doi: 10.1016/j.berh.2017.09.005
- Pelaez-Ballestas, I., Sanin, L. H., Moreno-Montoya, J., Alvarez-Nemegyei, J., Burgos-Vargas, R., Garza-Elizondo, M., . . . Grupo de Estudio Epidemiológico de Enfermedades Musculo, A. (2011). Epidemiology of the rheumatic diseases in Mexico. A study of 5 regions based on the COPCORD methodology. *J Rheumatol Suppl*, 86, 3-8. doi: 10.3899/jrheum.100951
- Peredo Guzman, N. S., Lazo Villarte, L. A., & Lopez Flores, K. N. (2006). Estudio de las características clínicas y epidemiológicas del lupus eritematoso sistémico en el hospital clínico viedma y caja nacional de salud entre el periodo de 2000 - 2004. *Revista Científica Ciencia Médica*, 9(1).
- Pérez, W., Peñaranda, A., Flores, R., Guzmán y Yuri Flores, R., & Saravia, M. D. (2014, 2014/5/13 2023/6/14). En La Paz se detectan cada año a 130 personas con lupus - La Razón. Retrieved 2023/6/14, from <https://www.la-razon.com/sociedad/2014/05/13/en-la-paz-se-detectan-cada-ano-a-130-personas-con-lupus/>
- Petri, M., Orbai, A. M., Alarcon, G. S., Gordon, C., Merrill, J. T., Fortin, P. R., . . . Magder, L. S. (2012). Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*, 64(8), 2677-2686. doi: 10.1002/art.34473
- Pfaffl, M. W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res*, 29(9), e45.
- Pickering, M. C., & Botto, M. (2010). Are anti-C1q antibodies different from other SLE autoantibodies? *Nature Reviews Rheumatology*, 6(8), 490-493. doi: 10.1038/nrrheum.2010.56
- Pieterse, E., & van der Vlag, J. (2014). Breaking immunological tolerance in systemic lupus erythematosus. *Front Immunol*, 5, 164. doi: 10.3389/fimmu.2014.00164
- Pisetsky, D. S., & Lipsky, P. E. (2020). New insights into the role of antinuclear antibodies in systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Rheumatol*, 16(10), 565-579. doi: 10.1038/s41584-020-0480-7
- Pons-Estel, G. J., Catoggio, L. J., Cardiel, M. H., Bonfa, E., Caeiro, F., Sato, E., . . . Gladel. (2015). Lupus in Latin-American patients: lessons from the GLADEL cohort. *Lupus*, 24(6), 536-545. doi: 10.1177/0961203314567753

- Rees, F., Doherty, M., Grainge, M., Davenport, G., Lanyon, P., & Zhang, W. (2016). The incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus in the UK, 1999-2012. *Ann Rheum Dis*, 75(1), 136-141. doi: 10.1136/annrheumdis-2014-206334
- Reidy, K., & Tufro, A. (2011). Semaphorins in kidney development and disease: modulators of ureteric bud branching, vascular morphogenesis, and podocyte-endothelial crosstalk. *Pediatr Nephrol*, 26(9), 1407-1412. doi: 10.1007/s00467-011-1769-1
- Reidy, K. J., Aggarwal, P. K., Jimenez, J. J., Thomas, D. B., Veron, D., & Tufro, A. (2013). Excess podocyte semaphorin-3A leads to glomerular disease involving plexinA1-nephrin interaction. *Am J Pathol*, 183(4), 1156-1168. doi: 10.1016/j.ajpath.2013.06.022
- Reumatólogos de Santa Cruz tuvieron un conversatorio con pacientes que sufren de Lupus. (10 de mayo de 2019). *Notisalud Bolivia*.
- Reyes-Llerena, G. A., Guibert-Toledano, M., Penedo-Coello, A., Perez-Rodriguez, A., Baez-Duenas, R. M., Charnicharo-Vidal, R., & Cardiel, M. H. (2009). Community-based study to estimate prevalence and burden of illness of rheumatic diseases in Cuba: a COPCORD study. *J Clin Rheumatol*, 15(2), 51-55. doi: 10.1097/RHU.0b013e31819b61cb
- Rivera F, R. A., Villabón P, Patricia Escudero, Anaya S, González-López LM, Rivera I, Vozmediano C. (2020). Lupus Eritematoso Sistémico. Nefropatía Lúpica. *Lorenzo V, López Gómez JM. Nefrología al Día*. .
- Ruiz-Irastorza G, E. G., Frutos MA. (2012). Diagnóstico y tratamiento de la nefritis lúpica. *Documento de consenso del Grupos de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas de la Sociedad Española de Medicina Interna y de la Sociedad Española de Nefrología, Nefrología (Supl 1)*, 1-35.
- Ruiz Irastorza, G., Espinosa, G., Frutos, M. A., Jiménez Alonso, J., Praga, M., Pallarés, L., . . . Quereda, C. (2012). Diagnóstico y tratamiento de la nefritis lúpica: Documento de consenso del Grupo de Enfermedades Autoinmunes Sistémicas (GEAS) de la Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI) y de la Sociedad Española de Nefrología (S.E.N.). *Nefrología (Madrid)*, 32, 1-35.
- Scolnik, M., Marin, J., Valeiras, S. M., Marchese, M. F., Talani, A. S., Avellaneda, N. L., . . . Soriano, E. R. (2014). Incidence and prevalence of lupus in Buenos Aires, Argentina: a 11-year health management organisation-based study. *Lupus Sci Med*, 1(1), e000021. doi: 10.1136/lupus-2014-000021
- Schwanhäusser, B., Busse, D., Li, N., Dittmar, G., Schuchhardt, J., Wolf, J., . . . Selbach, M. (2011). Global quantification of mammalian gene expression control. *Nature*, 473(7347), 337-342. doi: 10.1038/nature10098
- Senna, E. R., De Barros, A. L., Silva, E. O., Costa, I. F., Pereira, L. V., Ciconelli, R. M., & Ferraz, M. B. (2004). Prevalence of rheumatic diseases in Brazil: a study using the COPCORD approach. *J Rheumatol*, 31(3), 594-597.
- Seoane-Mato, D., Sanchez-Piedra, C., Silva-Fernandez, L., Sivera, F., Blanco, F. J., Perez Ruiz, F., . . . Bustabad, S. (2019). Prevalence of rheumatic diseases in adult population in Spain (EPISER 2016 study): Aims and methodology. *Reumatol Clin*, 15(2), 90-96. doi: 10.1016/j.reuma.2017.06.009
- Seshan, S. V., & Jennette, J. C. (2009). Renal disease in systemic lupus erythematosus with emphasis on classification of lupus glomerulonephritis: advances and implications. *Arch Pathol Lab Med*, 133(2), 233-248. doi: 10.1043/1543-2165-133.2.233
- Smith, E. M. D., Lythgoe, H., Midgley, A., Beresford, M. W., & Hedrich, C. M. (2019). Juvenile-onset systemic lupus erythematosus: Update on clinical presentation,

- pathophysiology and treatment options. *Clin Immunol*, 209, 108274. doi: 10.1016/j.clim.2019.108274
- Somers, E. C., Marder, W., Cagnoli, P., Lewis, E. E., DeGuire, P., Gordon, C., . . . McCune, W. J. (2014). Population-based incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus: the Michigan Lupus Epidemiology and Surveillance program. *Arthritis Rheumatol*, 66(2), 369-378. doi: 10.1002/art.38238
- Sui, M., Jia, X., Yu, C., Guo, X., Liu, X., Ji, Y., . . . Xie, R. (2014). Clinical immunology Relationship between hypoalbuminemia, hyperlipidemia and renal severity in patients with lupus nephritis: a prospective study. *Central European Journal of Immunology*, 39(2), 243-252. doi: 10.5114/ceji.2014.43730
- Tamay de Dios, L., Ibarra, C., & Velasquillo, C. (2013). Fundamentos de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y de la PCR en tiempo real. *Investigación en discapacidad*, 2(2), 70-78.
- Tapia, R., Guan, F., Gershin, I., Teichman, J., Villegas, G., & Tufro, A. (2008). Semaphorin3a disrupts podocyte foot processes causing acute proteinuria. *Kidney Int*, 73(6), 733-740. doi: 10.1038/sj.ki.5002726
- Tektonidou, M. G., Dasgupta, A., & Ward, M. M. (2016). Risk of End-Stage Renal Disease in Patients With Lupus Nephritis, 1971-2015: A Systematic Review and Bayesian Meta-Analysis. *Arthritis Rheumatol*, 68(6), 1432-1441. doi: 10.1002/art.39594
- Tektonidou, M. G., Lewandowski, L. B., Hu, J., Dasgupta, A., & Ward, M. M. (2017). Survival in adults and children with systemic lupus erythematosus: a systematic review and Bayesian meta-analysis of studies from 1950 to 2016. *Ann Rheum Dis*, 76(12), 2009-2016. doi: 10.1136/annrheumdis-2017-211663
- Tony EAE, M. H., Fathi N, Tony AA, Afifi O, et al. (2016). Serum and Urinary Biomarkers Endothelin-1, Beta-2 Microglobulin, Cystatin C, Galectin-3 and Alpha-1-acid Glycoprotein; Can they Surrogate Clinical and Histological Staging in Lupus Nephritis Patients? *J Arthritis* 5:223. doi: 10.4172/2167-7921.1000223
- Torres-Salido, M. T., Sanchis, M., Solé, C., Moliné, T., Vidal, M., Vidal, X., . . . Cortés-Hernández, J. (2019). Urinary Neuropilin-1: A Predictive Biomarker for Renal Outcome in Lupus Nephritis. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(18), 4601.
- Tripathy, R., Panda, A. K., & Das, B. K. (2014). Serum ferritin level correlates with SLEDAI scores and renal involvement in SLE. *Lupus*, 24(1), 82-89. doi: 10.1177/0961203314552290
- Tsokos, G. C. (2020). Autoimmunity and organ damage in systemic lupus erythematosus. *Nat Immunol*, 21(6), 605-614. doi: 10.1038/s41590-020-0677-6
- Tsokos, G. C., Lo, M. S., Costa Reis, P., & Sullivan, K. E. (2016). New insights into the immunopathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Rheumatol*, 12(12), 716-730. doi: 10.1038/nrrheum.2016.186
- Ugarte-Gil, M. F., Gonzalez, L. A., & Alarcon, G. S. (2019). Lupus: the new epidemic. *Lupus*, 28(9), 1031-1050. doi: 10.1177/0961203319860907
- Vadasz, Z., Ben-Izhak, O., Bejar, J., Sabo, E., Kessel, A., Storch, S., & Toubi, E. (2011). The involvement of immune semaphorins and neuropilin-1 in lupus nephritis. *Lupus*, 20(14), 1466-1473.
- Vadasz, Z., & Toubi, E. (2012). Semaphorin 3A—a marker for disease activity and a potential putative disease-modifying treatment in systemic lupus erythematosus. *Lupus*, 21(12), 1266-1270.

- Viazzi, F., Ramesh, G., Jayakumar, C., Leoncini, G., Garneri, D., & Pontremoli, R. (2015). Increased urine semaphorin-3A is associated with renal damage in hypertensive patients with chronic kidney disease: a nested case-control study. *Journal of Nephrology*, 28(3), 315-320. doi: 10.1007/s40620-014-0097-5
- Wakabayashi, K., Inokuma, S., Matsubara, E., Onishi, K., Asashima, H., Nakachi, S., & Hagiwara, K. (2013). Serum β 2-microglobulin level is a useful indicator of disease activity and hemophagocytic syndrome complication in systemic lupus erythematosus and adult-onset Still's disease. *Clinical rheumatology*, 32(7), 999-1005.
- Wang, G., & Szeto, C.-C. (2007). Quantification of gene expression in urinary sediment for the study of renal diseases. *Nephrology*, 12(5), 494-499. doi: <https://doi.org/10.1111/j.1440-1797.2007.00836.x>
- Ward, M. M. (2010). Access to care and the incidence of endstage renal disease due to systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol*, 37(6), 1158-1163. doi: 10.3899/jrheum.091199
- Weening, J. J., D'Agati, V. D., Schwartz, M. M., Seshan, S. V., Alpers, C. E., Appel, G. B., . . . Nagata, M. (2004). The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol*, 15(2), 241-250.
- Xia, J., & Worzfeld, T. (2016). Semaphorins and Plexins in Kidney Disease. *Nephron*, 132(2), 93-100. doi: 10.1159/000443645
- Yung, S., & Chan, T. M. (2012). Autoantibodies and resident renal cells in the pathogenesis of lupus nephritis: getting to know the unknown. *Clinical & developmental immunology*, 2012, 139365-139365. doi: 10.1155/2012/139365
- Zeraati, A. A., Shariati, Z., Masinaee, M., Azarfar, A., Samadi, K., Moradi, E., . . . Zeraati, D. (2022). Correlation of systemic lupus erythematosus disease activity (SLEDAI) with serum level of albumin in lupus patients. *Immunopathol Persa*. doi: 10.34172/ipp.2022.24255

ANEXOS I



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN DE LA UMSA
CEI - UMSA

Resolución Honorable Consejo Universitario No. 125/10



CERTIFICADO DE AVAL ÉTICO

Código de Registro: CEI-UMSA0416

A quien corresponda,

El Comité de Ética de la Investigación de la Universidad Mayor de San Andrés (CEI-UMSA), en el marco de la VI Convocatoria para Proyectos financiados con recursos del IDH 2015-2016 (Res. HCU No. 393/2014), ha recibido para su evaluación y aval ético el Proyecto:

Título del Proyecto: 'Evaluación del valor diagnóstico de los marcadores serológicos y urinarios destinados a predecir la exacerbación de Lupus Eritematoso Sistémico y Nefropatía Lúpica'

Coordinador responsable: Luis Fernando Sosa Torducá

Co-coordinador responsable: María de Los Ángeles Terán de Baudoin

Institución proponente: Instituto SELADIS, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Bioquímicas

El proyecto fue evaluado bajo la normativa internacional en ética de la investigación (Pautas CIOMS/OMS; Helsinki/AMM, Ezekiel Emanuel), en la que se incluyen los principios y criterios éticos que se deben tomar en cuenta para investigaciones que involucran seres vivos, según aplique:

Validez social (la pertinencia, atinencia y relevancia del proyecto)

Validez científica (que el proyecto cumple con todo el rigor de la metodología científica)

Selección equitativa del sujeto (tamaño de la muestra, criterios de inclusión / exclusión, participación de grupos vulnerables etc.)

Relación favorable del riesgo/beneficio (que el riesgo sea mínimo y el beneficio mayor para los sujetos del estudio)

Hoja de información y Consentimiento informado (documentos redactados de manera clara y comprensible que reflejen respeto a la autonomía de los participantes en una investigación)

Respeto a los sujetos participantes (respeto a su privacidad y confidencialidad, derecho a conocer los resultados de la investigación y saber que puede retirarse cuando así lo decida sin ningún tipo de sanción o represalia)

Una vez evaluado el Proyecto, así como las correcciones/complementaciones realizadas por el equipo investigador, el CEI-UMSA certifica que el proyecto 'Evaluación del valor diagnóstico de los marcadores serológicos y urinarios destinados a predecir la exacerbación de Lupus Eritematoso Sistémico y Nefropatía Lúpica' cumple con los requisitos éticos arriba mencionados, por lo que le otorga el presente **CERTIFICADO DE AVAL ÉTICO**.

La emisión de este AVAL es válida solo para este proyecto y **obliga al equipo de investigadores**, al fiel cumplimiento y compromiso de desarrollo de actividades, en el marco de lo propuesto, corregido y recomendado; lo contrario, podría dar lugar a la revocación de este AVAL.


Dra. Katty Terrazas Aranda, M.Sc., Ph.D.
Coordinador Comité de Ética de la Investigación
UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS




Dr. Alberto Quevedo Iriarte, Ph.D.
VICERRECTOR
Presidente Comité de Ética de la Investigación
UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS



La Paz, Marzo de 2016
Cc/ Coordinación del Proyecto, DIPGIS, CEI-UMSA

Av. Villazón N° 195, Monoblock, Piso 1 Telf. (591-2) 2440493
e-mail: cei@umsa.bo - La Paz - Bolivia

B. HOJA DE INFORMACIÓN AL SUJETO DE INVESTIGACIÓN O PARTICIPANTE MAYOR DE EDAD
(El formulario debe ser aplicado en estudios del área de salud, socioeconómico y medioambiente)

Deberá ser elaborada en lenguaje claro y sencillo. No deberán utilizarse términos técnicos. Deben tomarse en cuenta los aspectos culturales y lingüísticos, el nivel de escolaridad de la población a ser estudiada y sus niveles variables de manejo de la lecto-escritura. Este documento debe ser redactado en tercera persona.

EVALUACIÓN DEL VALOR DIAGNÓSTICO DE LOS MARCADORES SEROLÓGICOS Y URINARIOS DESTINADOS A PREDECIR LA EXACERBACIÓN DE LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO Y NEFROPATÍA LÚPICA

Estimado Señor(a), su médico le ha diagnosticado Lupus Eritematoso Sistémico. El lupus Eritematoso Sistémico es una enfermedad bastante complicada, de causa aún desconocida. De 10 personas con esta enfermedad, 9 personas son mujeres, esta probablemente relacionado con hormonas femeninas, pero también es posible el efecto protector de hormonas masculinas. Se sabe algunas cosas a las que las personas pueden ser susceptibles como exponerse al sol, el uso de algunos medicamentos, problemas causados por algunos tipos de virus como los que provocan ampollas que aparecen en la boca y que conocemos como el "beso de araña", también se sabe que puede haber una transmisión por herencia (como sucede con el color de cabellos o de ojos) para que se produzca la enfermedad que usted tiene. También se sabe que lupus es una enfermedad que aparece u luego desaparece en el transcurso de la vida; cada vez que aparezca o se reactive alguno de sus órganos puede resultar afectado especialmente el riñón, lo cual puede agravar su salud. Para evitar que esto suceda, usted deberá realizar periódicamente y según instrucción de su médico el seguimiento mediante pruebas de laboratorio en especial la llamada anti ds-DNA. En este proyecto a través de exámenes de laboratorio deseamos estudiar en una muestra de sangre algunos elementos que permiten predecir en que momento su enfermedad se reactivará o en qué momento su riñón empezará a ser afectado, esto le permitirá a su médico atenderle de manera pronta revertiendo cualquier daño que usted pueda sufrir. Este tipo de estudios ya se ha hecho en otros países con individuos de otras razas; en La Paz será la primera vez que se hagan estos estudios.

Si usted acepta participar en el estudio y su médico tratante está de acuerdo, un médico de nuestro grupo le hará algunas preguntas sobre su estado de salud y lo examinará. Luego le tomaremos una muestra de sangre, en una cantidad parecida a dos cucharas de sopa. Para ello utilizaremos jeringa y aguja nuevas para pinchar en su brazo y obtener la muestra de sangre, que será analizada en nuestro laboratorio. Esta prueba puede causarle algunas molestias como un dolor pasajero en el momento que hagamos el pinchazo. Algunas veces puede aparecer un pequeño moretón en el lugar del pinchazo, si a usted le pasa eso, por favor comuníquese inmediatamente con nosotros para recibir instrucciones o la indicación de algún tratamiento que nosotros le daremos sin costo alguno.

Usted podrá recoger los resultados de sus exámenes en la oficina del laboratorio de Histocompatibilidad e Inmunogenética del Instituto SELADIS entre los cuatro y siete días después de habérsele tomado la muestra de sangre, para ello deberá buscar al Dr. Fernando Sosa. El examen clínico y la toma de muestra le tomarán aproximadamente 10 minutos de su tiempo. El sobrante de su sangre que usaremos para las pruebas de laboratorio será congelado y será utilizada dentro de unos años para hacer otros estudios que nos puedan ayudar a tener una mejor información sobre el lupus.

Beneficios y riesgos

Tiene como beneficio el realizar un mejor diagnóstico del momento en que su enfermedad se reactivará permitiendo que su médico le ayude de mejor manera. Los estudios que les vamos a realizar no tienen ningún costo para usted, tampoco recibirá compensación económica

alguna por su participación. El riesgo es únicamente al que cualquier persona que se hace pruebas de laboratorio está expuesta.

Gracias a la información que obtendremos en este estudio, los médicos especialistas que tratan el lupus eritematoso sistémico más información acerca de lo que sucede en un paciente, permitiéndole controlar tempranamente el proceso de reactivación del lupus. Por lo tanto, muchos pacientes lúpicos tendrán una mejor calidad de vida y en ellos la probabilidad de daño crónico de algún órgano será menor.

Confidencialidad

Solo su médico tratante, los investigadores y colaboradores del estudio, sabrán que usted está participando. Los registros que se hagan, se harán identificándolo solo con un número y no con su nombre; sin embargo, los médicos y bioquímicos que formamos parte de esta investigación podremos revisar de vez en cuando sus registros como parte de la actividad del proyecto. Si los resultados fuesen publicados, en ningún momento usted será identificado por su nombre o apellido.

Usted entiende que su participación en el estudio es **VOLUNTARIA**. En cualquier momento usted puede retirar su consentimiento a participar en el estudio. Su médico tratante o el médico responsable del presente proyecto, podrán detener el estudio por razones médicas u otras. Los responsables del proyecto estarán disponibles para responder a cualquier pregunta adicional.

Compensación

A usted no se le cobrarán las consultas ni exámenes de laboratorio necesarios para la realización del estudio

Personas a contactar

Si tiene cualquier pregunta, o en caso de algún efecto adverso por la toma de muestra sanguínea, por favor hable con los responsables del estudio: Dr. Luis Fernando Sosa Tordoya al celular 70592562, al Instituto SELADIS 2612448; Dra. María de los Ángeles Terán de Baudoin al celular 70142282, UNIMED av. Arce 2630, teléfono 2431133.

Dr. Lis Fernando Sosa Tordoya
Investigador Principal del Proyecto

C. CONSENTIMIENTO INFORMADO

UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICAS
INSTITUTO DE SERVICIOS DE LABORATORIO DE DIAGNÓSTICO E INVESTIGACIÓN EN SALUD
PROYECTO: EVALUACIÓN DEL VALOR DIAGNÓSTICO DE LOS MARCADORES SEROLÓGICOS Y URINARIOS
DESTINADOS A PREDECIR LA EXACERBACIÓN DE LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO Y NEFROPATÍA LÚPICA

Investigador principal:
Dr. Luis Fernando Sosa Tordoya

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA MAYORES DE EDAD

Yo....., deaños de edad y con C.I..... expedido en, manifiesto que he sido informado por el Dr. Fernando Sosa, sobre todos los objetivos y alcances del proyecto de investigación "Evaluación del valor diagnóstico de los marcadores serológicos y urinarios destinados a predecir la exacerbación del Lupus Eritematoso Sistémico y nefropatía lúpica", que tiene como fin identificar y evaluar marcadores en la sangre que indicaran con anticipación en que momento la enfermedad se reactivará o mis riñones empezarán a ser afectados, permitiendo de que mi médico me atienda de manera pronta para que estas situaciones sean controladas o detenidas.

He sido informado de los posibles riesgos de la toma o extracción de sangre, así mismo que me harán conocer los resultados de las pruebas realizadas con mi muestra de sangre.

He sido informado de que por mi participación no recibiré pago o remuneración económica alguna y que tampoco debo pagar por las pruebas que se me realizará.

He sido también informado de que mis datos personales serán manejados confidencialmente y estarán protegidos según las normas vigentes de Bioética. Que mi participación en el proyecto es VOLUNTARIA y que en cualquier momento, puedo retirar mi consentimiento a seguir participando del mismo, sin que mi tratamiento médico posterior se vea afectado.

Declaro haber recibido información suficiente y que tengo la libertad de hacer todas las preguntas necesarias para aclarar mis dudas acerca del estudio y de mi participación en el proyecto. Finalmente he sido informado que durante mi participación en el estudio en caso de tener quejas o más preguntas, estas serán atendidas por los investigadores principales del proyecto (Dr. Fernando Sosa o Dra. María de los Ángeles Terán).

Por lo tanto, OTORGO mi CONSENTIMIENTO a participar en este proyecto.

NOMBRES Y APELLIDOS.....C.I.....
DIRECCIÓN:

FECHA: FIRMA.....

RESPONSABLE DE LA OBTENCIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO:

NOMBRES Y APELLIDOS.....C.I.....

FIRMA:

Proyecto "EVALUACIÓN DEL VALOR DIAGNÓSTICO DE LOS MARCADORES SEROLÓGICOS Y URINARIOS DESTINADOS A PREDECIR LA EXACERBACIÓN DE LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO Y NEFROPATÍA LÚPICA

FICHA SE SEGUIMIENTO CLINICO

Fecha: ____ / ____ / ____

Nombres y apellidos: _____ Código: _____

C.I.: _____ Fecha nacimiento: ____ / ____ / ____ Edad actual: ____ años ; Sexo: M / F

Edad de aparición del 1er síntoma: ____ años; Fecha aproximada en la que fue diagnosticada: ____ / ____ / ____

Fecha aproximada de inicio de tratamiento: ____ / ____ / ____

Grado de instrucción:	Raza del paciente:	Región del país de donde procede	Talla: m	PA: / mmHg
No lee ni escribe ()	Mestiza () Quechua ()	Altiplano ()	Peso: kg	FC: /min
Primaria ()	Caucasica () Guaraní ()	Valle ()	IMC:	
Secundaria ()	Afroboliviana ()	Llanos ()		
Profesional ()	Aymara ()			

Tipo de LES:	Organo(s) afectado(s):	Medicación actualmente utilizada:
Leve: ()
Grave: ()

SLEDAI 2K:		(2) Rash malar nuevo
(8) Convulsiones		(2) Alopecia
(8) Psicosis	(4) Artritis	(2) Ulceras en las mucosas
(8) Síndrome Orgánico cerebral	(4) Miositis	(2) Pleuritis
(8) Alteración visual	(4) Cilindros urinarios	(2) Pericarditis
(8) Alteración pares craneales	(4) Hematuria	(2) Niveles Bajos de C3, C4 o CH50%
(8) Cefalea lúpica	(4) Proteinuria	(2) Incremento de niveles de ds-DNA
(8) Accidente cerebro vascular	(4) Piuria	(2) Fiebre
(8) Vasculitis		(2) Trombocitopenia
	Score SLEDAI =	(2) Leucopenia

Parámetros de laboratorio:		
Albumina = g/dl	25-OH vitamina D = nmo/L	Anti C1q = U/ml
Creatinina = mg/dl	ANA =	Semaforina 3A = Copias
	anti ds-DNA U/ml	MCP-1 = Copias
Hematocrito = %	C3 = mg/dl	
Eritocitos = /mm3	C4 = mg/dl	
Leucocitos = /mm3	Ferritina = ng/dl	
Plaquetas = /mm3	B2 microglobulina = ug/ml	
Basófilos = /mm3	Anticromatina = U/ml	

Responsable Médico : _____

Responsable Bioquímico: _____



UNIVERSIDAD MAYOR DE SAN ANDRÉS
 FACULTAD DE CIENCIAS FARMACÉUTICAS Y BIOQUÍMICAS
 INSTITUTO DE SERVICIOS DE LABORATORIOS DE DIAGNÓSTICO E INVESTIGACIÓN EN SALUD
 EVALUACIÓN DEL VALOR DIAGNÓSTICO DE LOS MARCADORES SEROLÓGICOS Y URINARIOS
 DESTINADOS A PREDECIR LA EXACERBACIÓN DE LUPUS ERITEMATOSO
 SISTÉMICO Y NEFROPATÍA LÚPICA

FORMULARIO DE EVALUACION DEL INDICE DE LA ACTIVIDAD DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO

APellidos y nombre:

FECHA:

Puntuación	SLEDAI	Descriptor	Definición
8		Convulsiones	De comienzo reciente. Excluir causas infecciosas, metabólicas y fármacos.
8		Psicosis	Habilidad alterada para la función diaria debido a alteración grave en la percepción de la realidad. Incluye alucinaciones, incoherencia, asociaciones ilógicas, contenido mental escaso, pensamiento ilógico, raro, desorganizado y comportamiento catatónico. Excluir I. renal y fármacos.
8		Síndrome orgánico-cerebral	Función mental alterada con falta de orientación, memoria, u otras funciones intelectuales, de comienzo rápido y manifestaciones clínicas fluctuantes. Incluye disminución del nivel de conciencia con capacidad reducida para focalizar, e inhabilidad para mantener la atención en el medio, más, al menos dos de los siguientes: alteración de la percepción, lenguaje incoherente, insomnio o mareo matutino, o actividad psicomotora aumentada o disminuida. Excluir causas infecciosas, metabólicas y fármacos.
8		Alteraciones visuales	Retinopatía lúpica. Incluye cuerpos citoides, hemorragias retinianas, exudados serosos y hemorragias en la coroides, o neuritis óptica. Excluir HTA, infección o fármacos.
8		Alteraciones Pares craneales	De reciente comienzo, motor o sensitivo.
8		Cefalea lúpica	Grave, persistente; puede ser migrañosa pero no responde a analgésicos narcóticos.
8		AVC	De reciente comienzo. Excluir arteriosclerosis.
8		Vasculitis	Ulceración, gangrena, nódulos dolorosos sensibles, infartos periungueales, hemorragias en astilla o biopsia o angiografía que confirme la vasculitis.
4		Miositis	Debilidad proximal/dolor asociado a elevación de las CPK/aldolasa o EMG sugestivo o miositis comprobada por biopsia.
4		Artritis	Más de dos articulaciones dolorosas y con signos inflamatorios.
4		Cilindros urinarios	Cilindros hemáticos o granulados.
4		Hematuria	>5 hemáties/c. Excluir litiasis, infección u otras causas.
4		Proteinuria	> 0,5 g/24 h. De reciente comienzo o aumento de la proteinuria ya conocida en más de 0,5 g/24 h.
4		Piuria	> 5 leucocitos/c. Excluir infección.
2		Exantema nuevo	Comienzo reciente o recurrente. Exantema inflamatorio.
2		Alopecia	De comienzo reciente o recurrente. Pérdida difusa o en placas.
2		Úlceras bucales	De comienzo reciente o recurrente. Úlceras bucales o nasales.
2		Pleuritis	Dolor pleurítico con roce o derrame, o engrosamiento pleural.
2		Pericarditis	Dolor pericárdico con al menos uno de los siguientes: roce, derrame, cambios electrocardiográficos o confirmación ecocardiográfica.
2		Complemento	Descenso de CH50, C3, C4 por debajo del límite inferior del laboratorio.
2		Anti DNA	> 25%. Técnica de Farr o por encima del valor habitual del laboratorio.
1		Fiebre	> 38°C. Excluir infección.
1		Trombopenia	< 100.000 plaquetas/mm ³ .
1		Leucopenia	< 3.000 células/mm ³ . Excluir fármacos.
PUNTAJUE TOTAL		<i>Nota: puntúa en la escala SLEDAI si el descriptor está presente en el día de la visita o 10 días antes.</i>	

Médico responsable:

Firma

ANEXOS II

El análisis de los datos de la pureza y el rendimiento de ARN total obtenido por el método de extracción basado en Trizol permite observar que el índice de densidad óptica de 260 nm y su relación con la absorbancia 280 nm (260/280) era superior a 2, indicando que las muestras tenían la calidad y pureza necesarias para RT-qPCR. Las reacciones de RT-qPCR que se llevaron a cabo usando el cADN dieron lugar a curvas de disociación que se caracterizaron por observarse un pico para cada uno de los genes con sus respectivas temperaturas de fusión (v. Figura 1-3).

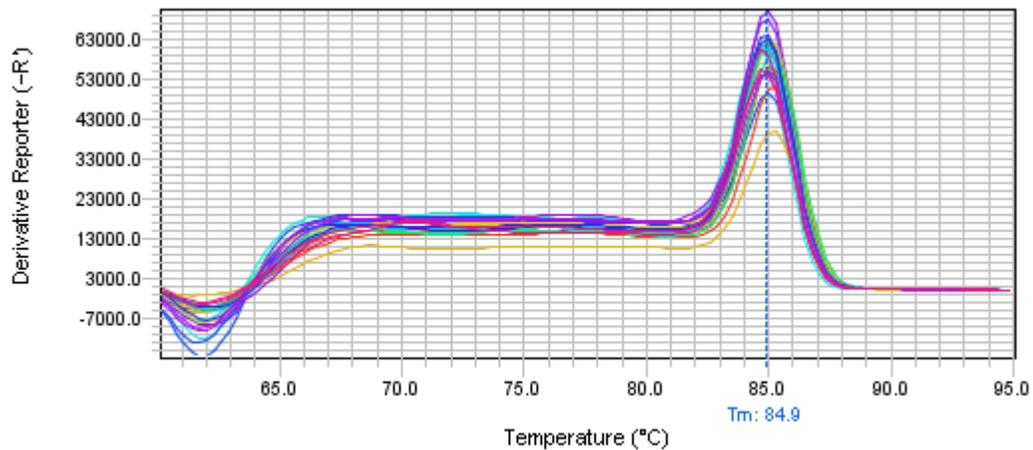


Figura 1. Curva de disociación (curva de Melting) de ADNc del gen que codifica β -Actina. Se observa la amplificación específica de un solo producto de PCR con Tm de 84,9 y ausencia de dímeros de primer o amplificaciones inespecíficas.

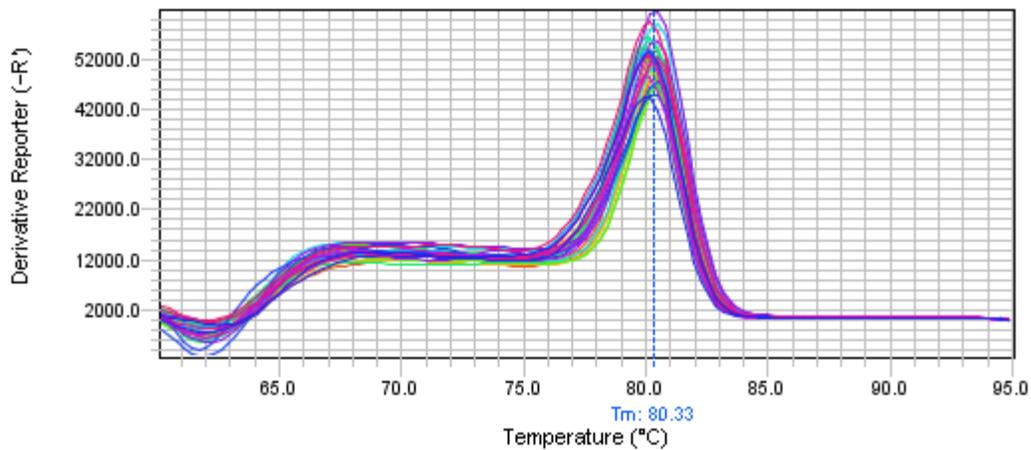


Figura 2. Curva de disociación (curva de Melting) de ADNc del gen que codifica β 2M. Se observa la amplificación específica de un solo producto de PCR con un Tm de 80,33 y la ausencia de dímeros de primer o amplificaciones inespecíficas.

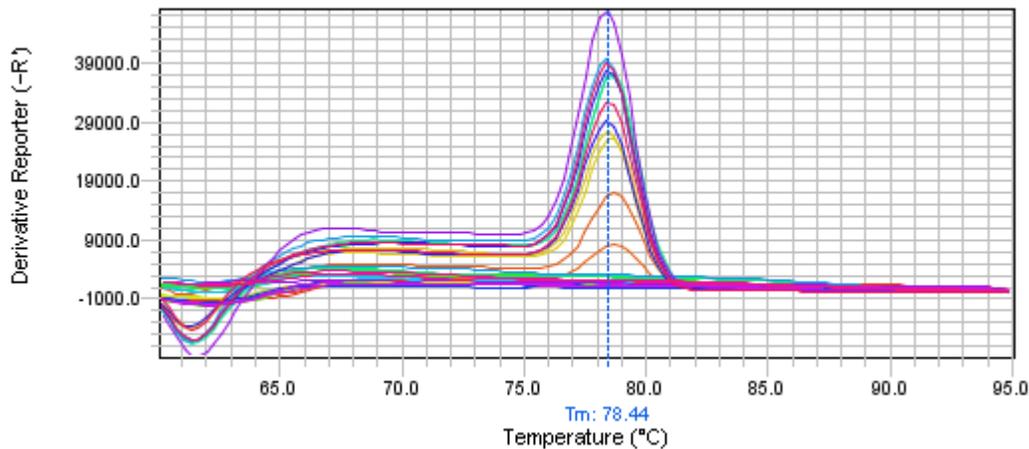


Figura 3. Curva de disociación (curva de Melting) de ADNc del gen que codifica Sema3A. Se observa la amplificación específica de un solo producto de PCR con un T_m de 78,44 y la ausencia de dímeros de primer o amplificaciones inespecíficas. Asimismo, se evidencia en línea horizontal los productos no amplificados debido a falta de expresión del gen

VALORES DE REFERENCIA DE BIOMARCADORES

- | | |
|---|---|
| <ul style="list-style-type: none"> ◦ Antinucleares (ANA) (Orgentec)
Titulo Negativo Titulos $\leq 1/80$
Titulo Positivo Titulos $\geq 1/80$ | <ul style="list-style-type: none"> ◦ 25OH Vitamina D (Accubind)
Deficiente 10-29 ng/mL
Suficiente >30 ng/mL |
| <ul style="list-style-type: none"> ◦ Anti dsDNA (Trinity)
Negativo <46.1 UI/mL
Positivo >46.2 UI/mL | <ul style="list-style-type: none"> ◦ Ferritina (Accubind)
Normal 10-124 ng/mL
Elevado >124 ng/mL |
| <ul style="list-style-type: none"> ◦ Anti C1q (Orgentec)
Negativo <10 nmol/L
Positivo >10 nmol/L | <ul style="list-style-type: none"> ◦ Creatinina
Mujeres 0,7-1,37 mg/dL |
| <ul style="list-style-type: none"> ◦ Anti Nucleosoma (Orgentec)
Negativo <20 U/mL
Positivo >20 U/mL | <ul style="list-style-type: none"> ◦ Albúmina
3,5-5,3 g/dL |
| <ul style="list-style-type: none"> ◦ Beta 2 Microglobulina (Orgentec)
Negativo <3 ug/mL
Positivo >3 ug/mL | <ul style="list-style-type: none"> ◦ C3
70-176 mg/dL |
| | <ul style="list-style-type: none"> ◦ C4
20-40 mg/dL |

ANEXOS III

Código	Edad	Sexo	ANA	Anti-C1q (nmol/L)	Anti- Nuc (U/mL)	Anti- dsDNA (UI/mL)	C3 (mg/dL)	C4 (mg/dL)	25 OH Vit-D (ng/mL)	Ferritina (ng/mL)	Creatinina (mg/dL)	Albúmina (mg/dL)	B2M sérica (ug/mL)	B2M Orina (ug/mL)
NLP-09.01	32	F	CIT, G 1/160; PI 1/80	1,1	28,1	102,2	116,5	25,6	29,2	8,2	0,7	4,2	1,9	S/V
NLP-13.01	65	F	P,G,CENT 1/160	3,3	17,0	65,4	118,8	30,4	2,0	12,3	1,0	4,0	1,3	S/V
NLP-15.02	31	F	GG1/160	6,4	67,5	54,5	95,3	20,2	18,5	52,5	2,0	2,6	4,5	S/V
NLP-17.01	55	F	D+ 1/160	3,1	18,6	963,9	93,5	20,6	21,3	86,3	S/V	S/V	1,9	S/V
NLP-19.02	49	F	G, CIT, 1/160	4,8	24,5	655,5	134,2	20,4	44,9	13,6	1,0	5,1	2,4	1,8
NLP-23.04	24	F	GF 1/80	6,2	17,8	74,3	77,3	14,7	8,9	6,9	0,7	4,1	1,6	S/V
NLP-27.02	56	F	CIT 1/80	3,1	25,2	56,1	S/V	S/V	40,0	35,4	1,2	4,3	2,6	S/V
NLP-34.03	27	F	GG 1/160	6,3	205,5	885,7	77,4	9,2	13,7	12,4	0,9	4,2	3,0	S/V
NLP-38.01	27	F	CIT, N 1/160	5,7	267,2	478,7	76,6	17,6	17,7	26,0	0,8	4,3	1,4	S/V
NLP-48.01	57	F	CIT (AC-21) 1/160	7,6	135,2	537,7	79,0	3,5	33,1	44,2	0,8	S/V	7,4	S/V
NLP-50.01	38	F	CIT, G 1/80	4,9	43,5	129,6	85,1	10,9	46,3	6,8	0,7	4,6	1,3	1,9
NLP-53.01	36	F	P, D, CIT 1/80	5,8	49,0	323,1	62,7	3,5	139,4	35,5	0,8	3,7	1,3	1,0
NLP-118.01	16	F	NH1/160	2,9	20,5	72,6	S/V	S/V	S/V	S/V	S/V	S/V	6,1	S/V
NLP-02.01	28	F	Cent 1/80	1,4	19,0	22,7	152,0	22,5	17,6	10,1	0,8	4,3	1,3	1,1
NLP-06.01	29	F	GF 1/80	2,1	19,5	31,4	96,8	14,0	21,1	8,2	1,1	4,3	2,8	1,0
NLP-10.01	30	F	G 1/160; C,PI 1/80	1,6	17,7	35,3	140,2	30,6	25,8	6,1	1,0	4,7	1,0	S/V
NLP-11.01	46	F	G 1/80	1,5	17,8	34,4	138,2	13,5	29,4	28,6	0,7	4,8	1,3	1,7
NLP-12.01	55	F	G 1/160 GNM AC-61/80	2,3	17,8	47,0	82,7	43,0	42,2	73,9	0,7	4,5	2,3	1,2
NLP-14.05	48	F	CENT 1/160; G 1/80	2,8	20,3	32,2	114,2	39,9	30,0	20,2	S/V	S/V	1,5	1,0
NLP-16.06	43	F	G 1/80	8,4	2,4	44,6	121,0	16,8	55,8	13,4	1,2	4,7	1,6	1,9
NLP-43.01	37	F	GG 1/80	1,0	33,5	24,3	112,5	23,6	8,8	4,2	1,0	4,3	1,6	S/V
NLP-49.03	29	F	G 1/160	3,7	32,8	26,9	S/V	S/V	221,4	12,5	0,8	S/V	2,8	1,4
NLP-01.01	35	F	G 1/160, P 1/80	1,6	310,7	136,4	100,3	15,3	17,6	24,1	1,1	3,5	2,4	3,5
NLP-03.02	43	F	P,D 1/160	3,0	174,7	368,1	92,9	18,3	11,7	29,7	1,0	3,3	3,0	1,6
NLP-04.02	44	F	P,D, 1/160 CIT 1/40	54,2	285,0	1600,4	114,0	21,0	54,5	23,1	1,1	4,7	1,9	1,0
NLP-18.01	19	F	N 1/160	33,0	1559,5	5774,5	57,2	3,6	22,5	16,8	0,7	4,5	3,4	5,9
NLP-20.04	23	F	D 1/160	65,7	295,9	5777,9	35,7	4,4	7,7	S/V	1,1	2,0	4,8	S/V
NLP-24.03	29	F	GG, PCNA 1/160	7,6	1559,5	401,6	55,1	3,4	22,1	47,0	0,8	4,0	1,8	S/V
NLP-25.02	24	F	G 1/160; CIT 1/80	28,1	1559,5	125,2	77,4	13,0	33,6	17,0	1,0	3,2	2,5	1,0

Código	Edad	Sexo	ANA	Anti-C1q (nmol/L)	Anti-Nuc (U/mL)	Anti-dsDNA (UI/mL)	C3 (mg/dL)	C4 (mg/dL)	25 OH Vit-D (ng/mL)	Ferritina (ng/mL)	Creatinina (mg/dL)	Albúmina (mg/dL)	B2M sérica (ug/mL)	B2M Orina (ug/mL)
NLP-26.02	31	F	GG 1/160	27,5	144,5	55,0	68,0	19,0	21,9	52,5	1,9	2,2	4,5	S/V
NLP-28.01	29	F	G 1/160	4,9	167,8	271,9	108,4	10,9	30,2	20,1	S/V	S/V	2,9	S/V
NLP-30.02	27	F	P,D 1/160; AG 1/40	13,7	1559,5	10149,7	74,9	4,5	35,1	28,8	0,8	3,4	4,9	S/V
NLP-35.01	34	F	GG 1/160	10,7	79,0	171,9	63,0	10,4	21,2	2,9	0,8	3,7	3,0	S/V
NLP-36.01	59	F	Cent, GF 1/80	45,6	48,0	70,8	102,2	15,4	22,4	25,6	0,7	3,9	3,4	S/V
NLP-41.02	23	F	D 1/160	10,2	1559,5	16195,8	78,4	13,1	32,2	6,4	1,2	3,1	5,4	S/V
NLP-42.01	27	F	CIT (AC-21) 1/160	13,9	1559,5	174,7	30,6	3,5	7,7	22,8	1	2,2	3,6	S/V
NLP-44.01	58	F	Cit 1/160	2,8	304,9	875,0	69,6	16,7	24,9	34,6	2,5	4,5	10,1	S/V
NLP-46.01	22	F	PD(+) 1/160	10,6	1559,5	448,0	132,8	19,4	3,0	108,0	0,9	3,3	3,8	S/V
NLP-52.01	39	F	CIT 1/160	40,4	76,2	172,9	61,4	6,7	174,4	12,4	0,8	2,8	3,4	5,2
NLP-56.01	18	F	D1/160; PD1/160	6,6	792,7	2783,2	S/V	S/V	4,2	S/V	7,6	2	7,1	S/V
NLP-57.01	51	F	D1/160	2,7	804,3	416,3	S/V	S/V	4,8	S/V	1,5	2,2	5,6	S/V
NLP-05.03	38	F	G 1/80	1,6	389,5	24,4	142,3	32,4	13,6	47,3	1,0	3,1	1,3	1,0
NLP-07.01	26	F	P,D 1/160	19,2	237,5	30,8	117,7	16,7	20,2	24,6	0,8	4,2	2,6	1,4
NLP-45.01	38	F	GG 1/160; PCNA 1/80	3,9	729,9	30,6	S/V	S/V	32,4	17,8	0,8	4,0	4,7	S/V
C-1	32	F	G, CENT 1/40	2,2	19,2	25,8	S/V	S/V	47,1	9,4	S/V	S/V	1,7	S/V
C-13	51	F	G, D 1/80	8,8	13,2	29,5	S/V	S/V	33,4	19,2	S/V	S/V	2,7	S/V
C-14	27	F	P,D 1/40	6,4	13	26	S/V	S/V	31,5	9,8	S/V	S/V	1,4	S/V
C-15	29	F	CIT 1/80; CENT 1/40	2,6	17,7	25,8	S/V	S/V	21,5	9,1	S/V	S/V	1,4	S/V
C-17	24	F	G, CIT, PI 1/40	4,5	12,5	28	S/V	S/V	21,3	1,2	S/V	S/V	1,6	S/V
C-18	28	F	GF 1/80; CIT 1/40	15	15,4	34,1	S/V	S/V	25,9	53,6	S/V	S/V	1,9	S/V
C-19	23	F	CENT, G 1/40	5,7	16,4	29,1	S/V	S/V	26,4	17	S/V	S/V	2	S/V
C-21	29	F	G 1/40	16,3	18,6	31	S/V	S/V	32,3	1	S/V	S/V	1,5	S/V
C-22	35	F	GG 1/40	3,4	15,5	30,1	S/V	S/V	22,7	5,2	S/V	S/V	1,5	S/V
C-23	25	F	GF, PI 1/40	3,2	16,3	29,5	S/V	S/V	23,9	11,4	S/V	S/V	1,5	S/V
C-26	56	F	GF 1/80	4	12,1	28,4	S/V	S/V	34,4	19,2	S/V	S/V	2,8	S/V
C-27	27	F	PI 1/80; GF 1/40	8,2	13,8	29,8	S/V	S/V	27,4	21	S/V	S/V	1,6	S/V
C-29	31	F	GF 1/80	3,6	15,3	31	S/V	S/V	29,4	11	S/V	S/V	1,8	S/V
C-31	40	F	GF 1/40	2,6	9,5	27,3	S/V	S/V	37,1	15	S/V	S/V	1,6	S/V
C-35	31	F	GF 1/80	5,1	16,8	33,7	S/V	S/V	29,1	8	S/V	S/V	1,8	S/V
C-36	30	F	GF, CIT 1/40	4,5	9,1	31,3	S/V	S/V	24,6	10,4	S/V	S/V	1,8	S/V

Código	Edad	Sexo	ANA	Anti-C1q (nmol/L)	Anti- Nuc (U/mL)	Anti- dsDNA (UI/mL)	C3 (mg/dL)	C4 (mg/dL)	25 OH Vit-D (ng/mL)	Ferritina (ng/mL)	Creatinina (mg/dL)	Albúmina (mg/dL)	B2M sérica (ug/mL)	B2M Orina (ug/mL)
C-37	28	F	GF 1/40	5	13,9	26,8	S/V	S/V	30,2	17,5	S/V	S/V	1,6	S/V
C-39	62	F	CIT, N 1/80	4	14,4	39,7	S/V	S/V	31,2	34	S/V	S/V	3,7	S/V
C-40	30	F	GF 1/40	2,8	7,8	33,1	S/V	S/V	17,4	S/V	S/V	S/V	1,8	S/V
C-42	25	F	GF 1/40	2,1	16	26,8	S/V	S/V	32,8	S/V	S/V	S/V	1,9	S/V
C-44	46	F	AG, CIT 1/80	3,9	25,1	30,2	S/V	S/V	22,8	S/V	S/V	S/V	2,5	S/V
C-45	55	F	GF, CIT 1/80	4,2	20,8	27,1	S/V	S/V	18,1	S/V	S/V	S/V	2,2	S/V
C-46	48	F	GF 1/80	3,8	15,3	23,7	S/V	S/V	28,5	S/V	S/V	S/V	2,3	S/V
C-47	27	F	GF 1/40	1,8	15	23,3	S/V	S/V	20,1	S/V	S/V	S/V	1,9	S/V
C-48	23	F	GF 1/40	2,2	16,7	31,3	S/V	S/V	18,2	S/V	S/V	S/V	2,7	S/V
C-5	26	F	N 1/40	16,9	17,9	31,6	S/V	S/V	31,7	5	S/V	S/V	2,1	S/V
C-50	30	F	GF1/80	4,6	7,4	23	S/V	S/V	41,4	S/V	S/V	S/V	2,4	S/V
C-51	30	F	C1/80	2,9	7,2	33	S/V	S/V	40,4	S/V	S/V	S/V	1,8	S/V
C-52	33	F	GF1/80	3,6	12,3	28,6	S/V	S/V	29	S/V	S/V	S/V	1,6	S/V
C-53	28	F	GF1/80	2,4	12,8	26,1	S/V	S/V	47,8	S/V	S/V	S/V	1,2	S/V
C-54	31	F	GF1/80	3,3	8	25,5	S/V	S/V	23,2	S/V	S/V	S/V	1,8	S/V
C-57	26	F	GF1/80	2,8	9,7	35,1	S/V	S/V	S/V	S/V	S/V	S/V	2,2	S/V
C-58	30	F	GF1/80	3,2	11,2	29,9	S/V	S/V	S/V	S/V	S/V	S/V	1,9	S/V
C-6	20	F	G 1/80	3,8	8,4	38,3	S/V	S/V	19	2	S/V	S/V	1,5	S/V
C-60	30	F	GF 1/80	2,2	9,4	31,9	S/V	S/V	S/V	S/V	S/V	S/V	1,5	S/V
C-62	25	F	CIT1/80	2,2	9,1	24,8	S/V	S/V	S/V	S/V	S/V	S/V	1,5	S/V
C-7	33	F	CIT, G 1/80	13	15	27,8	S/V	S/V	15	31	S/V	S/V	1,7	S/V

TABLA GENERAL

Código	EDAD	Sexo	Crea	Alb	dsDNA	Ferr	C1q	B2Ms	B2M _o	Nuc	VitD	C3	C4	LES/NL	SLEDAI-2K	ACTIVIDAD	βActina	βActina	\bar{x} βActina	β2M	β2M	\bar{x} β2M	SEMA3A	SEMA3A	\bar{x} Sema3A	ΔCT β2M	ΔCT Sema3A	ΔΔCT β2M=CtLES- \bar{x} CtControl	2 ^{ΔΔCT} β2M	Log2 Fold change β2M
NLP-09.01	32	F	0,74	4,15	102,20	8,20	1,10	1,90	S/V	28,10	29,20	116,50	25,60	LES	16	LES Activo	29,95	30,28	30,1	25,71	25,43	25,6	0	0	ND	-4,5	ND	-1,2	2,32	1,215
NLP-13.01	65	F	0,98	3,96	65,40	12,30	3,30	1,30	S/V	17,00	2,00	118,80	30,40	LES	8	LES Activo	23,21	22,71	23,0	23,98	23,95	24,0	0	0	ND	1,0	ND	4,3	0,05	-4,335
NLP-15.02	31	F	1,97	2,6	54,50	52,50	6,40	4,50	S/V	67,50	18,50	95,30	20,20	LES	14	LES Activo	21,64	20,56	21,1	19,94	18,98	19,5	26,65	24,24	25,4	-1,6	4,345	1,7	0,31	-1,69
NLP-17.01	55	F	S/V	S/V	963,90	86,30	3,10	1,90	S/V	18,60	21,30	93,50	20,60	LES	10	LES Activo	31,55	31,71	31,6	29,71	29,97	29,8	0	0	ND	-1,8	ND	1,5	0,34	-1,54
NLP-19.02	49	F	0,96	5,12	655,50	13,60	4,80	2,40	1,80	24,50	44,90	134,20	20,40	LES	12	LES Activo	27,09	27,92	27,5	25,97	25,5	25,7	0	0	ND	-1,8	ND	1,6	0,34	-1,56
NLP-23.04	24	F	0,66	4,08	74,30	6,90	6,20	1,60	S/V	17,80	8,90	77,30	14,70	LES	14	LES Activo	21,47	21,28	21,4	20,75	20,9	20,8	0	0	ND	-0,6	ND	2,8	0,15	-2,78
NLP-27.02	56	F	1,15	4,32	56,10	35,40	3,10	2,60	S/V	25,20	40,00	S/V	S/V	LES	22	LES Activo	33,21	31,23	32,2	29,16	29,25	29,2	0	0	ND	-3,0	ND	0,3	0,80	-0,315
NLP-34.03	27	F	0,91	4,2	885,70	12,40	6,30	3,00	S/V	205,50	13,70	77,40	9,20	LES	8	LES Activo	31,94	31,9	31,9	30,09	29,98	30,0	0	0	ND	-1,9	ND	1,4	0,37	-1,445
NLP-38.01	27	F	0,8	4,3	478,70	26,00	5,70	1,40	S/V	267,20	17,70	76,60	17,60	LES	10	LES Activo	32,56	32,63	32,6	29,93	29,7	29,8	0	0	ND	-2,8	ND	0,5	0,68	-0,55
NLP-48.01	57	F	0,8	S/V	537,70	44,20	7,60	7,40	S/V	135,20	33,10	79,00	3,50	LES	16	LES Activo	30,16	30,27	30,2	27,00	26,92	27,0	0	0	ND	-3,3	ND	0,1	0,95	-0,075
NLP-50.01	38	F	0,72	4,6	129,60	6,80	4,90	1,30	1,90	43,50	46,30	85,10	10,90	LES	6	LES Activo	32,27	32,1	32,2	27,72	27,21	27,5	0	0	ND	-4,7	ND	-1,4	2,62	1,39
NLP-53.01	36	F	0,79	3,7	323,10	35,50	5,80	1,3	1,00	49,00	139,40	62,70	3,50	LES	16	LES Activo	26,85	26,87	26,9	27,87	27,26	27,6	0	0	ND	0,7	ND	4,0	0,06	-4,035
NLP-118.01	16	F	S/V	S/V	72,60	S/V	2,9	6,1	S/V	20,5	S/V	S/V	S/V	LES	8	LES Activo	26,41	25,88	26,1	22,66	24,17	23,4	37,2	31,96	34,6	-2,7	8,435	0,6	0,66	-0,6
NLP-02.01	28	F	0,82	4,26	22,70	10,10	1,40	1,30	1,10	19,00	17,60	152,00	22,50	LES	5	LES Inactivo	19,06	18,53	18,8	20,46	20,43	20,4	0	0	ND	1,7	ND	5,0	0,03	-4,98
NLP-06.01	29	F	1,11	4,34	31,40	8,20	2,10	2,80	1,00	19,50	21,10	96,80	14,00	LES	5	LES Inactivo	28	28,58	28,3	27,79	28,9	28,3	0	0	ND	0,1	ND	3,4	0,10	-3,385
NLP-10.01	30	F	0,95	4,69	35,30	6,10	1,60	1,00	S/V	17,70	25,80	140,20	30,60	LES	5	LES Inactivo	35,95	35,78	35,9	26,98	27,07	27,0	0	0	ND	-8,8	ND	-5,5	45,57	5,51
NLP-11.01	46	F	0,71	4,84	34,40	28,60	1,50	1,30	1,70	17,80	29,40	138,20	13,50	LES	5	LES Inactivo	25,5	25,57	25,5	24,76	24,83	24,8	0	0	ND	-0,7	ND	2,6	0,17	-2,59
NLP-12.01	55	F	0,65	4,49	47,00	73,90	2,30	2,30	1,20	17,80	42,20	82,70	43,00	LES	4	LES Inactivo	18,97	18,95	19,0	17,82	17,84	17,8	27,25	27,34	27,3	-1,1	8,335	2,2	0,22	-2,2
NLP-14.05	48	F	S/V	S/V	32,20	20,20	2,80	1,50	1,00	20,30	30,00	114,20	39,90	LES	4	LES Inactivo	34,42	35,59	35,0	30,34	30,19	30,3	0	0	ND	-4,7	ND	-1,4	2,66	1,41

Código	EDAD	Sexo	Crea	Alb	dsDNA	Ferr	C1q	B2Ms	B2M _o	Nuc	VitD	C3	C4	LES/NL	SLEDAI-2K	ACTIVIDAD	βActina	βActina	\bar{x} βActina	β2M	β2M	\bar{x} β2M	SEMA3A	SEMA3A	\bar{x} Sema3A	ΔCT β2M	ΔCT Sema3A	ΔΔCT β2M=CtLES- \bar{x} CtControl	2 ^{-ΔΔCT β2M}	Log2 Fold change β2M
NLP-16.06	43	F	1,23	4,72	44,60	13,40	8,40	1,60	1,90	2,40	55,80	121,00	16,80	LES	5	LES Inactivo	30,44	30,05	30,2	30,96	30,38	30,7	0	0	ND	0,4	ND	3,8	0,07	-3,755
NLP-43.01	37	F	1,03	4,3	24,30	4,20	1,00	1,60	S/V	33,50	8,80	112,50	23,60	LES	4	LES Inactivo	23,96	24	24,0	22,43	22,49	22,5	0	0	ND	-1,5	ND	1,8	0,29	-1,81
NLP-49.03	29	F	0,8	S/V	26,90	12,50	3,70	2,80	1,40	32,80	221,40	S/V	S/V	LES	4	LES Inactivo	29,24	32,45	30,8	29,94	29,13	29,5	0	0	ND	-1,3	ND	2,0	0,25	-2,02
NLP-01.01	35	F	1,12	3,51	136,40	24,10	1,60	2,40	3,50	310,70	17,60	100,30	15,30	NL	32	NL Activo	25,25	25,38	25,3	21,57	21,57	21,6	35,34	36,36	35,9	-3,7	10,535	-0,4	1,33	0,415
NLP-03.02	43	F	0,98	3,3	368,10	29,70	3,00	3,00	1,60	174,70	11,70	92,90	18,30	NL	6	NL Activo	30,53	30,68	30,6	30,76	30,76	30,8	0	0	ND	0,2	ND	3,5	0,09	-3,485
NLP-04.02	44	F	1,08	4,65	1600,40	23,10	54,20	1,90	1,00	285,00	54,50	114,00	21,00	NL	6	NL Activo	23,37	23,31	23,3	25,07	24,91	25,0	0	0	ND	1,7	ND	5,0	0,03	-4,98
NLP-18.01	19	F	0,72	4,46	5774,50	16,80	33,00	3,40	5,90	1559,50	22,50	57,20	3,60	NL	18	NL Activo	33,17	33,28	33,2	28,78	28,52	28,7	0	0	ND	-4,6	ND	-1,2	2,37	1,245
NLP-20.04	23	F	1,1	1,95	5777,90	S/V	65,70	4,80	S/V	295,90	7,70	35,70	4,40	NL	14	NL Activo	27,68	27,68	27,7	25,68	25,68	25,7	0	0	ND	-2,0	ND	1,3	0,40	-1,33
NLP-24.03	29	F	0,8	3,96	401,60	47,00	7,60	1,80	S/V	1559,50	22,10	55,10	3,40	NL	16	NL Activo	25,81	25,4	25,6	26,69	26,27	26,5	0	0	ND	0,9	ND	4,2	0,05	-4,205
NLP-25.02	24	F	0,95	3,17	125,20	17,00	28,10	2,50	1,00	1559,50	33,60	77,40	13,00	NL	10	NL Activo	27,77	27,59	27,7	24,31	24,19	24,3	0	0	ND	-3,4	ND	-0,1	1,07	0,1
NLP-26.02	31	F	1,88	2,2	55,00	52,50	27,50	4,50	S/V	144,50	21,90	68,00	19,00	NL	18	NL Activo	27,03	26,77	26,9	22,03	22,08	22,1	0	0	ND	-4,8	ND	-1,5	2,86	1,515
NLP-28.01	29	F	S/V	S/V	271,90	20,10	4,90	2,90	S/V	167,80	30,20	108,40	10,90	NL	24	NL Activo	30,13	30,5	30,3	26,91	26,95	26,9	0	0	ND	-3,4	ND	-0,1	1,04	0,055
NLP-30.02	27	F	0,81	3,4	10149,70	28,80	13,70	4,90	S/V	1559,50	35,10	74,90	4,50	NL	16	NL Activo	31,14	32,17	31,7	32,26	32,66	32,5	0	0	ND	0,8	ND	4,1	0,06	-4,135
NLP-35.01	34	F	0,77	3,72	171,90	2,90	10,70	3,00	S/V	79,00	21,20	63,00	10,40	NL	18	NL Activo	26,87	26,19	26,5	24,84	24,69	24,8	0	0	ND	-1,8	ND	1,6	0,34	-1,565
NLP-36.01	59	F	0,72	3,93	70,80	25,60	45,60	3,40	S/V	48,00	22,40	102,21	15,40	NL	12	NL Activo	29,28	28,9	29,1	22,48	22,56	22,5	0	0	ND	-6,6	ND	-3,2	9,45	3,24
NLP-41.02	23	F	1,22	3,1	16195,80	6,40	10,20	5,40	S/V	1559,50	32,20	78,40	13,10	NL	22	NL Activo	21,43	21,81	21,6	16,53	16,79	16,7	31,15	28,7	29,93	-5,0	8,305	-1,6	3,10	1,63
NLP-42.01	27	F	1	2,2	174,74	22,80	13,90	3,60	S/V	1559,50	7,70	30,60	3,50	NL	32	NL Activo	27,95	27,29	27,6	21,32	21,95	21,6	33,85	35,63	34,7	-6,0	7,12	-2,7	6,30	2,655
NLP-44.01	58	F	2,53	4,5	875,00	34,60	2,80	10,10	S/V	304,90	24,90	69,60	16,70	NL	10	NL Activo	25,72	25,72	25,7	24,75	24,56	24,7	0	0	ND	-1,1	ND	2,3	0,21	-2,265
NLP-46.01	22	F	0,86	3,3	448,00	108,00	10,60	3,80	S/V	1559,50	3,00	132,80	19,40	NL	8	NL Activo	22,97	23,03	23,0	18,65	18,74	18,7	0	0	ND	-4,3	ND	-1,0	1,97	0,975
NLP-52.01	39	F	0,8	2,8	172,90	12,40	40,40	3,40	5,20	76,20	174,40	61,40	6,70	NL	14	NL Activo	34,28	34,85	34,6	32,79	32,44	32,6	0	0	ND	-2,0	ND	1,4	0,38	-1,38

Código	EDAD	Sexo	Crea	Alb	dsDNA	Ferr	C1q	B2Ms	B2M _o	Nuc	VitD	C3	C4	LES/NL	SLEDAI-2K	ACTIVIDAD	βActina	βActina	\bar{x} βActina	β2M	β2M	\bar{x} β2M	SEMA3A	SEMA3A	\bar{x} Sema3A	ΔCT β2M	ΔCT Sema3A	$\frac{\Delta\Delta CT}{\bar{x}CtControl}$	2 ^{-ΔΔCT} β2M	Log2 Fold change β2M	
NLP-56.01	18	F	7,6	2	2783,20	S/V	6,60	7,10	S/V	792,70	4,20	S/V	S/V	NL	14	NL Activo	22,02	19,54	20,8	13,65	13,65	13,7	31,17	32,6	31,9	-7,1	11,105	-3,8	13,93	3,8	
NLP-57.01	51	F	1,5	2,2	416,30	S/V	2,70	5,60	S/V	804,30	4,80	S/V	S/V	NL	14	NL Activo	18,11	17,2	17,7	18,08	17,76	17,9	32,81	32,81	32,8	0,3	15,155	3,6	0,08	-	3,595
NLP-05.03	38	F	0,97	3,13	24,40	47,30	1,60	1,30	1,00	389,50	13,60	142,30	32,40	NL	5	NL Inactivo	21,95	21,66	21,8	20,03	19,89	20,0	29,72	30,41	30,1	-1,8	8,26	1,5	0,36	-	1,485
NLP-07.01	26	F	0,75	4,2	30,80	24,60	19,20	2,60	1,40	237,50	20,20	117,70	16,70	NL	4	NL Inactivo	23,97	24,08	24,0	23,16	23,06	23,1	30,24	32,78	31,5	-0,9	7,485	2,4	0,19	-	2,415
NLP-45.01	38	F	0,76	4	30,60	17,80	3,90	4,70	S/V	729,90	32,40	S/V	S/V	NL	5	NL Inactivo	19,61	19,58	19,6	16,37	16,76	16,6	29,87	31,55	30,7	-3,0	11,115	0,3	0,81	-0,3	
C-1	32	F	S/V	S/V	25,8	9,4	2,2	1,7	S/V	19,2	47,1	S/V	S/V				30,35	30,35	30,4	23,54	23,54	23,5				-6,8					
C-13	51	F	S/V	S/V	29,5	19,2	8,8	2,7	S/V	13,2	33,4	S/V	S/V				25,92	25,92	25,9	20,43	20,43	20,4				-5,5					
C-14	27	F	S/V	S/V	26	9,8	6,4	1,4	S/V	13	31,5	S/V	S/V				29,84	29,84	29,8	22,95	22,95	23,0				-6,9					
C-15	29	F	S/V	S/V	25,8	9,1	2,6	1,4	S/V	17,7	21,5	S/V	S/V				27,69	27,69	27,7	23,27	23,27	23,3				-4,4					
C-17	24	F	S/V	S/V	28	1,2	4,5	1,6	S/V	12,5	21,3	S/V	S/V				31,93	31,93	31,9	22,64	22,64	22,6				-9,3					
C-18	28	F	S/V	S/V	34,1	53,6	15	1,9	S/V	15,4	25,9	S/V	S/V				35,09	35,09	35,1	25,12	25,12	25,1				-					
C-19	23	F	S/V	S/V	29,1	17	5,7	2	S/V	16,4	26,4	S/V	S/V				22,17	22,17	22,2	21,77	21,77	21,8				-0,4					
C-21	29	F	S/V	S/V	31	1	16,3	1,5	S/V	18,6	32,3	S/V	S/V				19,61	19,61	19,6	22,82	20,99	21,9				2,3					
C-22	35	F	S/V	S/V	30,1	5,2	3,4	1,5	S/V	15,5	22,7	S/V	S/V				26,27	28,9	27,6	18,91	19,77	19,3				-8,2					
C-23	25	F	S/V	S/V	29,5	11,4	3,2	1,5	S/V	16,3	23,9	S/V	S/V				31,59	31,59	31,6	25,05	25,05	25,1				-6,5					
C-26	56	F	S/V	S/V	28,4	19,2	4	2,8	S/V	12,1	34,4	S/V	S/V				14,27	19,52	16,9	16,23	15,97	16,1				-0,8					
C-27	27	F	S/V	S/V	29,8	21	8,2	1,6	S/V	13,8	27,4	S/V	S/V				19,99	19,99	20,0	19,69	19,69	19,7				-0,3					
C-29	31	F	S/V	S/V	31	11	3,6	1,8	S/V	15,3	29,4	S/V	S/V				29,33	28,28	28,8	25,22	24,87	25,0				-3,8					
C-31	40	F	S/V	S/V	27,3	15	2,6	1,6	S/V	9,5	37,1	S/V	S/V				22,6	22,65	22,6	15,94	17,16	16,6				-6,1					
C-35	31	F	S/V	S/V	33,7	8	5,1	1,8	S/V	16,8	29,1	S/V	S/V				16,71	16,71	16,7	20,35	20,35	20,4				3,6					
C-36	30	F	S/V	S/V	31,3	10,4	4,5	1,8	S/V	9,1	24,6	S/V	S/V				26,26	26,26	26,3	19,75	19,75	19,8				-6,5					
C-37	28	F	S/V	S/V	26,8	17,5	5	1,6	S/V	13,9	30,2	S/V	S/V				23,96	23,8	23,9	22,95	22,95	23,0				-0,9					

Código	EDAD	Sexo	Crea	Alb	dsDNA	Ferr	C1q	B2Ms	B2M _o	Nuc	VitD	C3	C4	LES/NL	SLEDAI-2K	ACTIVIDAD	βActina	βActina	\bar{x} βActina	β2M	β2M	\bar{x} β2M	SEMA3A	SEMA3A	\bar{x} Sema3A	ΔCT β2M	ACT Sema3A	ΔΔCT β2M=CtLES- \bar{x} CtControl	2 ^Δ - ΔΔCT β2M	Log2 Fold change β2M	
C-39	62	F	S/V	S/V	39,7	34	4	3,7	S/V	14,4	31,2	S/V	S/V				30,64	30,64	30,6	21,42	21,42	21,4				-9,2					
C-40	30	F	S/V	S/V	33,1	S/V	2,8	1,8	S/V	7,8	17,4	S/V	S/V				22,75	22,77	22,8	23,71	23,7	23,7				0,9					
C-42	25	F	S/V	S/V	26,8	S/V	2,1	1,9	S/V	16	32,8	S/V	S/V				18,94	18,5	18,7	18,03	17,9	18,0				-0,8					
C-44	46	F	S/V	S/V	30,2	S/V	3,9	2,5	S/V	25,1	22,8	S/V	S/V				20,91	17,19	19,1	17,31	17,08	17,2				-1,9					
C-45	55	F	S/V	S/V	27,1	S/V	4,2	2,2	S/V	20,8	18,1	S/V	S/V				26,29	26,29	26,3	23,91	23,91	23,9				-2,4					
C-46	48	F	S/V	S/V	23,7	S/V	3,8	2,3	S/V	15,3	28,5	S/V	S/V				29,1	29,14	29,1	28,76	28,84	28,8				-0,3					
C-47	27	F	S/V	S/V	23,3	S/V	1,8	1,9	S/V	15	20,1	S/V	S/V				23,54	23,57	23,6	24,87	24,6	24,7				1,2					
C-48	23	F	S/V	S/V	31,3	S/V	2,2	2,7	S/V	16,7	18,2	S/V	S/V				17,81	17,69	17,8	15,96	15,54	15,8				-2,0					
C-5	26	F	S/V	S/V	31,6	5	16,9	2,1	S/V	17,9	31,7	S/V	S/V				26,01	24,3	25,2	27,54	28,34	27,9				2,8					
C-50	30	F	S/V	S/V	23	S/V	4,6	2,4	S/V	7,4	41,4	S/V	S/V				24,66	24,66	24,7	21,97	21,97	22,0				-2,7					
C-51	30	F	S/V	S/V	33	S/V	2,9	1,8	S/V	7,2	40,4	S/V	S/V				30,05	30,05	30,1	28,08	28,08	28,1				-2,0					
C-52	33	F	S/V	S/V	28,6	S/V	3,6	1,6	S/V	12,3	29	S/V	S/V				28,32	28,32	28,3	26,39	26,39	26,4				-1,9					
C-53	28	F	S/V	S/V	26,1	S/V	2,4	1,2	S/V	12,8	47,8	S/V	S/V				31,98	31,98	32,0	29,6	29,6	29,6				-2,4					
C-54	31	F	S/V	S/V	25,5	S/V	3,3	1,8	S/V	8	23,2	S/V	S/V				28,34	28,34	28,3	24,63	24,63	24,6				-3,7					
C-57	26	F	S/V	S/V	35,1	S/V	2,8	2,2	S/V	9,7	S/V	S/V	S/V				30,92	30,92	30,9	25,88	25,88	25,9				-5,0					
C-58	30	F	S/V	S/V	29,9	S/V	3,2	1,9	S/V	11,2	S/V	S/V	S/V				22,95	22,95	23,0	22,5	22,5	22,5				-0,4					
C-6	20	F	S/V	S/V	38,3	2	3,8	1,5	S/V	8,4	19	S/V	S/V				29,03	29,03	29,0	21,95	21,95	22,0				-7,1					
C-60	30	F	S/V	S/V	31,9	S/V	2,2	1,5	S/V	9,4	S/V	S/V	S/V				22,02	22,02	22,0	14,84	14,84	14,8				-7,2					
C-62	25	F	S/V	S/V	24,8	S/V	2,2	1,5	S/V	9,1	S/V	S/V	S/V				26,59	26,59	26,6	23,96	23,96	24,0				-2,6					
C-7	33	F	S/V	S/V	27,8	31	13	1,7	S/V	15	15	S/V	S/V				31,51	31,51	31,5	25,31	25,31	25,3				-6,2					
																										\bar{x} = 3,3					