



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,  
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

**“ANTICUERPOS CONTRA EL RECEPTOR TIPO 1 DE  
ANGIOTENSINA II EN PACIENTES CON NEFROPATÍA LÚPICA”**

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

**MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS**

PRESENTA

**DR. JUAN MANUEL MEJÍA VILET**

TUTOR

**DR. LUIS EDUARDO MORALES BUENOSTRO**

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

COMITÉ TUTORAL

**DRA. NORMA A. BOBADILLA SANDOVAL**

Instituto Nacional de Investigaciones Biomédicas

**DRA. MARA MEDEIROS DOMINGO**

Hospital Infantil de México

Ciudad Universitaria, Cd.Mx., Enero de 2018



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **COMITÉ TUTORAL**

**Dra. Norma A. Bobadilla Sandoval**

Instituto Nacional de Investigaciones Biomédicas

**Dra. Mara Medeiros Domingo**

Hospital Infantil de México

**Dr. Luis Eduardo Morales Buenrostro**

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

## **COMITÉ DE EXAMEN DE GRADO**

**Dra. Josefina Alberú Gómez**

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

**Dra. Norma Araceli Bobadilla Sandoval**

Instituto de Investigaciones Biomédicas

**Dra. Magdalena Madero Rovalo**

Instituto Nacional de Cardiología

**Dr. Jorge Rojas Serrano**

Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias

**Dr. Luis Eduardo Morales Buenrostro**

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

**Este trabajo fue financiado por CONACYT**  
**Fondo Sectorial de Investigación en Salud y Seguridad Social**  
**Clave SALUD S0008-2016-01-272914**

**AGRADECIMIENTOS POR SU COLABORACIÓN EN ESTE ESTUDIO**

**Dra. Bertha M. Córdova Sánchez**

**Dr. Yesser López Hernández**

**Dr. Jesús Iván Santander Velez**

**Dra. Verónica Espinoza Cruz**

**Dra. Norma O. Uribe Uribe**

**Dr. Ricardo Espinosa González**

## **INDICE**

<b>I.</b>	<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>7</b>
	1.1. <b>Lupus eritematoso y enfermedad aterosclerótica</b>	<b>7</b>
	1.2. <b>Estimación del daño por aterosclerosis</b>	<b>8</b>
	1.3. <b>Aterosclerosis subclínica en lupus eritematoso</b>	<b>8</b>
	1.4. <b>Lesiones vasculares en la biopsia renal en nefritis lúpica</b>	<b>9</b>
	1.5. <b>Anticuerpos contra el receptor tipo 1 de angiotensina II</b>	<b>10</b>
<b>II.</b>	<b>PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>14</b>
<b>III.</b>	<b>JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO</b>	<b>15</b>
<b>IV.</b>	<b>HIPÓTESIS</b>	<b>16</b>
<b>V.</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>17</b>
<b>VI.</b>	<b>METODOLOGÍA DEL ESTUDIO</b>	<b>18</b>
	6.1. <b>Diseño General</b>	<b>18</b>
	6.2. <b>Primera Fase</b>	<b>18</b>
	6.2.1. <b>Selección de los Pacientes</b>	<b>18</b>
	6.2.2. <b>Historia Clínica y Exploración Física Inicial</b>	<b>19</b>
	6.2.3. <b>Escalas de Actividad y Daño</b>	<b>20</b>
	6.2.4. <b>Monitoreo Ambulatorio de la Presión Arterial</b>	<b>20</b>
	6.2.5. <b>Muestras Biológicas</b>	<b>20</b>
	6.2.6. <b>Ultrasonido Doppler Carotideo</b>	<b>20</b>
	6.2.7. <b>Procedimiento de Biopsia Renal Percutánea</b>	<b>21</b>
	6.2.8. <b>Análisis Histopatológico de la Biopsia Renal</b>	<b>21</b>
	6.2.9. <b>Medición de Anticuerpos AT1R</b>	<b>22</b>

6.3.	Segunda Fase	22
6.3.1.	Seguimiento de AT1R	22
6.3.2.	Citas de seguimiento	23
6.3.3.	Definiciones de respuesta al tratamiento	23
6.4.	Descripción de variables evaluadas en el estudio	24
VII.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO	27
VIII.	RESULTADOS	29
8.1.	Prevalencia de anticuerpos AT1R-Ab en nefritis lúpica	30
8.2.	Riesgo cardiovascular y AT1R-Ab	31
8.3.	Cuadro clínico y AT1R-Ab	33
8.4.	Correlación entre AT1R y actividad serológica	35
8.5.	Parámetros histopatológicos y AT1R-Ab	36
8.6.	Monitoreo Ambulatorio de la Presión Arterial	37
8.7.	Grosor íntima-media Carotideo y AT1R-Ab	39
8.8.	Lesiones microvasculares y AT1R-Ab	40
8.9.	Correlación microvascular y macrovascular	42
8.10.	Niveles de AT1R-Ab y respuesta al tratamiento	43
8.11.	Comportamiento de AT1R-Ab con inmunosupresión	45
8.12.	Bloqueo del efecto de AT1R-Ab con antagonistas del receptor de angiotensina II	48
IX.	DISCUSIÓN	54
X.	BIBLIOGRAFÍA	59

# **ANTICUERPOS CONTRA EL RECEPTOR TIPO 1 DE ANGIOTENSINA II EN PACIENTES CON NEFROPATÍA LÚPICA**

## **I. INTRODUCCIÓN**

### **1.1. Lupus eritematoso generalizado y enfermedad aterosclerótica**

El lupus eritematoso generalizado (LEG) es una enfermedad inflamatoria autoinmune con una amplia variedad de manifestaciones clínicas y complicaciones asociadas<sup>1</sup>. Como es el caso de diversas enfermedades inflamatorias, los pacientes con LEG desarrollan tempranamente aterosclerosis<sup>2</sup>, lo cual incrementa la morbilidad y mortalidad cuando éstas se comparan con personas de la misma edad y sexo. Es así que se estima que los pacientes con LEG tienen un riesgo seis veces mayor de desarrollar lesiones ateroscleróticas en comparación con la población general, y la mortalidad por enfermedad cardiovascular es hasta 16 veces mayor en comparación con personas de la misma edad y sexo<sup>3,4</sup>.

La fisiopatología de la enfermedad cardiovascular en pacientes con LEG deriva de la interacción entre factores de riesgo tradicionales (carga genética, tabaquismo, hipertensión arterial sistémica, diabetes mellitus, hipercolesterolemia), factores específicos de la enfermedad (mediadores inflamatorios, grado de actividad, tipo de órganos involucrados, entre otros) y factores asociados con el tratamiento empleado (dosis acumulada de fármacos esteroideos, diabetes mellitus secundaria y dislipidemia secundaria)<sup>2,5,6</sup>.

Los mecanismos exactos que promueven el desarrollo de las lesiones de aterosclerosis no son conocidos. Estudios recientes sugieren que el daño puede ser secundario a una combinación de varios auto-anticuerpos, activación de vías inflamatorias con blanco al endotelio, partículas lipídicas disfuncionales, disfunción endotelial y efectos negativos de los diversos tratamientos empleados<sup>6-8</sup>.



## **1.2. Estimación y cuantificación del grado de aterosclerosis**

En general, existen dos técnicas ampliamente aceptadas para la valoración del daño vascular por aterosclerosis: la tomografía de arterias coronarias y el ultrasonido de arterias carótidas. La primera ha sido utilizada para evaluar la carga aterosclerótica a nivel de arterias coronarias con una aceptable estimación de la estenosis en comparación con la angiografía coronaria<sup>9</sup>. El ultrasonido de arterias carótidas ha sido utilizado para la evaluación y seguimiento de la aterosclerosis subclínica, incluso en pacientes con LEG<sup>10-12</sup>. La valoración se realiza mediante la medición del grosor de las capas íntima y media de la arteria carótida (carotid intima-media thickness – IMT – en inglés) valoradas mediante ultrasonografía Doppler en modo B o en modo M. Adicionalmente, se valora la presencia de placas carotídeas, ya que este último se considera un buen predictor de eventos cerebrovasculares en algunos estudios<sup>13,14</sup>. Por lo tanto, los marcadores subrogados de aterosclerosis subclínica obtenidos mediante ultrasonido Doppler pudieran proveer información pronóstica adicional a aquella derivada de los factores de riesgo tradicionales.

## **1.3. Aterosclerosis subclínica en pacientes con lupus eritematoso generalizado y nefropatía lúpica**

En años recientes, se han desarrollado múltiples estudios, en particular bajo la metodología de “casos y controles”, con el objetivo de comparar la tasa de aterosclerosis subclínica entre pacientes con LEG y controles sanos. Un metaanálisis que incluyó 80 estudios (71 de ellos evaluaron el grosor íntima-media y 44 placas carotídeas), mostró mayores índices de grosor íntima-media así como mayor prevalencia de placas carotídeas en pacientes con LEG respecto a los controles sanos<sup>15</sup>. Cabe mencionar que existió gran heterogeneidad entre los estudios incluidos en el metaanálisis. El análisis de metaregresión mostró que tanto los factores de riesgo cardiovascular tradicionales como el uso de medicamentos esteroideos influenciaron la asociación entre LEG y la prevalencia de placas

carotideas. En el análisis del subgrupo de pacientes con nefropatía lúpica, se evidenció un mayor grosor íntima-media en comparación con aquellos pacientes con LEG sin afectación renal.

La causa de la mayor incidencia de lesiones ateroscleróticas en pacientes con actividad renal es aún desconocida. Se han encontrado niveles mayores de factores de crecimiento vascular endotelial (*vascular endothelial growth factor* – VEGF) en este grupo de pacientes <sup>16</sup>.

#### **1.4. Lesiones vasculares en la biopsia renal de pacientes con nefropatía lúpica**

La biopsia renal percutánea (BRP) constituye el estándar de oro para el diagnóstico de la afectación renal en pacientes con LEG, siendo indispensable la valoración de los compartimientos glomerular, intersticial y vascular. De acuerdo con los hallazgos, el patólogo renal efectúa un reporte basado en la clasificación de la Sociedad Internacional de Nefrología en conjunto con la Sociedad de Patología Renal (ISN/RPS) establecida en 2003 <sup>17</sup>.

Recientemente, se ha prestado particular atención al compartimiento vascular, el cual corresponde a vasos de mediano y pequeño calibre <sup>18,19</sup>. Entre un 27 a 82% de las biopsias renales percutáneas en pacientes con LEG tienen anomalías en estos vasos sanguíneos, siendo la anomalía más frecuente la fibrosis en la capa subíntima, comúnmente reportada como esclerosis arteriolar. Otras lesiones menos frecuentes incluyen la microangiopatía trombótica (MAT), vasculopatía lúpica (depósitos de complejos inmunes sin inflamación) y la necrosis fibrinoide de las arteriolas.

En nuestro centro, previamente reportamos una prevalencia de lesiones vasculares del 53.4% en la biopsia renal de pacientes con nefropatía lúpica, 42% correspondientes a hallazgos de esclerosis arteriolar <sup>20</sup>. Este hallazgo de esclerosis arteriolar se asoció con la presencia de lesiones crónicas como fibrosis intersticial y atrofia tubular, las cuales se encuentran incluidas en el índice de cronicidad de los

Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos (NIH) <sup>21</sup> y representan el factor predictor más importante de pronóstico renal a largo plazo entre las mediciones basales al diagnóstico. Adicionalmente, aquellos pacientes sin lesiones vasculares en la biopsia renal percutánea tienen 2 veces mayor probabilidad de responder al tratamiento que aquellos con lesiones de esclerosis arteriolar.

Actualmente, se desconocen los factores involucrados en la fisiopatología de la fibrosis subíntima observada en los tejidos renales. Así mismo, no se conoce si las lesiones en los vasos de pequeño calibre observados en el tejido renal están asociadas con las lesiones vasculares ateroscleróticas de vasos de mayor calibre.

### **1.5. Anticuerpos contra el receptor tipo 1 de angiotensina-II (AT1R-Ab)**

El receptor tipo 1 de angiotensina II (AT1R) es un receptor conformado por 7 dominios transmembrana con 3 asas extracelulares y 3 asas intracelulares. Este receptor pertenece a la familia de receptores asociados a proteínas G que constituyen la superfamilia más grande de receptores en el genoma humano y son blanco de más del 50% de los fármacos utilizados actualmente <sup>22,23</sup>.

Tras la unión de la angiotensina II y de la activación de señales de segundos mensajeros, este receptor media la mayor parte de los efectos fisiológicos y fisiopatológicos de la angiotensina II al promover vasoconstricción, inflamación, proliferación y fibrosis <sup>24</sup>.

En condiciones normales, las células endoteliales glomerulares expresan poca cantidad de AT1R <sup>25</sup>. Este receptor ha sido encontrado también en podocitos, las células determinantes de la barrera de filtración glomerular <sup>26</sup>. La expresión de este receptor se incrementa en el endotelio activado, como podría ser el caso de enfermedades inflamatorias autoinmunes.

Los anticuerpos dirigidos contra el receptor tipo 1 de angiotensina II (AT1R-Ab) son inmunoglobulinas agonistas que actúan de forma similar a la angiotensina II y son capaces de desencadenar sus vías de señalización <sup>27</sup>. Son anticuerpos de clase IgG1 e IgG3, que a pesar de su isotipo, no han demostrado activar la vía del

complemento. Los AT1R-Ab reconocen la segunda asa extracelular del receptor, en un sitio distinto al sitio de unión de los fármacos antagonistas del receptor (sartanes), los cuales se unen al sitio ortostérico localizado en la región 3 y 5 transmembrana <sup>28</sup>. A diferencia de la angiotensina II, en cuyo caso el receptor posee mecanismos de desensibilización, la unión de los AT1R-Ab produce una estimulación sostenida tras generar dímeros estables del receptor.

Los efectos finales de los AT1R-Ab incluyen el desarrollo de hipertensión de manera similar a la angiotensina II, inflamación microvascular y activación de la vía de coagulación a través de la activación del factor nuclear kappa de células B (NF-kB) y la expresión del factor tisular en células endoteliales respectivamente. Adicionalmente, los AT1R-Ab pueden estimular la expresión de moléculas de adhesión en la superficie endotelial e incrementar la permeabilidad endotelial <sup>29-31</sup>.

Los hallazgos histopatológicos del daño mediado por AT1R-Ab van desde inflamación microvascular hasta endarteritis, necrosis fibrinoide, trombosis arteriolar y arterial <sup>32</sup>. En biopsias renales de pacientes transplantados renales se ha observado que dichas lesiones se acompañan de una tinción intensa para factor tisular.

#### **1.5.1. Anticuerpos contra el receptor tipo 1 de angiotensina II en patologías humanas**

En 1999, *Wallukat et al* describieron la presencia de AT1R-Ab en el suero de pacientes con preeclampsia. Estos anticuerpos producían una elevación de la presión arterial dependiente de angiotensina II y desaparecían en las semanas posteriores a la terminación del embarazo <sup>33</sup>.

En 2005, *Dragun et al.* asociaron la presencia de AT1R-Ab con el rechazo agudo del injerto en pacientes con trasplante renal <sup>28</sup>. Se decidió buscar intencionadamente estos anticuerpos en esta patología debido a que ciertos pacientes con rechazo cursan con hipertensión arterial “maligna”, semejante a la hipertensión observada en las pacientes con preeclampsia. La remoción de los

AT1R-Ab mediante plasmaféresis y el bloqueo de su acción con losartán incrementó la supervivencia de los injertos <sup>28,34</sup>.

### **1.5.2. Anticuerpos AT1R-Ab como mediadores de aterosclerosis**

Dechend *et al*<sup>35</sup> han demostrado la presencia de lesiones similares a aterosclerosis en las arterias espirales de la placenta en modelos murinos de preeclampsia en los que se ha detectado la presencia de AT1R-Ab.

Li *et al*<sup>36</sup> estudiaron el daño mediado por AT1R-Ab en lesiones ateroscleróticas de la arteria aorta en ratones ApoE *-/-*. Estos investigadores generaron dos modelos de AT1R-Ab, el primero mediante la administración exógena de un péptido del receptor, estimulando así la producción de anticuerpos; mientras que en el segundo se administró directamente los anticuerpos preformados en conejos. En ambos modelos animales se encontró una mayor expresión de los marcadores inflamatorios (proteína C reactiva, factor de necrosis tumoral alfa y factor nuclear kappa de células B) así como de marcadores de estrés oxidativo (peróxido de hidrógeno) en los ratones expuestos a AT1R-Ab. Las lesiones observadas en cortes histológicos de la aorta fueron más severas en los ratones expuestos a AT1R-Ab independientemente del mecanismo de generación. Interesantemente, los cambios observados en el modelo fueron parcialmente revertidos con la administración del antagonista del receptor de angiotensina II valsartán.

### **1.5.3. Anticuerpos contra el receptor de angiotensina II en lupus eritematoso generalizado**

El único estudio que ha evaluado la presencia de AT1R-Ab en pacientes con LEG fue publicado en 2013 <sup>37</sup>. En este estudio se mostró que el 66.3% de los pacientes con nefropatía lúpica reclutados fueron positivos para AT1R-Ab en comparación con 9.6% en los controles sanos. La positividad de AT1R-Ab fue de 76.1% en pacientes que recibían inmunosupresión en comparación con 27.8% en aquellos sin inmunosupresión, sugiriendo que los fármacos inmunosupresores modifican el nivel

de estos anticuerpos. Así mismo, la presión arterial sistémica fue significativamente mayor en pacientes positivos para AT1R-Ab, aunque las cifras observadas se mantuvieron dentro de los rangos considerados normales.

En nuestro centro, se ha investigado la asociación entre la positividad de AT1R-Ab y la función renal en donadores renales <sup>38</sup>, así como la asociación entre estos anticuerpos y el desarrollo de anticuerpos donador específicos (ADE) en trasplantados renales <sup>39</sup>. En este segundo estudio, se observó que el valor promedio de AT1R-Ab fue de 85.1u/ml en 15 pacientes cuya etiología de enfermedad renal terminal fue nefropatía lúpica en comparación con un valor promedio de 16.3u/ml en el resto de los pacientes incluidos en el estudio. De los 15 pacientes incluidos, 11 fueron positivos para AT1R-Ab (considerando un límite superior de referencia de <17u/ml) e incluso 4 tuvieron cifras de AT1R-Ab mayores de 30u/ml.

El análisis histopatológico de las biopsias de los pacientes con AT1R-Ab mostró mayor prevalencia de fibrosis subíntima en comparación con un grupo de pacientes trasplantados con negatividad de AT1R-Ab pareados por edad y sexo <sup>40</sup>.

## II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La enfermedad aterosclerótica constituye la primera causa de mortalidad a nivel mundial. El desarrollo de aterosclerosis acelerada en enfermedades inflamatorias como el lupus eritematoso generalizado aumenta considerablemente la morbilidad y la mortalidad de estos pacientes. Existen corrientes del conocimiento que orientan a que tanto la hipertensión (o cuando menos algunas de sus formas) como la enfermedad cardiovascular podrían obedecer a un componente autoinmune <sup>41,42</sup>.

Por otra parte, se conoce que el involucro renal y la progresión del daño a fases terminales de enfermedad renal constituyen uno de los principales condicionantes de morbilidad y mortalidad en pacientes con lupus eritematoso generalizado. La presencia de lesiones sugerentes de esclerosis arteriolar en el análisis histopatológico de la biopsia renal se asocia con una menor respuesta al tratamiento de inducción a la remisión y a mayores tasas de progresión a enfermedad renal crónica terminal.

Por lo tanto, la búsqueda de mecanismos fisiopatogénicos de las lesiones en los vasos de gran calibre, como en vasos de pequeño y mediano calibre puede contribuir al desarrollo de blancos terapéuticos y por tanto, a la respuesta al tratamiento de pacientes con enfermedades inflamatorias.

Los anticuerpos contra el receptor tipo 1 de la angiotensina II (AT1R-Ab) constituyen un mecanismo de daño que ha sido estudiado en pacientes con enfermedades que cursan con hipertensión y daño vascular, tales como preeclampsia, esclerosis sistémica y rechazos vasculares de injertos renales. Por lo tanto, la presencia de AT1R-Ab en pacientes con LEG pudiera estar asociada con daño vascular a nivel de vasos de gran calibre como en vasos de pequeño calibre, y en consecuencia, el bloqueo de su acción potencialmente podría mejorar el pronóstico cardiovascular y renal de este grupo de pacientes.

### **III. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO**

Como se ha mencionado, tanto la enfermedad cardiovascular como la progresión a fases terminales de la enfermedad renal constituyen los principales determinantes de morbilidad y mortalidad en pacientes con lupus eritematoso generalizado.

Las lesiones vasculares pueden evidenciarse en este grupo de pacientes tanto a nivel macrovascular a través de la medición del grosor de la íntima media mediante ultrasonido Doppler carotídeo, como a nivel microvascular en el análisis histopatológico de tejidos de biopsia.

Los anticuerpos contra el receptor de angiotensina II han sido descritos como mediadores de daño vascular en otras enfermedades humanas, y se ha reportado su presencia en pacientes con LEG.

Por lo tanto, los AT1R-Ab podrían mediar los mecanismos inmunológicos de daño vascular en pacientes con LEG. Siendo así se esperaría encontrar los AT1R-Ab en pacientes con LEG y sus niveles podrían asociarse con la severidad de las lesiones vasculares observadas en estos pacientes.

Finalmente, de evidenciarse un posible papel patogénico de los AT1R-Ab, el bloqueo de sus efectos mediante el uso de antagonistas del receptor de angiotensina II, pudiera mejorar el pronóstico cardiovascular y renal de este grupo de pacientes.



## **IV. HIPÓTESIS**

### **Principal**

El título de anticuerpos dirigidos contra el receptor tipo 1 de angiotensina II está asociado positivamente con el porcentaje de fibrosis subíntima de los vasos observados en el tejido de biopsia renal de pacientes con LEG y nefropatía lúpica, con un coeficiente de correlación de al menos 0.3.

### **Secundarias**

El título de AT1R-Ab está asociado positivamente con el grosor íntima-media de la arteria carótida ( $r=0.3$ ) y los niveles de presión arterial sistémica ( $r=0.3$ ) documentados por monitoreo de 24 horas en pacientes con lupus eritematoso generalizado y nefropatía lúpica.

El título de AT1R-Ab disminuirá con el manejo inmunosupresor y se asociará con mayores tasas de respuesta al tratamiento inmunosupresor a los 6 meses de seguimiento.

## **V. OBJETIVOS**

### **5.1. Primario**

Determinar la asociación entre el nivel de AT1R-Ab con el grosor íntima-media carotideo, el porcentaje de fibrosis subíntima de los vasos observados en el tejido de biopsia renal y los niveles de presión arterial en pacientes con LEG y nefropatía lúpica.

Determinar el curso clínico de los títulos de AT1R-Ab medidos en suero de pacientes con nefropatía lúpica sometidos a tratamiento inmunosupresor.

### **5.2. Secundarios**

Estimar la prevalencia de positividad de AT1R-Ab en los pacientes con nefropatía lúpica.

Estimar la prevalencia de aterosclerosis subclínica (definida como aumento del grosor íntima-media carotideo) en pacientes con nefropatía lúpica.

Estimar la prevalencia de lesiones vasculares de esclerosis arteriolar (definida como porcentaje de fibrosis subíntima >10%) en biopsias renales de los pacientes con nefropatía lúpica.

Estimar la prevalencia de hipertensión enmascarada en los pacientes con nefropatía lúpica.

Estimar la asociación entre los títulos basales de AT1R-Ab y la respuesta renal al tratamiento inmunosupresor en los pacientes con nefropatía lúpica.

## **VI. METODOLOGÍA DEL ESTUDIO**

### **6.1. Diseño General**

Se trató de un estudio observacional constituido por una fase transversal y una segunda fase de cohorte prolectiva.

La población de estudio incluyó a pacientes con diagnóstico de lupus eritematoso generalizado y actividad a nivel renal quienes por indicación de sus médicos tratantes fueron programados para la realización de un procedimiento de biopsia renal percutánea.

### **6.2. Primera fase (estudio transversal)**

Se invitó a participar a esta fase del estudio a todo paciente programado para la realización de una biopsia renal percutánea en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán entre marzo de 2016 y junio de 2017.

#### **6.2.1. Selección de los pacientes**

Se seleccionaron todos los pacientes con diagnóstico de lupus eritematoso generalizado con base en los criterios del Colegio Americano de Reumatólogos (SCR) o de las Clínicas de Colaboración Internacional en Lupus Sistémico (SLICC).

Los criterios de selección fueron los siguientes:

##### **a) Criterios de Inclusión**

- Paciente programado para una biopsia renal percutánea por indicación de su médico tratante de nefrología o reumatología
- Firma del consentimiento informado previo a la realización de cualquier procedimiento del estudio
- Hombre o mujer mayor de 18 años

- Diagnóstico de lupus eritematoso generalizado por criterios ACR o SLICC.

b) Criterios de Exclusión

- Enfermedad comórbida capaz de inducir proteinuria con evidencia de daño a órgano blanco previa (e.g. diabetes mellitus, hipertensión arterial sistémica severa)
- Diagnóstico previo de enfermedad aterosclerótica carotídea o cardíaca
- Contraindicación para la realización de un ultrasonido Doppler carotídeo

c) Criterios de Eliminación

- Se eliminaron del análisis de correlación aquellos estudios de ultrasonido Doppler incompletos (ausencia de más de 2 mediciones de los 6 sitios evaluados)
- Muestra de biopsia renal percutánea insuficiente para la valoración de la nefropatía y/o de las lesiones vasculares (menos de 10 glomérulos y/o menos de 2 vasos intersticiales evaluables)
- Evidencia de otra etiología distinta a nefritis lúpica en el análisis histopatológico de la biopsia renal percutánea

### **6.2.2. Historia Clínica y Exploración Física Inicial**

Una vez autorizado y firmado el consentimiento informado, se realizó una historia clínica completa a cada paciente con énfasis a los antecedentes heredofamiliares de enfermedad cardiovascular, historia de toxicomanías, historial del lupus eritematoso generalizado así como de los medicamentos empleados y la terapéutica al momento de la biopsia renal percutánea.

### **6.2.3. Escalas de actividad y de daño de lupus eritematoso generalizado.**

A partir de los datos colectados mediante la historia clínica y la exploración física se calculó el valor de actividad mediante la escala SLEDAI2K y de daño mediante la escala SLICC.

### **6.2.4. Monitoreo Ambulatorio de la Presión Arterial (MAPA)**

Se realizó un monitoreo ambulatorio de la presión arterial (Welch Allyn ABPM 6100) a los pacientes incluidos entre marzo de 2016 y marzo de 2017. Se instruyó a los pacientes a reportar cualquier evento durante el periodo de monitorización. Se programó el equipo para registrar la presión arterial cada 20 minutos durante el día y cada 30 minutos durante la noche. Se consideró un registro adecuado a todo aquel con un mínimo de 20 mediciones diurnas y 7 mediciones nocturnas <sup>43</sup>. Se definió al periodo de sueño como aquel comprendido entre las 00.00 y las 06.00 horas.

### **6.2.5. Muestras Biológicas**

El día de la biopsia renal percutánea, los pacientes fueron ingresados 24 horas a hospitalización para realizar el procedimiento. Al momento de la colocación de la línea intravenosa se tomaron muestras de plasma y suero a todos los pacientes. Así mismo, se solicitó una muestra de orina. Todas las muestras fueron centrifugadas, separando plasma y suero de las muestras sanguíneas. Se tomaron alícuotas y se almacenaron a -70°C hasta el momento de la medición de los AT1R-Ab.

### **6.2.6. Ultrasonido Doppler Carotideo**

Los estudios fueron realizados en el Departamento de Imagenología “Adan Pitol” del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán por la Dra. Verónica Espinoza Cruz, médico adscrito al Departamento y responsable del área de ultrasonido.

Previo o posterior a la realización del procedimiento de biopsia renal percutánea se realizó un estudio de ultrasonido Doppler carotideo a todos los pacientes. Con el paciente descansando en posición supina y con el cuello rotado al sitio opuesto del lado examinado se obtuvieron imágenes de la arteria carótida común, bulbo carotideo y arteria carótida interna para la medición del grosor íntima media en modo B. Esta exploración se realizó en ambos lados. Posteriormente se realizó un sondeo para descartar la presencia de placas carotideas, definidas como un grosor íntima media mayor de 15mm o un incremento del 50% del grosor íntima-media respecto a los grosores circundantes<sup>44</sup>. Se consideró un grosor íntima media anormal como todo aquel grosor de la pared posterior ("*far wall*") de la arteria carótida común mayor del percentil 75th para población de la Ciudad de México, de acuerdo a los valores normativos definidos en el estudio CARMELA<sup>45</sup>.

#### **6.2.7. Procedimiento de Biopsia Renal Percutánea**

Todos los procedimientos de biopsia renal percutánea fueron realizados siguiendo el protocolo institucional, sin modificarse a causa del estudio. Los pacientes fueron ingresados al servicio de estancia corta por 24 horas. Si bien el procedimiento no fue parte del estudio, se registraron las complicaciones asociadas con el mismo.

#### **6.2.8. Análisis Histopatológico del Tejido de la Biopsia Renal Percutánea**

Los cilindros de tejido renal obtenidos se fijaron con formaldehído al 4% para su análisis por microscopía de luz. Se realizaron cortes secuenciales de 3µm y se tiñeron con hematoxilina/eosina, ácido peryódico de Schiff, plata metenamina y tricrómico de Masson.

El reporte histopatológico fue descrito de acuerdo a las recomendaciones de la clasificación ISN/RPS<sup>17</sup>. Adicionalmente se evaluaron los índices de actividad y cronicidad descritos por Austin 3rd y cols<sup>21</sup>.

Las lesiones vasculares fueron valoradas por dos patólogos independientes. Se tomaron microfotografías de cada vaso evaluado y se procedió a la evaluación morfológica mediante el marcaje de la lámina elástica interna del vaso, la luz del vaso y mediante la diferencia entre las dos mediciones se obtuvo el porcentaje de fibrosis subíntima. Los valores se reportaron en una escala de 0 a 100 para cada vaso sanguíneo. Para cada paciente se realizó un promedio de las mediciones de cada uno de los vasos evaluados.

#### **6.2.9. Medición de Anticuerpos contra el Receptor de Angiotensina II**

A partir de alícuotas de plasma de las muestras obtenidas el día del procedimiento de la biopsia se midieron los AT1R-Ab mediante un inmunoensayo de absorción ligado a enzima (ELISA) comercialmente disponible (CellTre GmbH, Luckenwalde, Germany) y siguiendo las indicaciones del fabricante. De acuerdo a los estudios realizados en pacientes trasplantados renales, se considera un valor de referencia menor a 17u/ml como valor negativo y todo valor por encima de este punto de corte es considerado positivo.

#### **6.3. Segunda Fase (seguimiento longitudinal)**

Al momento del reclutamiento para la primera fase se invitó a todos los pacientes a continuar seguimiento en la segunda fase del estudio. Aquellos pacientes en quienes se planteó el inicio de terapia de inducción a la remisión fueron aleatorizados para recibir tratamiento con IECA o ARA2 (ver abajo). Aquellos pacientes en quienes se determinó no aumentar la inmunosupresión debido a cronicidad o la ausencia de actividad en la biopsia renal percutánea solamente tuvieron seguimiento sin aleatorización a ninguno de los tratamientos.

### **6.3.1. Aleatorización a recibir inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina II o antagonista del receptor de angiotensina II**

Los pacientes candidatos a recibir tratamiento de inducción a la remisión fueron aleatorizados por bloques de seis pacientes a recibir tratamiento con enalapril (inhibidor del sistema renina angiotensina) o losartan (antagonista del receptor de angiotensina II). En aquellos pacientes previamente tratados con alguno de los dos medicamentos se les indicó continuar con el mismo medicamento. Aquellos pacientes previamente tratados con doble bloqueo del sistema renina angiotensina fueron igualmente aleatorizados a recibir uno u otro.

### **6.3.2. Citas de seguimiento**

Los pacientes fueron citados para revisión y toma de muestras biológicas (sangre y orina) a los tres y seis meses de seguimiento. Durante estas citas se registraron las dosis de los medicamentos recibidos, adherencia al tratamiento, efectos adversos del tratamiento y se evaluó la respuesta al tratamiento. Así mismo, se recolectaron los datos de los estudios de laboratorio más cercanos a la cita dentro de +/- 15 días.

### **6.3.3. Definiciones de respuesta al tratamiento**

Se definió respuesta al tratamiento de la siguiente manera:

- Remisión completa: creatinina sérica menor de 115% de los valores iniciales con índice proteinuria-creatinuria de 24 horas menor a 0.5g/g
- Remisión parcial: creatinina sérica menor de 115% de los valores iniciales con disminución del 50% de la proteinuria medida por índice proteinuria-creatinuria de 24 horas
- Duplicación de creatinina: cuando los niveles de creatinina sérica se encontraron al doble de los valores iniciales de creatinina sérica
- Enfermedad renal crónica terminal: requerimiento de cualquier forma de terapia de reemplazo renal de forma permanente



## 6.4. Descripción de las variables evaluadas en el estudio

Variable	Definición	Escala
<b>Demográficas</b>		
Edad	Años cumplidos al momento de la biopsia	Continua
Sexo	Hombre o mujer	Nominal
Nivel socioeconómico	Clasificación hospitalaria (1-7)	Ordinal
Evolución de LEG	Meses del diagnóstico de LEG a la biopsia renal percutánea por nefropatía	Continua
Evolución de nefropatía	Meses desde el inicio de los síntomas/signos de nefropatía a la biopsia	Continua
<b>Antecedentes de importancia</b>		
Tabaquismo o historia de tabaquismo	Clasificado como "sí" o "no"	Nominal
Historia familiar de diabetes	Presente o ausente en familiares de primer grado	Nominal
Historia familiar de hipertensión	Presente o ausente en familiares de primer grado	Nominal
Historia familiar de cardiopatía isquémica	Presente o ausente en familiares de primer grado	Nominal
Historia familiar de evento vascular cerebral	Presente o ausente en familiares de primer grado	Nominal
Historia familiar de dislipidemia	Presente o ausente en familiares de primer grado	Nominal
<b>Actividad previa de la enfermedad</b>		
Mucocutánea	Historia de actividad mucocutánea	Nominal
Neurológica	Historia de actividad neurológica	Nominal
Articular	Historia de actividad articular	Nominal
Cardíaca	Historia de actividad cardíaca	Nominal
Vascular	Historia de vasculitis a cualquier nivel	Nominal
Hematológica	Historia de actividad hematológica	Nominal
Diagnóstico previo de síndrome antifosfolípido	Diagnóstico previo de SAF por criterios de Sapporo <sup>46</sup>	Nominal
<b>Historia de nefropatía</b>		
Episodio de actividad renal	Definido como primero, segundo, tercero, etc.	Nominal
Indicación de biopsia renal percutánea	Dividido entre biopsia diagnóstica y biopsia por falta de respuesta al tratamiento	Nominal
<b>Historia de medicamentos</b>		
Inmunosupresión previa	Fármaco de inducción a la remisión previo	Nominal
Inmunosupresión actual	Fármacos presentes al momento del episodio de actividad renal	Nominal
Bloqueo previo del SRAA	Tratamiento presente al momento del episodio actual de actividad renal (Ninguno, IECA, ARA o doble bloqueo )	Nominal
Años de tratamiento con prednisona	Años de tratamiento con cualquier dosis de prednisona	Continua
<b>Exploración física al episodio</b>		
Peso	Evaluado en kilogramos	Continua
Talla	Evaluado en metros	Continua
IMC	Calculado como peso/talla <sup>2</sup>	Continua
Presión arterial sistólica en consultorio	Presión arterial sistólica al momento de la historia clínica mediante esfigmomanómetro	Continua

Presión arterial diastólica en consultorio	Presión arterial diastólica al momento de la historia clínica mediante esfigmomanómetro	Continua
Presión arterial media	Calculada a partir de los valores de la exploración en el consultorio	Continua

### Estudios de laboratorio basales

Hemoglobina	Nivel de hemoglobina en plasma (g/dl)	Continua
Plaquetas	Nivel de plaquetas por mm <sup>3</sup>	Continua
Leucopenia	Leucocitos <4000/mm <sup>3</sup>	Nominal
Linfopenia	Linfopenia <1500/mm <sup>3</sup>	Nominal
Trombocitopenia	Plaquetas <150,000/mm <sup>3</sup>	Nominal
Creatinina sérica	Nivel sérico de creatinina (mg/dl)	Continua
Nitrógeno ureico sérico	Nivel sérico de nitrógeno ureico (mg/dl)	Continua
Albúmina	Nivel de albúmina sérico (mg/dl)	Continua
Triglicéridos	Nivel de triglicéridos sérico (mg/dl)	Continua
Colesterol	Nivel de colesterol sérico (mg/dl)	Continua
HDL	Nivel de HDL sérico (mg/dl)	Continua
No-HDL	Nivel de colesterol no-HDL (total-HDL)	Continua
Proteinuria de 24 horas	Valor de proteinuria en recolección de 24 horas	Continua
Creatinuria de 24 horas	Valor de creatinina en recolección de 24 horas	Continua
Índice Proteinuria/creatinuria	Obtenido de proteinuria y creatinuria de 24 horas (g/g)	Continua
Hematuria	Presencia o ausencia de hematuria (>5 eritrocitos/campo de alto poder) en examen general de orina	Nominal
Piuria	Presencia o ausencia de leucocituria (>5 leucocitos/campo de alto poder) en EGO	Nominal
Anticuerpos contra DNA de doble cadena	Medidos mediante ELISA (u/μl)	Continua
Proteína C3 del complemento	Nivel sérico de proteína C3 del complemento (mg/dl)	Continua
Proteína C4 del complemento	Nivel sérico de proteína C3 del complemento (mg/dl)	Continua
Síndrome glomerular de presentación SLEDAI 2K SLICC	Nefrótico, nefrítico, anomalías urinarias asintomáticas o enfermedad renal crónica Actividad mediante escala SLEDAI2K Escala de daño previo SLICC	Nominal Ordinal Ordinal

### Datos histopatológicos

Glomérulos en biopsia	Número de glomérulos en la biopsia	Continua
Glomerulosclerosis global	Porcentaje de glomérulos globalmente esclerosados	Continua
Glomerulosclerosis segmentaria	Porcentaje de glomérulos con esclerosis segmentaria	Continua
Fibrosis Intersticial	Porcentaje de fibrosis intersticial	Continua
Atrofia tubular	Porcentaje de atrofia tubular	Continua
Inflamación intersticial	Porcentaje de inflamación intersticial	Continua
Índice de actividad	Índice de actividad de Austin (0-24)	Ordinal
Índice de cronicidad	Índice de cronicidad de Austin (0-12)	Ordinal
Lesiones vasculares	Tipo de lesión vascular (ninguna, arteriosclerosis, vasculopatía lúpica, microangiopatía trombótica, necrosis fibrinoide)	Nominal
Clase de la ISN/RPS	Clasificación de la ISN/RPS	Nominal
Semilunas	Presencia o ausencia de semilunas	Nominal

### Monitoreo ambulatorio de la presión arterial

Presión arterial sistólica total	Presión sistólica promedio del registro de 24 horas	Continua
PA diastólica total	Presión diastólica promedio del registro de 24 horas	Continua
PA sistólica despierto	Presión sistólica promedio en el intervalo despierto	Continua
PA diastólica despierto	Presión diastólica promedio en el intervalo despierto	Continua
PA sistólica dormido	Presión sistólica promedio en el intervalo dormido	Continua
PA diastólica dormido	Presión diastólica promedio en el intervalo dormido	Continua
Disminución nocturna de la presión arterial sistólica	Disminución nocturna de la presión arterial sistólica (presión arterial despierto-presión arterial dormido)	Continua

Disminución nocturna de la presión arterial diastólica	Disminución nocturna de la presión arterial diastólica	Continua
Estado de dipper	Dipper (-10%), dipping reducido (-1 a -10%), dipping inverso (+1 a +10%), dipping inverso extremo (>+10%)	Nominal
<b>Ultrasonido Doppler carotideo</b>		
Pared posterior carótida común	Valor promedio en mm de la pared posterior de la carótida común	Continua
Promedio de carótida común	Promedio de los valores promedio de la pared anterior y posterior de la carótida común	Continua
Promedio de bulbo carotideo	Promedio de los valores promedio de la pared anterior y posterior del bulbo carotideo	Continua
Promedio de carótida interna	Promedio de los valores promedio de la pared anterior y posterior de la carótida interna	Continua
<b>Morfometría de vasos en la biopsia renal</b>		
Vasos evaluados	Número de vasos evaluados	Continua
Fibrosis subíntima	Porcentaje de fibrosis subíntima	Continua
Hiperplasia de la media	Medición de la hiperplasia de la media	Continua

---

## VII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

### 7.1. Cálculo del tamaño de muestra

Para el cálculo de tamaño de muestra se seleccionó el objetivo principal de correlación entre el título de AT1R-Ab y el grado de fibrosis subíntima en los vasos del tejido renal. Con un potencia de 80%, un nivel de confianza de 95% y buscando un coeficiente de correlación de 0.320 se estimó una muestra de 59 participantes. Considerando una prevalencia de AT1R-Ab de 76% de acuerdo al estudio previo, la muestra total estimada fue de 78 participantes.

Se utilizó la siguiente fórmula:

$$N = \left[ \frac{(Z_{\alpha} + Z_{\beta})}{0.5 \ln [(1+r) / (1-r)]} \right]^2 + 3$$

### 7.2. Análisis Estadístico

Para la presentación de datos descriptivos, las variables nominales se expresaron como frecuencias relativas. Se evaluó la distribución de las variables continuas mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov. Para la comparación entre los 3 grupos definidos por los niveles de AT1R-Ab, se utilizó la prueba de ANOVA con corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples en el caso de variables de distribución normal. Para variables de distribución no normal se utilizó la prueba de Kruskal Wallis, igualmente con corrección de Bonferroni para comparaciones múltiples.

Para el análisis de correlación, se realizó una transformación logarítmica de las variables con distribución no normal. Debido a que los valores de AT1R-Ab se reportaron por encima del límite de detección del ensayo, se utilizaron los valores de absorbancia los cuales fueron transformados a una escala lineal. Se reportan los valores de “r” en cada una de estas correlaciones.

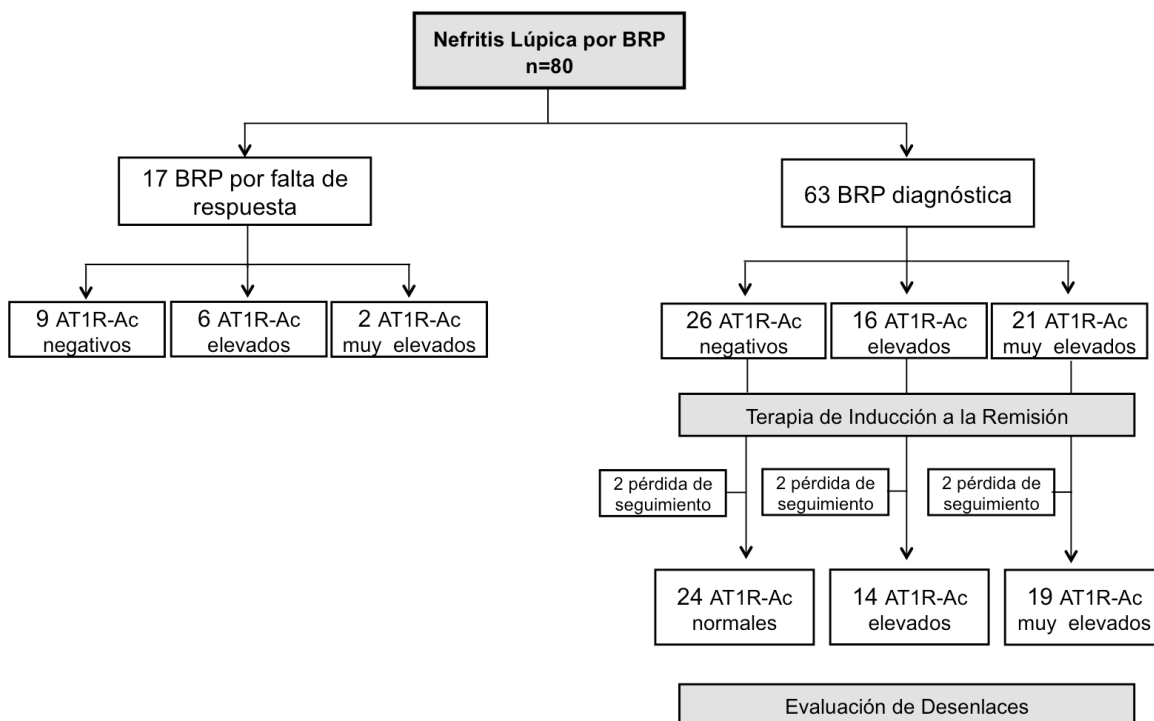
Para la evaluación de la respuesta al tratamiento entre grupos se utilizó un análisis de supervivencia y se utilizó la prueba de log-rank para comparar desenlaces entre grupos.

Se consideró un valor de p menor de 0.05 como estadísticamente significativo.

Se utilizó el programa estadístico JMP-Pro versión 12.0 (SAS Institute), así como el programa GraphPad para la presentación de figuras.

## VIII. RESULTADOS

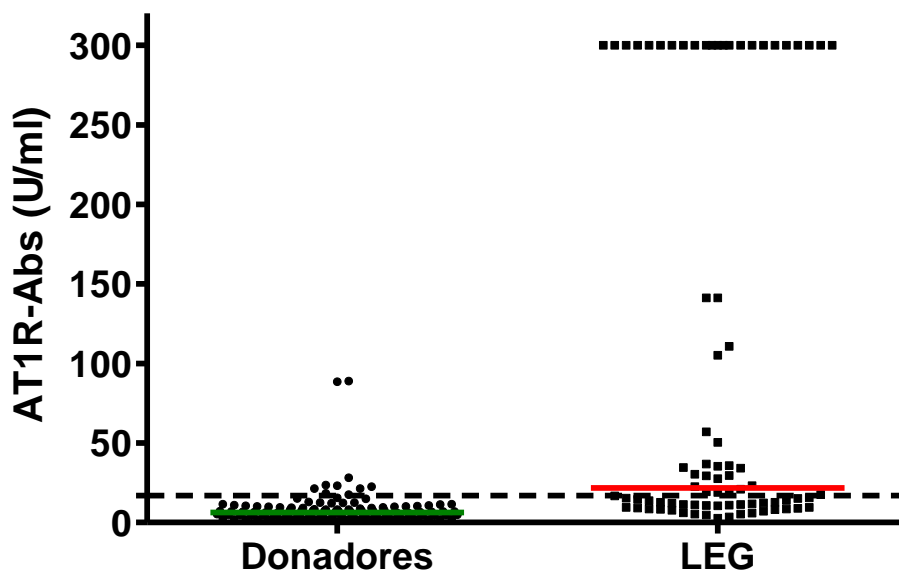
Entre marzo de 2016 y mayo de 2017 se reclutaron 80 pacientes con nefropatía lúpica diagnosticados mediante biopsia renal percutánea. De los procedimientos de biopsia renal, 63 (78.8%) fueron indicados como estudio diagnóstico ante la sospecha de nefropatía lúpica, mientras que 17 (21.2%) fueron realizados en pacientes con pobre respuesta al tratamiento de inducción previo (Figura 1).



**Figura 1.** Desglose de la cohorte de pacientes con nefropatía lúpica.

### 8.1. Prevalencia de anticuerpos contra el receptor de angiotensina II

Un total de 45 (56.3%) pacientes fueron positivos para AT1R-Ab en esta cohorte utilizando como nivel de referencia mayor de 17u/ml. Sesenta y tres (78.8%) tuvieron niveles mayores de 10u/ml. Un total de 23 (28.8%) tuvieron niveles de AT1R-Ab por arriba del límite superior de detección del ensayo, por tanto, se expresaron los niveles como mayores a 300u/ml. En la Figura 2 se puede observar la comparación entre los niveles de AT1R-Ab en pacientes con nefropatía lúpica en comparación con una cohorte de donadores renales sanos cuyos resultados han sido previamente publicados <sup>38</sup>.



**Figura 2.** Niveles de AT1R-Abs entre donadores renales y pacientes con lupus eritematoso generalizado y actividad renal. Se observó una prevalencia de 56.3%, incluyendo 23 (28.8%) pacientes con niveles por encima de 300 u/ml.

## **8.2. No se observaron diferencias en antecedentes de riesgo cardiovascular e historia de actividad de la enfermedad entre pacientes AT1R-Abs+ y AT1R-Abs-**

Para el análisis, se dividió a la población en 3 grupos: a) grupo de pacientes con valores de AT1R-Ab dentro del rango de referencia (“AT1R-Ab negativos”), b) un grupo de pacientes por encima del rango de referencia y dentro de los límites de detección del ensayo (“AT1R-Ab elevados”) y c) un grupo de pacientes con títulos de AT1R-Ab por encima del rango de referencia y por encima del límite de detección del ensayo (“AT1R-Ab muy elevados”).

Como puede observarse en la Tabla 1, no existieron diferencias significativas entre los grupos en antecedentes familiares de enfermedad cardiovascular, antecedentes personales de tabaquismo y otras comorbilidades de importancia cardiovascular, historia de actividad del lupus eritematoso generalizado, tratamiento previo.

Solamente se observó una tendencia a mayor historia de actividad articular en los grupos de pacientes con AT1R-Ab elevados ( $p=0.051$ ), así como un mayor número de pacientes con diagnóstico previo de síndrome antifosfolípidos en el grupo de AT1R-Ab muy elevados ( $p=0.041$ ).



**Tabla 1. Historia de enfermedad cardiovascular y factores de riesgo cardiovascular en la cohorte de paciente incluidos en el estudio**

	Niveles de AT1R-Abs			Valor p
	Negativos (<17u/ml) n=35	Elevados (17-250u/ml) n=22	Muy elevados (>300u/ml) n=23	
Edad, años	30 (23-36)	26 (24-38)	31 (22-36)	0.933
Sexo femenino	32 (91.4)	19 (86.4)	20 (87.0)	0.798
Tabaquismo	3 (8.6)	0 (0)	2 (8.7)	0.508
<b>Historia familiar de enfermedad cardiovascular</b>				
Diabetes	15 (42.9)	12 (54.5)	13 (56.5)	0.525
Hipertensión	17 (48.6)	13 (59.1)	16 (69.5)	0.282
Cardiopatía isquémica	5 (14.3)	5 (22.7)	4 (17.4)	0.703
EVC	1 (2.9)	2 (9.1)	0 (0)	0.351
TVP	0 (0)	1 (4.5)	0 (0)	0.275
<b>Historia personal de enfermedad cardiovascular</b>				
Diabetes	2 (5.7)	1 (4.5)	3 (13.0)	0.559
Hipertensión	9 (25.7)	3 (13.6)	4 (17.4)	0.562
Cardiopatía isquémica	0 (0)	1 (4.5)	0 (0)	0.275
EVC	0 (0)	1 (4.5)	1 (4.3)	0.313
TVP	1 (2.9)	1 (4.5)	0 (0)	0.745
Dislipidemia	7 (20.0)	3 (13.6)	4 (17.4)	0.930
<b>Historia de lupus eritematoso generalizado y otras comorbilidades</b>				
Meses de evolución	33 (3-208)	63 (30-111)	48 (5-87)	0.508
Tipo de actividad				
Mucocutánea	29 (82.3)	21 (95.5)	20 (87.0)	0.374
Neurológica	3 (8.6)	2 (9.1)	1 (4.3)	0.879
Articular	26 (74.3)	21 (95.5)	20 (87.0)	0.051
Cardiovascular	5 (14.3)	1 (4.5)	6 (26.1)	0.121
Vasculitis	2 (5.7)	1 (4.5)	2 (8.7)	1.000
Hematológica	22 (62.9)	14 (63.6)	16 (69.6)	0.861
Síndrome antifosfolípido	3 (8.6)	0 (0)	5 (21.7)	0.041
Años de uso de esteroides	0.6 (0-2)	1.2 (0.3-2.3)	1 (0-5)	0.588
<b>Inmunosupresión de inducción utilizada previamente</b>				
Ninguna	15 (42.9)	9 (40.9)	10 (43.5)	0.531
MMF	11 (31.4)	10 (45.5)	11 (47.8)	0.381
CYP	10 (28.6)	6 (27.3)	3 (13.0)	0.358
Rituximab	6 (17.1)	1 (4.5)	0 (0)	0.056
AZA	6 (17.1)	7 (31.8)	6 (26.1)	0.427
<b>Fármacos bloqueadores del sistema renina angiotensina utilizados previamente</b>				
Ninguna	12 (34.3)	6 (27.3)	9 (39.1)	0.755
IECA	10 (28.6)	5 (22.7)	8 (34.8)	
ARA	6 (17.1)	5 (22.7)	4 (17.4)	
Doble bloqueo	7 (20.0)	6 (27.3)	2 (8.7)	

**Abreviaturas.** EVC, evento vascular cerebral; TVP, trombosis venosa profunda; MMF, mofetil micofenolato; CYP, ciclofosfamida; AZA, azatioprina.

### **8.3. La presentación clínica de la nefropatía lúpica es similar entre pacientes AT1R-Abs+ y AT1R-Abs-, sin embargo, los hallazgos serológicos son distintos**

En la Tabla 2 se incluyen las características del episodio de nefropatía lúpica. Como puede observarse, se observó una tendencia ( $p=0.101$ ) a un mayor puntaje en la escala de SLEDAI2K entre los grupos AT1R-Ab negativos (11 puntos, RIC 8-17) los grupos AT1R-Ab elevados (16 puntos, RIC 10-18) y AT1R-Ab muy elevados (15 puntos, RIC 10-19). La diferencia en el puntaje de actividad estuvo dada por los puntos asignados a la actividad serológica (anticuerpos contra DNA de doble cadena [dsDNA-Abs], proteínas C3 y C4 del complemento).

El nivel de dsDNA-Abs fue significativamente mayor en los grupos de pacientes con AT1R-Ab elevados (144.8u/ml, RIC 67.6-460.4) y AT1R-Ab muy elevados (506.7u/ml, RIC 178.7-1199), en comparación con el grupo AT1R-Ab negativo (29.8u/ml, RIC 10.3-72.1). Se observa un gradiente en donde aquellos pacientes con mayores títulos de AT1R-Ab tuvieron también mayores títulos de dsDNA (Figura 3).

Las proteínas C3 y C4 del complemento mostraron niveles séricos significativamente más bajos en los grupos AT1R-Ab elevados (C3 69u/ml, RIC 42-93, C4 8.5u/ml, RIC 7.5-12.3) y AT1R-Ab muy elevados (C3 55u/ml, RIC 41-79; C4 8u/ml, RIC 8-10) en comparación con el grupos de AT1R-Ab negativos (C3 79u/ml, RIC 57-110; C4 14u/ml, RIC 8-29).

No se observaron diferencias entre las características clínicas ni de laboratorio en el episodio de nefropatía lúpica entre los 3 grupos de pacientes.

**Tabla 2. Características del episodio de nefropatía lúpica**

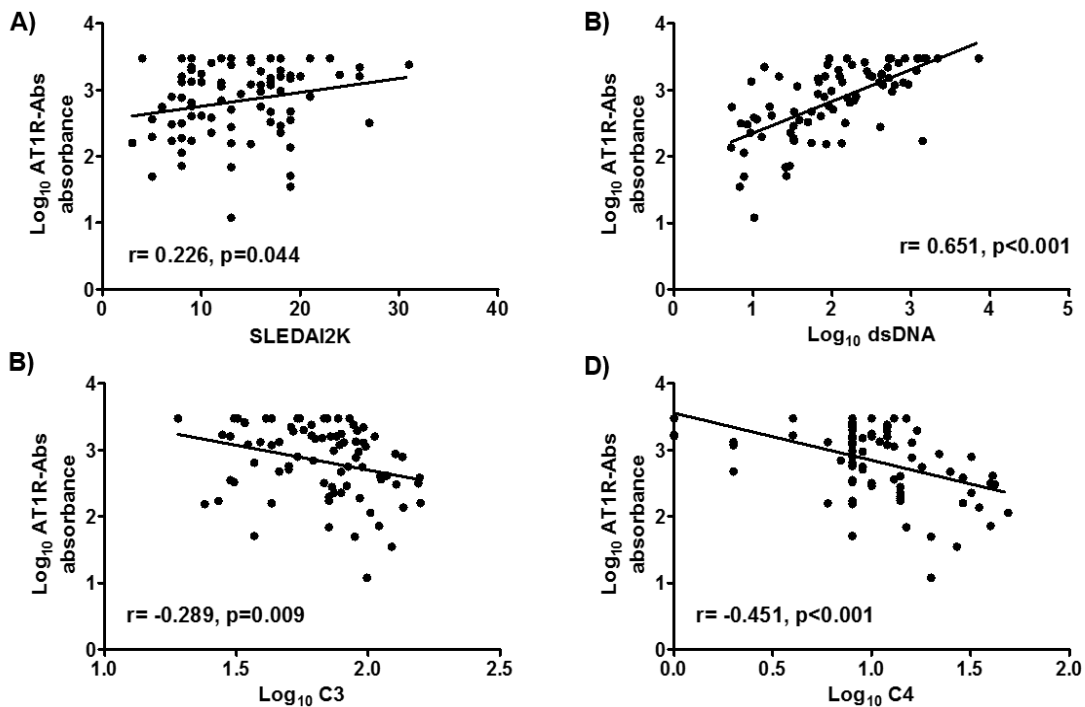
	Niveles de AT1R-Abs			Valor p
	Negativos (<17u/ml) n=35	Elevados (17-250u/ml) n=22	Muy elevados (>300u/ml) n=23	
<b>Indicación de la biopsia renal percutánea</b>				
Diagnóstica	26 (74.3)	16 (72.7)	21 (91.3)	0.235
Falta de respuesta	9 (25.7)	6 (27.3)	2 (8.7)	
<b>Exploración física en la visita inicial</b>				
IMC, kg/m <sup>2</sup>	24.2 (21.6-28.1)	26.2 (23.5-30.2)	25.3 (22.7-27.1)	0.176
Presión sistólica, mmHg	130 (120-140)	128 (120-150)	120 (110-140)	0.367
Presión diastólica, mmHg	80 (70-90)	80 (70-90)	80 (70-90)	0.967
Presión arterial media, mmHg	96.7 (86-107)	93 (87-107)	93 (93-107)	0.933
<b>Variables de laboratorio en el episodio de nefropatía lúpica</b>				
Hemoglobina, g/dl	11.9 (10.9-13.3)	12.1 (10.4-13.7)	11.7 (9.5-13.0)	0.442
Plaquetas, mm <sup>3</sup>	250 (158-322)	254 (175-303)	212 (154-277)	0.373
Leucopenia <4000/mm <sup>3</sup>	5 (14.3)	4 (18.2)	6 (26.1)	0.529
Linfopenia <1500/mm <sup>3</sup>	20 (57.1)	15 (68.2)	16 (69.6)	0.609
Creatinina sérica, mg/dl	1.2 (0.7-2.2)	0.9 (0.7-1.5)	1.2 (0.6-2.0)	0.707
TFGe, ml/min/1.73	73 (35-106)	104 (57-124)	63 (3-135)	0.427
BUN, mg/dl	21.5 (13.8-39.7)	23.8 (14.1-34.7)	35.1 (11.9-47.1)	0.929
Proteinuria g/24h	3.9 (1.9-6.1)	3.9 (1.8-5.3)	2.9 (1.5-3.7)	0.203
Proteinuria/creatinuria, g/g	3.4 (2.3-5.2)	3.3 (1.8-6.9)	2.5 (1.7-4.5)	0.584
Hematuria, n (%)	23 (65.7)	16 (72.7)	15 (65.2)	0.867
Piuria, n (%)	17 (48.6)	12 (54.5)	15 (65.2)	0.487
Albúmina, g/dl	2.9 (2.1-3.7)	3.0 (2.3-3.6)	2.8 (2.3-3.5)	0.962
Triglicéridos, mg/dl	220 (140-163)	224 (158-246)	230 (177-286)	0.757
Colesterol total, mg/dl	204 (180-265)	228 (190-272)	203 (187-242)	0.463
HDL-colesterol, mg/dl	48 (42-66)	46 (40-53)	41 (34-51)	0.048
No-HDL colesterol, mg/dl	154 (133-189)	170 (147-231)	166 (144-199)	0.349
<b>Estudios serológicos en el episodio de nefropatía lúpica</b>				
Anticuerpos dsDNA, u/ml	29.8 (10.3-72.1)	144.8 (67.6-460.4)	506.7 (178.7-1199)	<0.001
Proteína C3, u/ml	79 (57-110)	69.5 (42-93)	55 (41-79)	0.025
Proteína C4, u/ml	14 (8-29)	8.5 (7.8-12.3)	8 (8-10)	<0.001
<b>Escalas de actividad de la nefropatía lúpica</b>				
SLEDAI2K, puntaje	11 (8-17)	16 (10-18)	15 (10-19)	0.101
SLICC, puntaje	1 (0-2)	1 (0-2)	1 (0-2)	0.396

**Abreviaturas.** IMC, índice de masa corporal; TFGe, tasa de filtración glomerular estimada; BUN, nitrógeno ureico en suero; dsDNA, DNA de doble cadena.

#### 8.4. Los niveles de AT1R-Ab correlacionan con la actividad serológica del lupus eritematoso generalizado

Dadas las diferencias observadas en los niveles de AT1R-Abs entre los pacientes positivos y negativos para estos anticuerpos se realizó un análisis de correlación. Como se mencionó en la sección de análisis estadístico, debido a que algunos valores de AT1R-Abs se reportaron por encima del límite superior del ensayo, se utilizaron los valores de absorbancia transformados logarítmicamente.

Como se observa en la Figura 3, hubo una correlación positiva entre los AT1R-Abs y el puntaje de la escala SLEDAI2K ( $r=0.226$ ,  $p=0.044$ ). Esta escala incluye ítems que puntúan la serología de dsDNA-Abs y niveles de complemento. Al disecar esta puntuación se concluyó que el puntaje estaba principalmente determinado por los ítems serológicos. Los niveles de AT1R-Abs correlacionaron positivamente con los niveles de dsDNA-Abs ( $r=0.651$ ,  $p<0.001$ ) y negativamente con los niveles de C3 ( $r=-0.289$ ,  $p=0.009$ ) y los niveles de C4 ( $r=-0.451$ ,  $p<0.001$ ).



**Figura 3.** Correlación entre los AT1R-Abs y A) puntaje de la escala SLEDAI2K, B) nivel sérico de dsDNA-Abs, C) nivel sérico de proteína C3 y D) nivel sérico de proteína C4.

### 8.5. No existen diferencias en los parámetros histológicos entre los pacientes AT1R-Abs+ y AT1R-Abs-

En la Tabla 3 se muestra la comparación de las características histopatológicas del análisis de la biopsia renal percutánea. No se observaron diferencias significativas entre los tres grupos de pacientes de acuerdo al nivel de AT1R-Abs.

**Tabla 3.** Histopatología de la biopsia renal de acuerdo a los AT1R-Abs

Variable Histopatológica	Niveles de AT1R-Abs			Valor p
	Referencia (<17u/ml) n=35	Alto (17-300u/ml) n=22	Muy alto (>300u/ml) n=23	
Glomérulos evaluados, n (%)	16 (11-22)	17 (12-22)	16 (12-22)	0.981
Esclerosis global, %	13.6 (0-42.1)	7.8 (0-16.8)	11.8 (4-17.9)	0.537
Esclerosis segmentaria, %	5.4 (0-31.6)	23.3 (4.4-28.6)	8.3 (0-13.3)	0.137
Fibrosis intersticial, %	20 (10-50)	18 (5-33)	15 (10-20)	0.407
Atrofia tubular, %	20 (10-50)	18 (5-30)	15 (10-20)	0.480
Inflamación intersticial, %	10 (5-20)	10 (5-19)	15 (10-25)	0.455
<b>Clasificación de la ISN/RPS</b>				0.394
Clase III	1 (2.9)	2 (9.1)	4 (19.0)	
Clase IV	1 (2.9)	0 (0)	1 (4.8)	
Clase V	6 (17.6)	2 (9.1)	1 (4.8)	
Clase III+V	9 (26.5)	6 (27.3)	8 (38.1)	
Clase IV+V	18 (52.9)	12 (54.5)	9 (39.1)	
<b>Actividad y Cronicidad</b>				
Índice de actividad	2 (1-6)	4 (1-10)	5 (1-10)	0.286
Índice de cronicidad	4 (2-7)	4 (3-6)	3 (2-5)	0.528
<b>Lesiones vasculares asociadas</b>				0.061
Ninguna	6 (17.1)	3 (13.6)	8 (34.8)	
Esclerosis arteriolar	23 (65.7)	16 (72.7)	10 (43.5)	
Vasculopatía lúpica	2 (5.7)	2 (9.1)	1 (4.3)	
Microangiopatía trombótica	4 (11.4)	1 (4.5)	2 (8.7)	
Necrosis fibrinoide	0	0	2 (8.7)	

\* Variables expresadas como n (%)

## 8.6. No existe correlación entre los títulos de AT1R-Abs y el nivel de presión arterial mediante monitoreo ambulatorio

Se realizó un estudio adecuado de monitoreo ambulatorio de la presión arterial (MAPA) en 52 de los 80 pacientes (65.0%). Se encontró un resultado anormal en 40 (76.9%) de los 52 estudios realizados, principalmente determinado por una disminución en el descenso nocturno de la presión arterial. Un total de diez (19.2%) pacientes mostraron un descenso normal ("dippers"), 30 (57.7%) un descenso disminuido ("mild dippers") y 12 (23.1%) ausencia de descenso ("non-dippers"). Los fenómenos de ausencia o reducción de "dipping" ocurrieron tanto en pacientes con historia previa de hipertensión en manejo como en aquellos sin diagnóstico previo.

El segundo fenómeno mayormente observado y asociado a la ausencia o reducción de "dipping" fue la presencia de hipertensión diastólica nocturna, observado en 21 (40.4%) pacientes, de los cuales ocho correspondieron al grupo con diagnóstico previo de hipertensión (61.5% de ellos) y 13 al grupo sin diagnóstico de hipertensión (33.3% de ellos).

**Tabla 4.** Estudio de Monitoreo Ambulatorio de la Presión Arterial (MAPA)

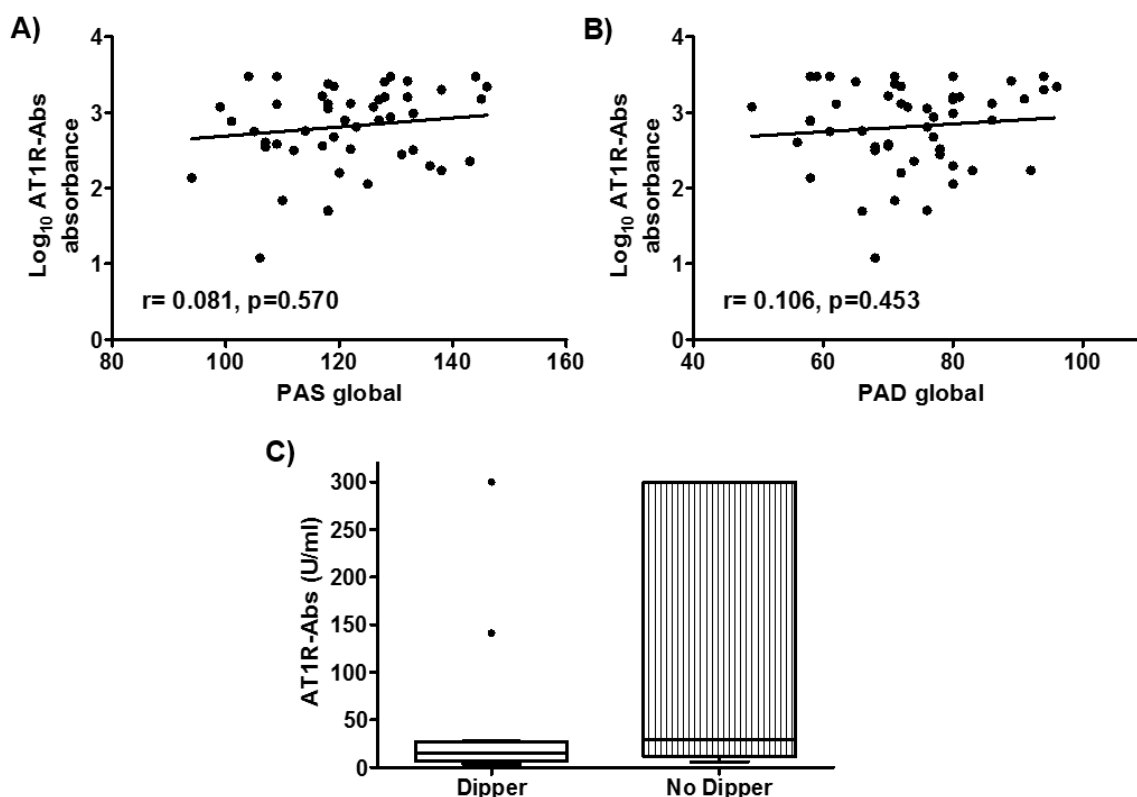
Parámetros del MAPA	Niveles de AT1R-Abs			Valor p
	Referencia (<17u/ml) n=35	Alto (17-300u/ml) n=22	Muy alto (>300u/ml) n=23	
Adecuado	23 (65.7)	16 (72.7)	13 (56.5)	0.519
Presión sistólica global	118 (109-131)	127 (118-131)	119 (107-135)	0.648
Presión sistólica despierto	120 (109-129)	127 (120-132)	121 (107-136)	0.559
Presión sistólica dormido	115 (106-127)	122 (113-128)	119 (106-137)	0.574
Presión diastólica global	72 (68-78)	79 (65-81)	71 (63-92)	0.555
Presión diastólica despierto	73 (68-80)	79 (64-82)	73 (63-93)	0.709
Presión diastólica dormido	69 (61-77)	73 (65-84)	72 (63-90)	0.695
Disminución sistólica nocturno	-3.9 (-1.8 a -8.2)	-2.9 (-7.5-+1.0)	-3.8 (-5.1 a -0.1)	0.729
Disminución diastólica	-6.3 (-0.9 a -8.9)	-3.2 (-8.5+5.9)	-2.8 (-6.1 a +1.9)	0.364
Descenso nocturno				
Descenso normal	6 (17.1)	3 (13.6)	3 (13.0)	0.654
Descenso disminuido	13 (37.1)	8 (36.4)	9 (39.1)	
Sin descenso	4 (11.4)	5 (22.7)	3 (13.0)	

Abreviaturas: PAS, presión arterial sistólica; PAD, presión arterial diastólica

Se realizó un nuevo diagnóstico de hipertensión en 13 pacientes (33.3%) previamente no diagnosticados, correspondiendo la mayoría de los casos a hipertensión enmascarada (*masked hypertension*) que no fue detectada durante la toma de presión arterial realizada durante la exploración física de la primera visita. Por otra parte, en 8 de los 13 pacientes con hipertensión se encontró descontrol hipertensivo (principalmente nocturno), correspondiendo seis de estos ocho casos a hipertensión no controlada enmascarada (*masked uncontrolled hypertension*).

No se observaron diferencias en las cifras de presión arterial sistólica o diastólica durante el día o la noche entre los tres grupos de pacientes. Igualmente, no existió diferencia en el número de “dippers” entre los grupos (Tabla 4). En esta misma línea, no se encontró correlación entre los títulos de AT1R-Abs y ninguna de las cifras de presión arterial del MAPA (Figura 4).

**Figura 4.** Correlación entre niveles de AT1R-Abs y presión arterial sistólica (A) y diastólica (B). Nivel



de AT1R-Abs entre pacientes con y sin fenómeno de “dipping” (C).

## 8.7. No existe correlación entre los AT1R-Abs y el grosor íntima-media de los vasos del cuello

Se realizaron estudios de ultrasonido Doppler carotideo con mediciones adecuadas en 64 pacientes (80%). Se registraron mediciones de las paredes anterior y posterior de arteria carótida común (ACC), bulbo carotideo (BC) y arteria carótida interna (ACI).

El promedio de las 12 mediciones fue de  $0.527 \pm 0.080$  mm para los pacientes negativos para AT1R-Ab,  $0.524 \pm 0.087$  mm para los pacientes con AT1R-Ab elevados y  $0.589 \pm 0.093$  mm para los pacientes con AT1R-Ab muy elevados ( $p=0.073$ ). De acuerdo a los valores de referencia del estudio CARMELA <sup>47</sup>, de acuerdo al rango de edad de los pacientes se observaron valores mayores del percentil 75 en cinco (7.8%) pacientes, tres de ellos en el grupo de AT1R-Ab muy elevados ( $p=0.081$ ). Sin embargo, no se encontraron diferencias en la medición de la pared posterior de la arteria carótida común ( $p=0.162$ ), que corresponde a la región mejor validada.

**Tabla 6.** Mediciones de grosor íntima media entre los grupos de pacientes AT1R-Ab

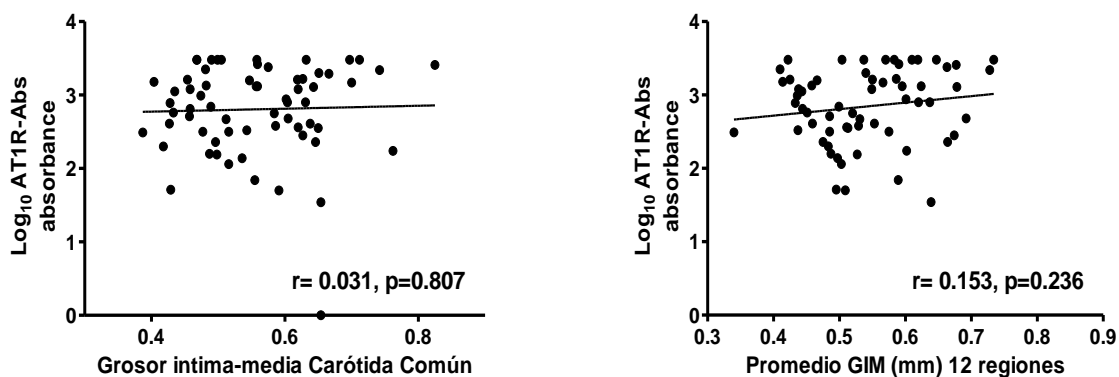
Parámetros del ultrasonido Doppler	Niveles de AT1R-Abs			Valor p
	Referencia (<17u/ml) n=35	Alto (17-300u/ml) n=22	Muy alto (>300u/ml) n=23	
Adecuado	29 (82.9)	18 (81.8)	17 (73.9)	0.685
Carótida anterior izquierda	0.498(0.404-0.544)	0.480 (0.414-0.502)	0.524 (0.418-0.642)	0.152
Carótida posterior izquierda	0.514 (0.457-0.600)	0.512 (0.458-0.630)	0.603 (0.495-0.699)	0.228
Bulbo anterior izquierda	0.535 (0.471-0.625)	0.536 (0.424-0.653)	0.604 (0.527-0.684)	0.348
Bulbo posterior izquierda	0.604 (0.538-0.652)	0.619 (0.482-0.746)	0.703 (0.594-0.798)	0.108
Carótida interna anterior izq.	0.446 (0.401-0.582)	0.413 (0.391-0.579)	0.567 (0.414-0.620)	0.125
Carótida interna post. izq.	0.523 (0.430-0.613)	0.502 (0.411-0.502)	0.593 (0.504-0.697)	0.076
Carótida anterior derecha	0.498 (0.423-0.529)	0.486 (0.408-0.575)	0.552 (0.432-0.606)	0.311
Carótida posterior derecha	0.513 (0.446-0.645)	0.511 (0.417-0.628)	0.611 (0.474-0.648)	0.455
Bulbo anterior derecha	0.572 (0.428-0.629)	0.510 (0.422-0.612)	0.603 (0.456-0.664)	0.352
Bulbo posterior derecha	0.605 (0.500-0.695)	0.525 (0.385-0.673)	0.626 (0.510-0.718)	0.411
Carótida interna anterior der.	0.468 (0.383-0.532)	0.479 (0.394-0.539)	0.542 (0.417-0.635)	0.211
Carótida interna post. Der.	0.503 (0.411-0.591)	0.550 (0.416-0.649)	0.602 (0.502-0.684)	0.049
Promedio de 12 mediciones	0.511 (0.484-0.582)	0.524 (0.437-0.606)	0.588 (0.537-0.659)	0.073
Promedio carótida posterior	0.536 (0.467-0.654)	0.552 (0.457-0.619)	0.575 (0.495-0.682)	0.162
Carótida común >75th	1 (3.4)	1 (5.6)	3 (17.6)	0.081



En la Tabla 6 se muestran las mediciones individuales de acuerdo a la positividad de AT1R-Abs. Solamente se observaron diferencias en el grosor de la carótida interna posterior derecha siendo mayor en el grupo con AT1R-Ab muy elevados. Así mismo, se observó una tendencia a un mayor grosor al promediar las 12 valoraciones así como en el número de pacientes que superaron el percentil 75 de los valores de referencia.

La Figura 6 muestra la ausencia de correlación entre AT1R-Abs, el promedio de medición en la pared posterior de la arteria carótida común y el promedio de las mediciones en las 12 regiones evaluadas.

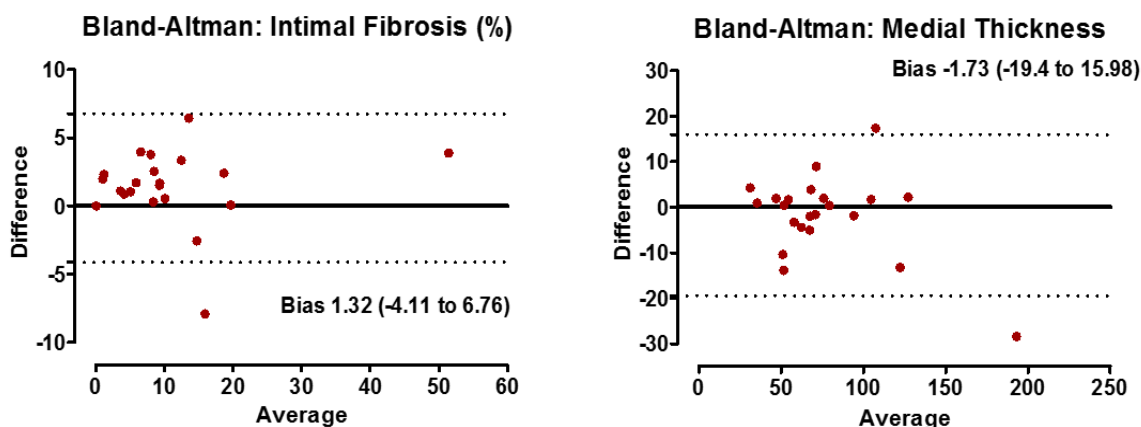
**Figura 6.** Correlación entre el título de AT1R-Abs y el promedio de grosor íntima-media carotideo de la pared posterior de la arteria carótida común y del promedio de las mediciones en las 12 regiones.



### 8.8. Las lesiones microvasculares de la biopsia renal percutánea no correlacionan con los títulos de AT1R-Ab

Además del reporte histopatológico por la valoración en la microscopía de luz, se realizó morfometría para medir el porcentaje de fibrosis subíntima y el grosor de la capa media de arteriolas observados en la biopsia renal percutánea.

Estas valoraciones fueron realizadas por dos patólogos independientes. Para ello, se valoró previamente la concordancia en las mediciones en 25 de las biopsias renales percutáneas del estudio. En la Figura 7 se muestran los gráficos de Bland-Altman. La diferencia de medias fue de 1.32 (IC al 95% -4.11 a 6.76) para el caso de la medición de fibrosis subíntima y de -1.73 (IC 95% -19.4 a 15.98) para la medición del grosor de la capa media. El coeficiente de correlación intraclase fue de 0.961 (IC 95% 0.911-0.983) para el cálculo de la fibrosis subíntima y de 0.970 (IC 95% 0.930-0.987) para el cálculo del grosor de la media.

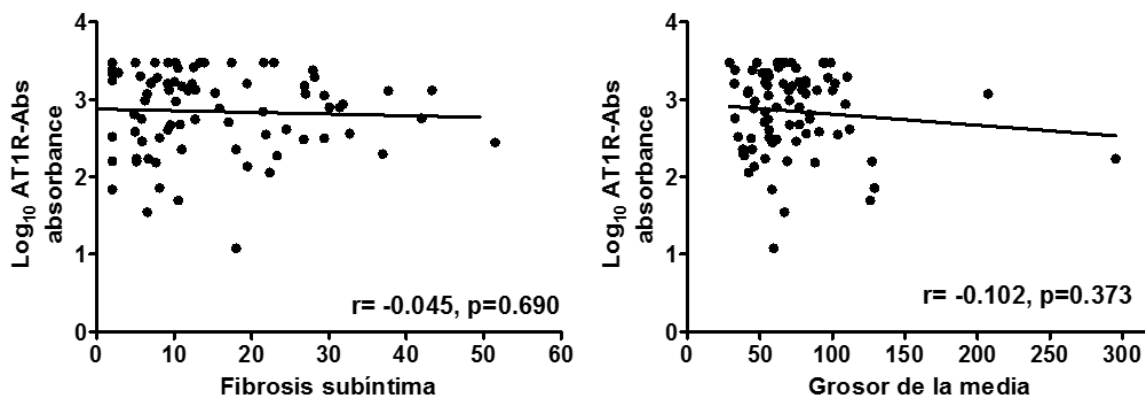


**Figura 7.** Gráficos de Bland y Altman para la evaluación de concordancia entre los 2 patólogos que realizaron la morfometría de las biopsias renales percutáneas.

En la Tabla 8 se observan los resultados de la morfometría renal de acuerdo a los tres grupos de AT1R-Ab. Se observó un mayor porcentaje de fibrosis subíntima en el grupo de pacientes con AT1R-Ab elevado, sin embargo, no existió diferencia en este porcentaje entre los pacientes negativos y el grupo con AT1R-Ab muy elevado. Adicionalmente, la diferencia fue únicamente de 4%, la cual cayó dentro de los límites de concordancia del gráfico de Bland-Altman (Figura 7). En la Figura 8 se muestra la ausencia de correlación entre los títulos de AT1R-Ab y el porcentaje de fibrosis subíntima y/o grosor de la capa media de las arteriolas glomerulares.

**Tabla 7.** Valoración morfométrica de los vasos de la biopsia renal percutánea.

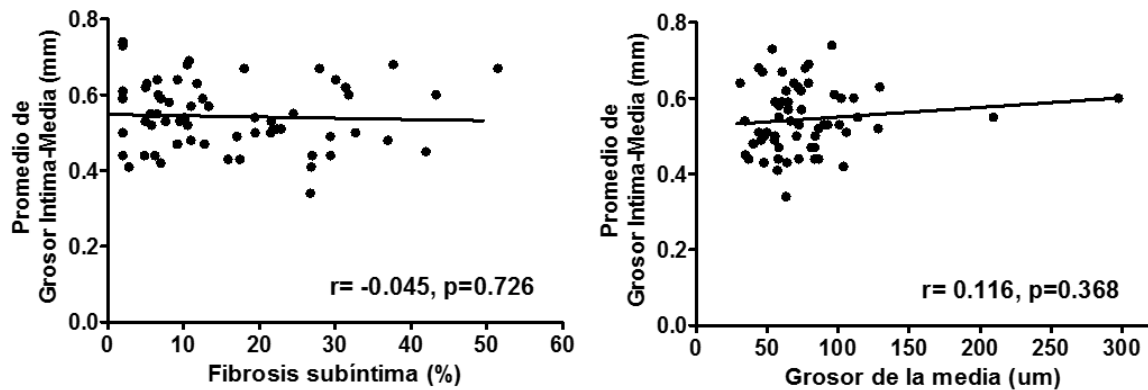
	Niveles de AT1R-Abs			Valor p
	Referencia (<17u/ml) n=35	Alto (17-300u/ml) n=22	Muy alto (>300u/ml) n=23	
Número de vasos evaluados	3 (2-4)	3 (2-4)	3 (2-4)	0.348
Fibrosis subíntima (%)	8.6 (3.8-20.6)	13.6 (8.0-27.6)	7.2 (0.8-11.9)	0.017
Hiperplasia de la media, $\mu$ m	60.3 (45.6-85.2)	70.0 (51.7-83.4)	62.8 (53.5-81.4)	0.926



**Figura 8.** Gráficos de correlación entre títulos de AT1R-Abs, el porcentaje de fibrosis subíntima (A) y el grosor de la capa media (B).

### 8.9. Correlación entre los datos de daño vascular en el tejido de biopsia renal percutánea y los vasos carotídeos

No se observó correlación entre el daño vascular observado en la microvasculatura renal y el daño observado en vasos carotídeos (de gran calibre) en este grupo de pacientes (Figura 9)

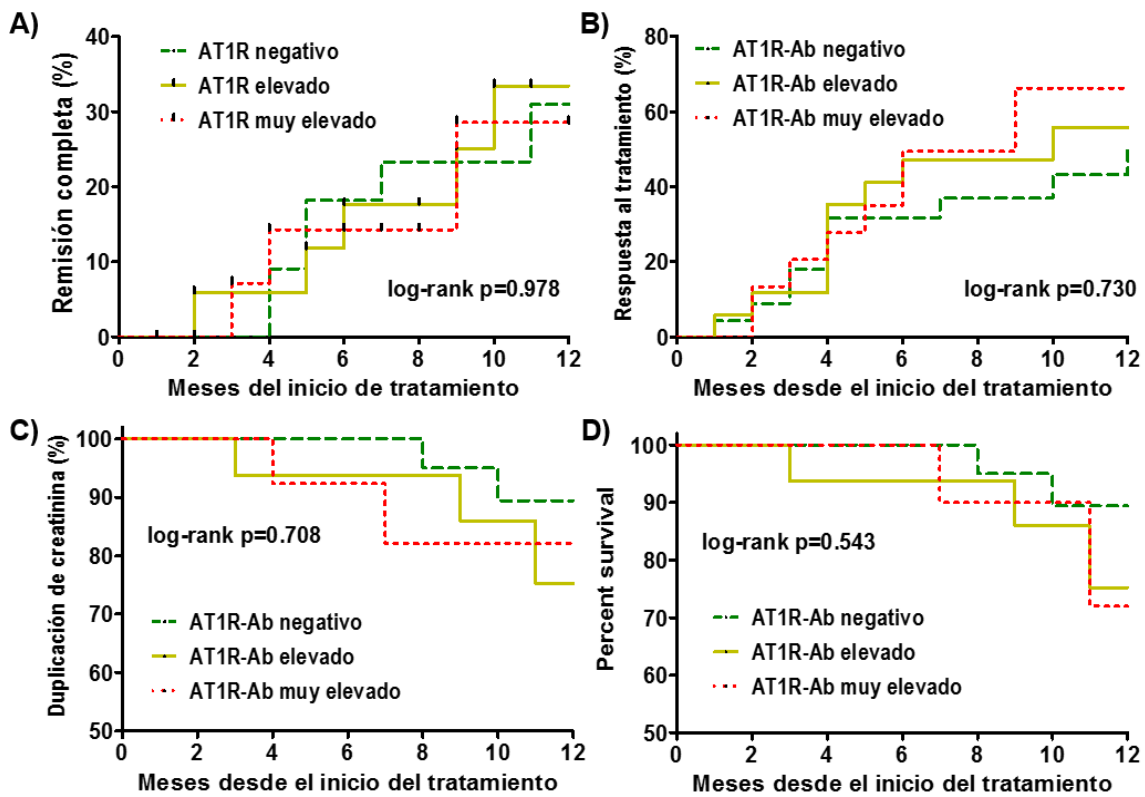


**Figura 9.** Gráficos de correlación entre el análisis morfométrico de los vasos de la biopsia renal percutánea y el grosor íntima-media carotídeo valorado por ultrasonido Doppler.

### 8.10. Niveles basales de AT1R-Ab y respuesta al tratamiento de inducción

Un total de 59 pacientes (73.8%) completaron el tratamiento inmunosupresor de inducción a la remisión. Se evaluó si los niveles basales de AT1R-Ab tuvieron alguna asociación predictora del desenlace renal, ya sea de respuesta al tratamiento como de progresión de la enfermedad renal.

En la Figura 10 se muestran las curvas de supervivencia. Como se observa, los niveles de AT1R-Ab previos al inicio de la inmunosupresión no se asociaron con respuesta al tratamiento ni con progresión de la enfermedad. Sin embargo, el tamaño de la muestra para realizar este análisis fue baja por grupo y para el tiempo de seguimiento, que únicamente fue de 12 meses.



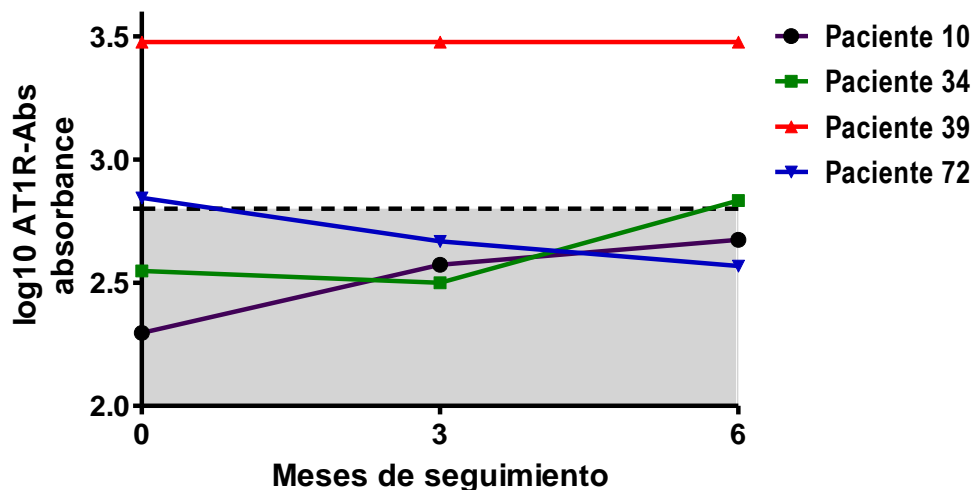
**Figura 10.** Evaluación de parámetros de respuesta y progresión renal de acuerdo al nivel basal de AT1R-Ab: A) remisión completa, B) respuesta al tratamiento, C) duplicación de creatinina y D) enfermedad renal crónica terminal.

### 8.11. Los anticuerpos AT1R no siguen un curso predecible con el tratamiento inmunosupresor

De los 80 pacientes reclutados, se analizaron los niveles de AT1R a los tres y seis meses de seguimiento en 40 pacientes (50%). De estos pacientes se incluyeron cuatro pacientes en quienes no se incrementó la intensidad del tratamiento inmunosupresor debido a la cronicidad de la enfermedad, 6 pacientes en quienes el tratamiento inmunosupresor fue irregular y 31 pacientes quienes completaron el tratamiento inmunosupresor con un régimen adecuado.

Entre los pacientes en quienes no se incrementó el tratamiento inmunosupresor, dos pacientes fueron negativos para AT1R basalmente y permanecieron con niveles negativos, un paciente con niveles limítrofes disminuyó los niveles AT1R durante el seguimiento. Interesantemente, una paciente con niveles por encima del límite de detección del ensayo, permaneció con niveles muy elevados a los tres y seis meses del seguimiento a pesar de encontrarse en tratamiento con hemodiálisis (Figura 11). En esta paciente se valoraron nuevamente los niveles de AT1R a los 12 meses de seguimiento y permanecieron en el límite superior de detección.

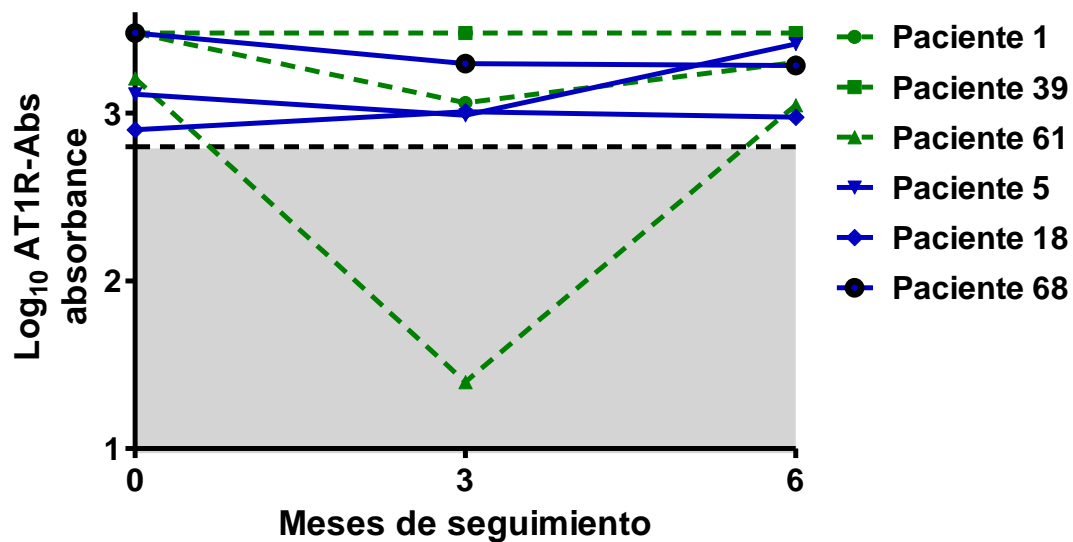
**Figura 11.** Seguimiento de los niveles de AT1R-Abs en cuatro pacientes en quienes no se incrementó la



inmunosupresión debido a la cronicidad del daño renal.

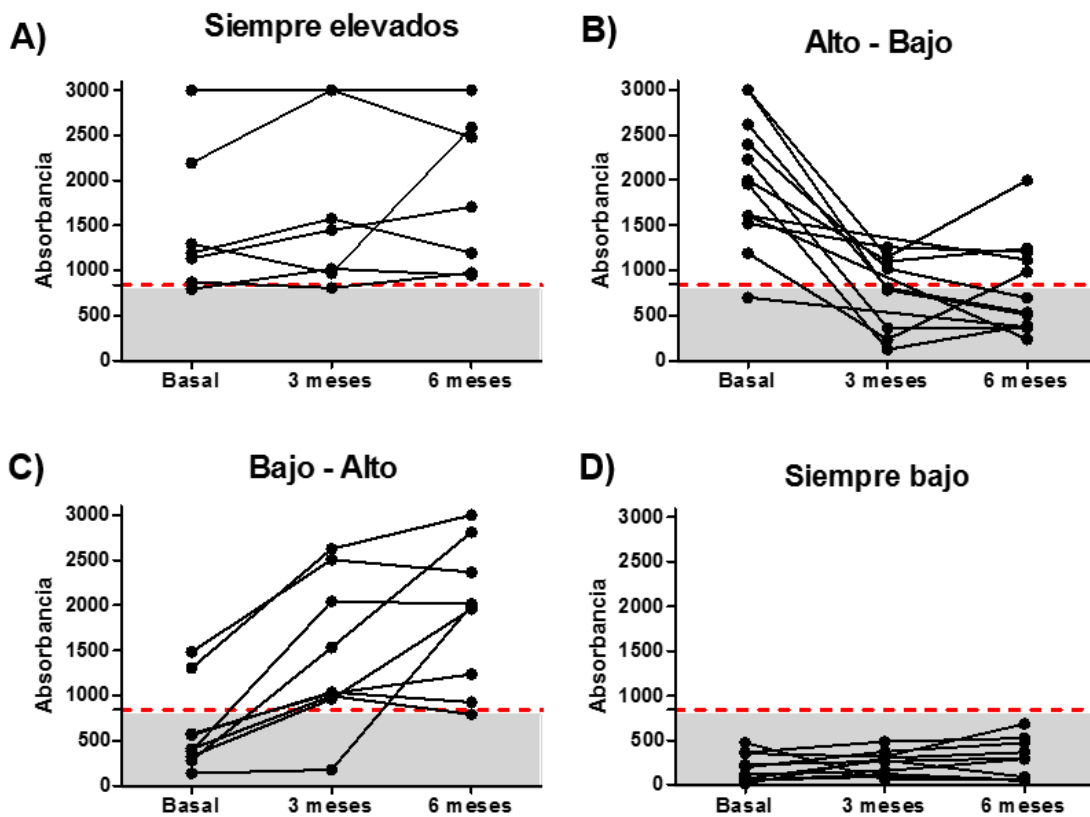
Se identificaron seis pacientes en quienes el tratamiento inmunosupresor fue irregular. Tres casos correspondieron a pacientes tratados con mofetil micofenolato y quienes tuvieron pobre apego mientras que tres casos correspondieron a pacientes tratados inicialmente con ciclofosfamida intravenosa y en quienes se retrasó la administración de bolos subsecuentes.

En este grupo de pacientes, cinco pacientes positivos para AT1R-Ab se mantuvieron con niveles elevados durante el seguimiento sugiriendo una inmunosupresión insuficiente. El paciente 61 suspendió el tratamiento inmunosupresor con mofetil micofenolato; tras un descenso inicial del título de AT1R-Ab, se observó un aumento entre el mes tercero y sexto (Figura 12).



**Figura 12.** Comportamiento de AT1R-Ab en el seguimiento en seis pacientes con tratamiento inmunosupresor irregular. Las líneas punteadas representan pacientes tratados con MMF y las líneas continuas pacientes tratados con CYP.

En el grupo de 31 pacientes quienes completaron seis meses con un tratamiento de inducción a la remisión adecuado y completo, el comportamiento de los AT1R-Ab fue muy poco predecible. Para su análisis se dividió a los pacientes en cuatro patrones que se muestran en la Figura 13: A) pacientes con AT1R-Ab que se mantuvieron elevados durante todo el seguimiento, B) pacientes con AT1R-Ab inicialmente elevados en quienes los títulos disminuyeron con la inmunosupresión, C) pacientes con AT1R-Ab progresivamente mayores y D) pacientes en quienes los AT1R-Ab se mantuvieron estables y negativos durante el seguimiento.



**Figura 13.** Patrones de comportamiento de AT1R-Ab en respuesta a la inmunosupresión.



Al analizar de acuerdo a la división mencionada, no se encontraron diferencias significativas en los parámetros de evaluación cardiovascular entre los cuatro grupos. Únicamente se encontró diferencia en los niveles de anticuerpos contra DNA de doble cadena, permaneciendo elevados en el grupo “alto-alto” durante el seguimiento y con menor nivel en el grupo “bajo-bajo”. Para las proteínas C3 y C4 del complemento solamente se encontró una diferencia entre los niveles basales entre los 4 grupos, sin embargo, las diferencias se perdieron a los tres y seis meses (Tabla 8).

**Tabla 8.** Niveles de anticuerpos y proteínas del complemento de acuerdo a los grupos de comportamiento de los AT1R-Ab.

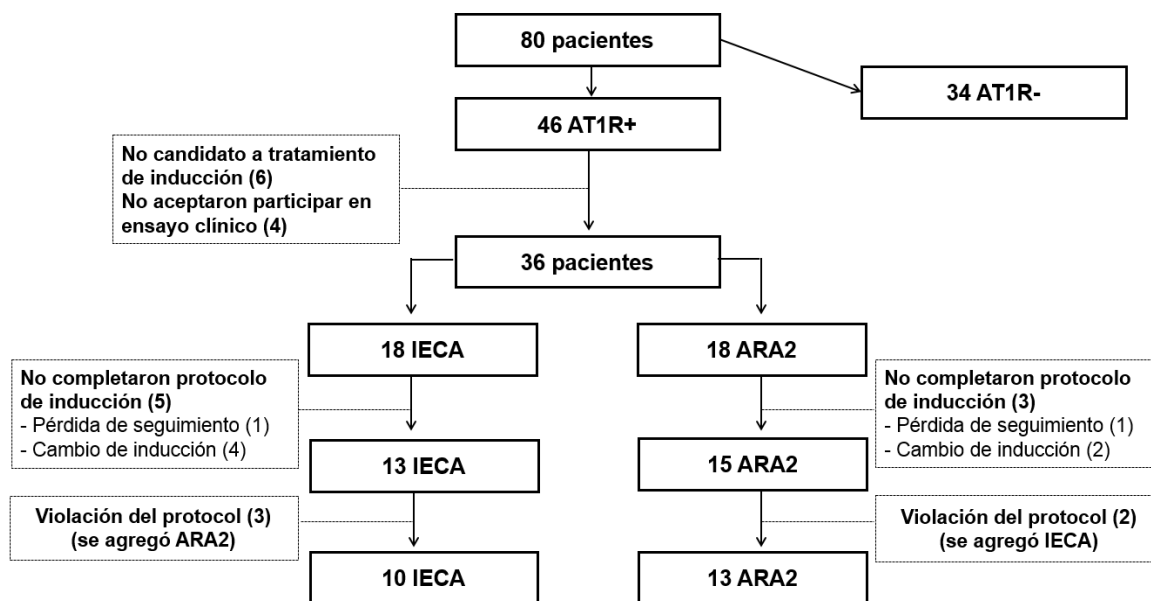
	Alto-Alto n=8	Alto-Bajo n=6	Bajo-Alto n=9	Bajo-Bajo n=8	Valor p
<b>Niveles de anticuerpos contra DNA de doble cadena</b>					
Basales	473 (44-1294)	58 (9-399)	259 (101-894)	11 (8-48)	0.005
3 meses	317 (36-997)	36 (6-143)	35 (21-197)	7 (5-9)	0.003
6 meses	255 (40-792)	88 (8-286)	61 (23-149)	8 (6-9)	0.004
<b>Niveles de proteína C3 del complemento</b>					
Basal	78 (59-95)	68 (31-141)	55 (39-76)	94 (73-112)	0.026
3 meses	87 (60-123)	99 (87-119)	91 (55-126)	118 (95-124)	0.524
6 meses	86 (73-107)	113 (75-138)	103 (59-112)	108 (79-129)	0.581
<b>Niveles de proteína C4 del complemento</b>					
Basal	10 (8-13)	11 (8-31)	8 (5-9)	15 (13-20)	0.040
3 meses	12 (5-23)	17 (10-22)	17 (10-21)	22 (14-33)	0.355
6 meses	13 (9-21)	15 (12-26)	16 (9-21)	19 (12-32)	0.552

## 8.12. Resultados del estudio de intervención con bloqueo del receptor de angiotensina II

Los pacientes positivos para AT1R-Ab fueron invitados a participar en un ensayo de prueba de concepto en que se sortearon a recibir un fármaco antagonista del receptor de angiotensina II (ARA2, losartán) o un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina (IECA, enalapril). El ARA2 bloquea los efectos de los AT1R-Ab sin modificar sus niveles en sangre.

La Figura 14 muestra el desglose de los pacientes incluidos en este ensayo de intervención. De un total de 46 pacientes positivos se incluyeron para el estudio a 36 pacientes aleatorizados en un grupo que recibió ARA2 (n=18) y un grupo que recibió IECA (n=18) adicionados sobre la inmunosupresión decidida por sus médicos tratantes en las dosis predefinidas. Cinco pacientes en el grupo de IECA y tres en el grupo de ARA2 no completaron el protocolo de inducción a la remisión con inmunosupresores: 2 por pérdida del seguimiento y en 6 se cambió el esquema de inducción (5 por incapacidad económica para adquirir mofetil micofenolato y 1 por decisión del médico tratante). Por lo tanto, un total de 13 pacientes en el grupo de IECA y 15 pacientes en el grupo de ARA2 completaron el tratamiento de inducción y seguimiento de 12 meses. En 3 pacientes del grupo de IECA se agregó ARA2 (doble bloqueo) en el transcurso del seguimiento mientras que en 2 pacientes del grupo ARA2 se agregó IECA.

**Figura 14.** Desglose de pacientes incluidos en la fase de intervención.



**Tabla 9.** Características de los pacientes distribuidos en cada grupo de tratamiento.

	IECA (n=13)	ARA-2 (n=15)	Valor p
<b>Indicación de la biopsia renal percutánea</b>			
Biopsia diagnóstica	11 (85)	12 (80)	0.572
Falta de respuesta	2 (15)	3 (20)	-
<b>Características Demográficas</b>			
Sexo femenino	12 (92)	13 (87)	1.000
Edad, años	33 (21-33)	31 (25-38)	0.892
Estado socioeconómico	2 (1-3)	3 (2-3)	0.235
<b>Historia de Lupus Eritematoso Generalizado</b>			
Meses de evolución de LEG	49 (3-136)	70 (53-121)	0.235
Meses de evolución de nefritis lúpica	2 (1-4)	1 (0-5)	1.000
Primer episodio de nefropatía lúpica	4 (31)	3 (20)	0.670
<i>Inducción previa</i>			
Ciclofosfamida	2 (15)	2 (13)	0.644
Mofetil micofenolato	5 (39)	9 (60)	0.225
Azatioprina	2 (15)	1 (7)	0.435
<i>Bloqueo eje renina angiotensina previo</i>			
Ninguno	5 (39)	3 (20)	-
Inhibidor de la Enzima Convertidora AT	6 (46)	3 (20)	-
Antagonista del receptor AT2	0 (0)	4 (27)	-
Doble bloqueo	2 (15)	5 (33)	-
<b>Episodio Actual de Nefritis Lúpica</b>			
Hemoglobina, g/dl	11.9 (10.7-12.3)	13.0 (10.1-13.9)	0.294
Plaquetas, por mm <sup>3</sup>	212 (162-309)	243 (178-298)	0.496
Leucopenia <4000/mm <sup>3</sup>	4 (31)	2 (13)	0.372
Linfopenia <1500/mm <sup>3</sup>	9 (69)	10 (67)	1.000
Creatinina, mg/dl	0.7 (0.6-1.2)	0.8 (0.7-1.2)	0.467
Tasa de Filtración Glomerular, ml/min/m <sup>2</sup>	100 (58-140)	101 (72-132)	0.964
Proteinuria de 24 horas, g/24h	2.6 (1.3-4.7)	3.7 (1.9-4.2)	0.254
Índice proteinuria/creatinuria 24h, g/g	2.5 (1.6-4.7)	3.8 (1.9-6.4)	0.496
Albúmina, g/dl	3.2 (2.4-3.7)	3.1 (2.5-3.6)	0.855
Triglicéridos, mg/dl	177 (150-213)	244 (158-301)	0.612
Colesterol, mg/dl	202 (170-253)	227 (185-250)	0.677
Anticuerpos contra dsDNA, u/μl	121 (67-523)	179 (82-556)	0.618
C3 sérico, mg/dl	63 (49-77)	61 (32-90)	1.000
C4 sérico, mg/dl	8 (8-12)	8 (8-13)	0.892
Puntaje SLEDAI2K	12 (9-19)	15 (12-17)	0.964
<b>Histopatología de la biopsia renal percutánea</b>			
Clase ISN/RPS			
Clase III±V	7 (54)	6 (40)	0.566
Clase IV±V	4 (31)	8 (53)	-
Clase V	2 (15)	1 (7)	-
Fibrosis intersticial, %	15 (5-25)	15 (9-30)	0.867
Atrofia tubular, %	15 (8-25)	15 (9-30)	0.793
Índice de actividad	4 (1-9)	6 (2-10)	0.458
Índice de cronicidad	3 (2-5)	4 (3-6)	0.430

En la Tabla 9 se muestran las características basales de los pacientes incluidos en el estudio de intervención. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en ninguna de las variables registradas, sin embargo, existió una tendencia a mayor uso previo de IECA en el grupo IECA, y ARA2 en el grupo ARA2. Esto es debido a que aquellos pacientes con tratamiento previo con losartán o enalapril se asignaron al grupo ARA2 o IECA respectivamente sin ingresar a la aleatorización (*ver Material y Métodos*).

En la Tabla 10 se muestran los tratamientos inmunosupresores recibidos en ambos grupos de estudio. Un mayor porcentaje de pacientes en el grupo ARA2 recibió inducción con mofetil micofenolato (87%) en comparación con el grupo de IECA (62%), aunque esta diferencia no fue estadísticamente significativa. No hubo diferencia en el tiempo para el descenso de prednisona a menos de 10mgs ni en el uso concomitante de antimaláricos.

**Tabla 10.** Tratamiento inmunosupresor recibido por los grupos de tratamiento.

	IECA (n=13)	ARA-2 (n=15)	Valor p
<b>Tratamiento de inducción</b>			0.198
Ciclofosfamida intravenosa	5 (39)	2 (13)	-
Mofetil micofenolato	8 (62)	13 (87)	-
Descenso de prednisona a <10mg (meses)	6 (5-8)	5 (4-6)	0.458
Uso de antimalárico	8 (62)	10 (67)	1.000

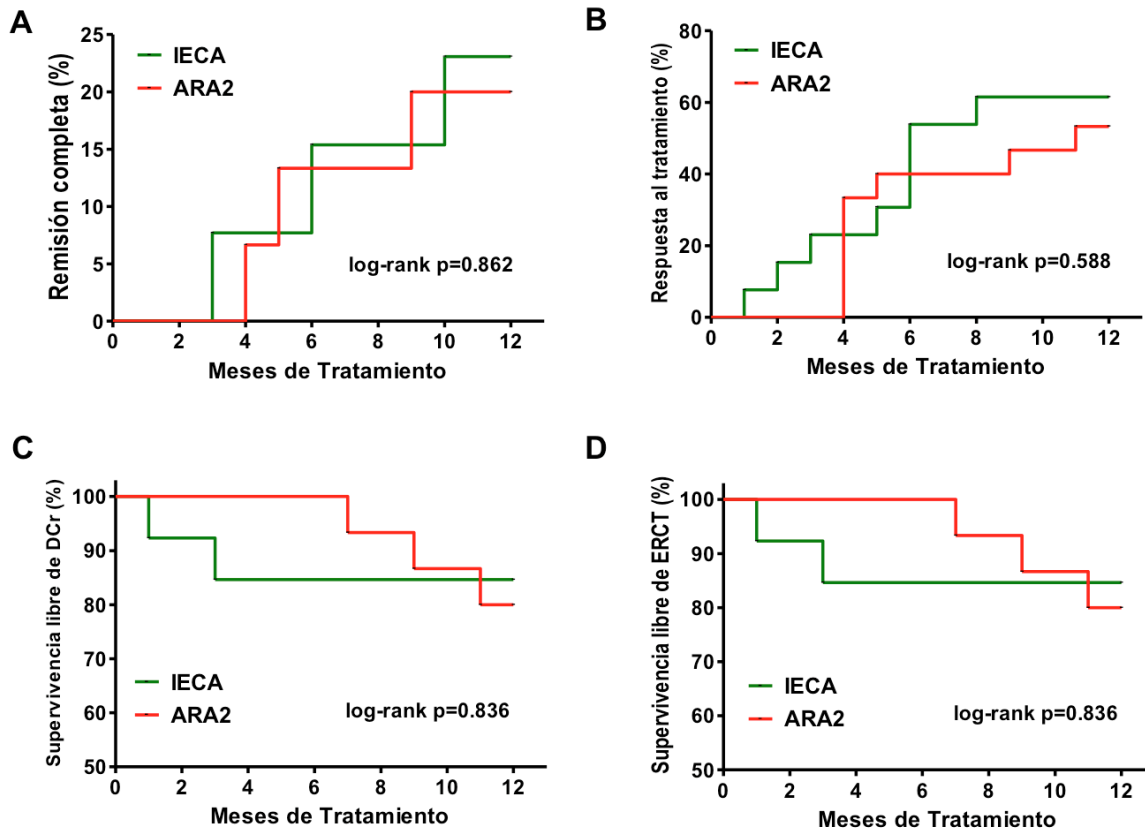
En la Tabla 11 se resumen los desenlaces primarios y secundarios del estudio. La tasa de remisión completa a 6 y 12 meses fue de 15% y 23% para los pacientes tratados con IECA y 13% y 20% para el grupo de pacientes tratados con ARA2 (p=1.000 para ambas comparaciones). La tasa de respuesta al tratamiento a 6 y 12 meses fue de 62% para el grupo tratado con IECA y 40% para el grupo tratado con ARA2 (p=0.449). No se observaron diferencias en el tiempo a la remisión completa o respuesta al tratamiento entre los grupos (Figura 15 A y B).

**Tabla 11.** Resumen de los desenlaces del estudio de intervención.

	<b>IECA (n=13)</b>	<b>ARA-2 (n=15)</b>	<b>Valor p</b>
Remisión completa a 6 meses	2 (15)	2 (13)	1.000
Remisión parcial o RC a 6 meses	8 (62)	6 (40)	0.449
Remisión completa a 12 meses	3 (23)	3 (20)	1.000
Remisión parcial a 12 meses	8 (62)	6 (40)	0.449
Duplicación de creatinina a 12 meses	3 (23)	3 (20)	1.000
Enfermedad renal crónica terminal	2 (15)	3 (20)	1.000

La tasa de duplicación de creatinina a 12 meses fue de 23% y 20% para los grupos tratados con IECA y ARA2 respectivamente (Figura 15 C). La progresión a enfermedad renal crónica terminal a 12 meses fue de 15 y 20% para los grupos tratados con IECA y ARA2 respectivamente (Figura 15 D).

**Figura 15.** Desenlaces de acuerdo al grupo de tratamiento: IECA (inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina II) o ARA2 (antagonista del receptor de angiotensina II). A) Remisión completa, B) respuesta al tratamiento, C) duplicación de creatinina y D) progresión a enfermedad renal terminal.



La Tabla 12 muestra los eventos adversos registrados durante el estudio. No hubo diferencia en efectos adversos observados entre ambos grupos de tratamiento. Un total de 62 y 80% de los pacientes no reportaron ningún efecto adverso a lo largo del estudio.

**Tabla 12.** Eventos adversos registrados durante el estudio de intervención.

	IECA (n=13)	ARA-2 (n=15)	Valor p
Ningún efecto adverso	8 (62)	12 (80)	
Neumonía hospitalización	2 (15)	0 (0)	
Trombosis vena cava inferior	0 (0)	1 (7)	
Herpes zoster	1 (8)	0 (0)	
Gastroenteritis	1 (8)	0 (0)	
Infección de vías urinarias	0 (0)	2 (13)	
Cefalea	1 (8)	0 (0)	

## IX. DISCUSIÓN

En este estudio evidenciamos que los AT1R-Ab son un marcador de actividad serológica que se modifica a la par de los anticuerpos contra DNA de doble cadena en pacientes con nefropatía lúpica demostrada por biopsia renal percutánea. A pesar de una evaluación vascular extensa, los títulos de AT1R-Ab no se asociaron con mayor daño vascular o mayores cifras de presión arterial como se esperaría de acuerdo a su mecanismo fisiopatológico. Así mismo, en el estudio de prueba de concepto no se observaron tendencias a mejor respuesta renal en el grupo de pacientes tratados con antagonistas del receptor de angiotensina II, fármacos que bloquean el efecto de los AT1R-Ab.

El lupus eritematoso generalizado, al igual que otras enfermedades inflamatorias crónicas, está asociado con un incremento en la morbilidad y mortalidad cardiovascular<sup>48</sup>. En los últimos años, existe un aumento en el interés por el estudio de los anticuerpos contra el receptor tipo 1 de angiotensina II (AT1R-Ab) en diversas enfermedades, tales como preeclampsia<sup>33,49</sup>, esclerosis sistémica<sup>50</sup> e importantemente, en el trasplante de órganos<sup>28,51</sup>.

Estos anticuerpos despertaron nuestro interés debido a que, tras estudiarlos en pacientes candidatos a trasplante renal, observamos una prevalencia incrementada de AT1R-Ab en pacientes cuya etiología de enfermedad renal crónica terminal fue lupus eritematoso generalizado<sup>39</sup> e incluso, en un número pequeño de pacientes se documentó su asociación con lesiones vasculares arterioscleróticas observadas en la biopsia renal percutánea<sup>40</sup>.

En este estudio exploratorio, hemos encontrado que existe una elevada prevalencia de positividad para AT1R-Ab en pacientes con nefropatía lúpica (56.3%), porcentaje cercano al 66.3% reportado en una carta al editor previamente<sup>37</sup>. Sin embargo, la presencia de anticuerpos no implica directamente una asociación patogénica. Por ello, se evaluó su asociación con marcadores de daño vascular sin poder evidenciarse mayor daño en el grupo de pacientes positivo para AT1R-Ab.

El estudio de monitoreo ambulatorio de la presión arterial mostró alteraciones en el fenómeno de descenso nocturno de la presión arterial (“dipping”) en un gran porcentaje (casi dos tercios) de los pacientes con nefropatía lúpica estudiados. Dos estudios previos evaluando lupus pediátrico sugirieron una alta prevalencia de este fenómeno de descenso reducido de la presión arterial, con porcentajes que van de 66 a 90% de los pacientes evaluados<sup>52,53</sup>. En este estudio, casi dos tercios de los pacientes no presentaron “dipping” nocturno, lo cual orienta a una función endotelial anormal a pesar de aún no manifestarse con hipertensión <sup>54</sup>. La ausencia o reducción del “dipping” confiere un riesgo de 27% más eventos cardiovasculares que aquellos quienes si disminuyen su presión arterial nocturna. El fenómeno se observó tanto en pacientes con hipertensión previa como en aquellos sin diagnóstico previo de hipertensión.

Adicionalmente, casi un 30% de los pacientes mostraron hipertensión enmascarada (presión arterial normal en la revisión médica pero aumentada en el monitoreo de 24 horas), y un 30% de los pacientes con diagnóstico previo de hipertensión mostraron hipertensión no controlada enmascarada. Ambos fenómenos están asociados con un riesgo cardiovascular incrementado <sup>55</sup> con un riesgo asociado de 2 veces aquel de pacientes sin hipertensión. Los porcentajes observados de hipertensión enmascarada e hipertensión no controlada enmascarada son consistentes con los hallazgos descritos en pacientes con enfermedad renal crónica<sup>56,57</sup>.

Dado el mecanismo de acción de los AT1R-Ab evaluamos una posible asociación entre estos anticuerpos con estas manifestaciones de la presión arterial. No se encontró asociación alguna entre el título de anticuerpos y los niveles de presión arterial, presencia de hipertensión enmascarada o ausencia de “dipping” nocturno. Esto disminuye la posibilidad de que estos anticuerpos tengan un papel patogénico. Cabe mencionar que en estudios previos de estos anticuerpos en trasplante renal



tampoco se han logrado encontrar diferencias en los niveles de presión arterial <sup>39</sup> evaluados por mediciones en consultorio.

Se ha descrito que los pacientes con lupus eritematoso generalizado tienen un riesgo dos veces mayor que la población general de desarrollar aterosclerosis subclínica, definida como un incremento del grosor íntima-media <sup>58</sup>. En esta cohorte de pacientes con una mediana menor de 30 años de edad la prevalencia de aterosclerosis subclínica fue cercana al 30%. Este porcentaje varía entre series de acuerdo a la definición utilizada y los criterios de inclusión. Sin embargo, estos hallazgos confieren un riesgo incrementado de eventos cardiovasculares similar a otras enfermedades inflamatorias como artritis reumatoide o incluso al alto riesgo conferido por la diabetes mellitus <sup>59</sup>. En la búsqueda de mecanismos distintos a los factores de riesgos tradicionales buscamos una asociación con daño por AT1R-Ab, sin embargo, no hubo correlación entre los niveles de anticuerpos y las mediciones del grosor íntima media del ultrasonido. Esto no descarta por completo una participación de los AT1R-Ab en el daño vascular dado que se ha descrito la presencia de daño similar a aterosclerosis en ausencia de grosor íntima-media incrementado<sup>60</sup>, sin embargo, nuestros resultados hacen menos probable esta asociación.

Dado que en modelos animales se ha logrado estudiar tejido vascular <sup>36</sup>, y dada la alta prevalencia de lesiones vasculares similares a arteriosclerosis observadas en pacientes con nefropatía lúpica <sup>20</sup>, buscamos una asociación entre los títulos de AT1R-Ab y la presencia de fibrosis subíntima. Nuevamente, no encontramos asociación entre el título de AT1R-Ab y este tipo de lesiones vasculares documentadas mediante morfometría renal. Al momento se desconoce la fisiopatogenia de éstas lesiones a nivel de la biopsia renal.

En el estudio se buscaron otras asociaciones tales como respuesta al tratamiento o progresión de la enfermedad renal, sin encontrar asociación con AT1R-Ab. Sin embargo, el estudio no fue inicialmente planeado para estos fines y pudiera no tener un poder adecuado para detectar diferencias en estos desenlaces.

Dados algunos reportes en el área de trasplantes que sugieren una respuesta al bloquear el efecto de los AT1R<sup>61</sup>, se realizó un estudio de prueba de concepto en el cual se dividió a los pacientes positivos para AT1R-Ab en un grupo cuyo efecto (más no los títulos séricos) sería bloqueado con un fármaco antagonista del receptor de angiotensina II, comparando con un grupo de pacientes tratados con IECA. Si bien el poder del estudio para detectar diferencias fue bajo, no se observaron tendencias en los desenlaces primarios o secundarios, sugiriendo que no existen diferencias entre el uso de IECA o ARA2 concomitante al manejo inmunosupresor en pacientes con nefropatía lúpica.

Es así que, a pesar de nuestra observación inicial de estos anticuerpos y un mecanismo fisiopatogénico compatible, en este estudio no se ha logrado demostrar una asociación con daño cardiovascular a pesar de una evaluación cardiovascular completa. La única asociación encontrada fue con los hallazgos serológicos, es decir, con la presencia de otros anticuerpos como los dsDNA-Ab. Por el momento solamente se puede concluir que los AT1R-Ab tienen una alta prevalencia en pacientes con nefropatía lúpica, sin embargo, no es posible definir su papel fisiopatogénico en pacientes con lupus eritematoso generalizado.

Esto contrasta con los estudios actuales en el campo de trasplante renal <sup>62,63</sup> y genera la interrogante si la presencia de estos anticuerpos es realmente patogénica o solamente traduce, en tanto no se demuestren otras asociaciones, una inmunidad incrementada y por tanto, un mayor riesgo de eventos de rechazo del injerto renal. Sin embargo, no se excluye un papel fisiopatogénico en el campo de trasplante renal dado que se han reportado beneficios del bloqueo del receptor de angiotensina II y su remoción mediante plasmaféresis <sup>61</sup>.

El estudio tiene algunas limitaciones: 1) el tamaño de la muestra pudiera no tener suficiente poder para la evaluación de algunos de los desenlaces o para detectar diferencias pequeñas, sin embargo, tampoco se observaron tendencias en ninguno de los parámetros evaluados; 2) la población de pacientes con nefropatía lúpica es muy heterogénea, así como los grados de inflamación de la enfermedad; 3) el tiempo de latencia para la aparición de algunas de las complicaciones vasculares pudiera ser mayor respecto al tiempo de evolución de la enfermedad observada en esta cohorte; 4) no se evaluaron otros marcadores más sensibles de daño cardiovascular como es el caso de otros marcadores de daño endotelial (VCAM1, ICAM1, entre otros).

En conclusión, a pesar de que un porcentaje considerable de pacientes con nefropatía lúpica tiene positividad para AT1R-Ab, después de una valoración cardiovascular extensa, no fue posible determinar asociación entre los títulos de anticuerpos y datos de daño cardiovascular. Únicamente se encontró una fuerte asociación entre los títulos de AT1R-Ab y la presencia de otros anticuerpos circulantes. La medición de AT1R-Ab en pacientes con lupus eritematoso generalizado no puede justificarse con base en los resultados del presente estudio.

## X. BIBLIOGRAFÍA

1. Agmon-Levin N, Mosca M, Petri M, et al. Systemic lupus erythematosus one disease or many? *Autoimmun Rev* 2012; 11: 593–595.
2. Hollan I, Meroni PL, Ahearn JM, et al. Cardiovascular disease in autoimmune rheumatic diseases. *Autoimmun Rev* 2013; 12: 1004–15.
3. Bartels CM, Buhr KA, Goldberg JW, et al. Mortality and Cardiovascular Burden of Systemic Lupus Erythematosus in a US Population-based Cohort. *J Rheumatol* 2014; 41: 680–687.
4. Björnådal L, Yin L, Granath F, et al. Cardiovascular disease a hazard despite improved prognosis in patients with systemic lupus erythematosus: results from a Swedish population based study 1964-95. *J Rheumatol* 2004; 31: 713–9.
5. Magder LS, Petri M. Incidence of and Risk Factors for Adverse Cardiovascular Events Among Patients With Systemic Lupus Erythematosus. *Am J Epidemiol* 2012; 176: 708–719.
6. Giannelou M, Mavragani CP. Cardiovascular disease in systemic lupus erythematosus: A comprehensive update. *J Autoimmun* 2017; 82: 1–12.
7. Skaggs BJ, Hahn BH, McMahon M. Accelerated atherosclerosis in patients with SLE—mechanisms and management. *Nat Rev Rheumatol* 2012; 8: 214–223.
8. Ahmad Y, Shelmerdine J, Bodill H, et al. Subclinical atherosclerosis in systemic lupus erythematosus (SLE): the relative contribution of classic risk factors and the lupus phenotype. *Rheumatology* 2007; 46: 983–988.
9. Fischer C, Hulten E, Belur P, et al. Coronary CT angiography versus intravascular ultrasound for estimation of coronary stenosis and atherosclerotic plaque burden: A meta-analysis. *J Cardiovasc Comput Tomogr* 2013; 7: 256–266.
10. Bots ML. Carotid intima-media thickness as a surrogate marker for cardiovascular disease in intervention studies. *Curr Med Res Opin* 2006; 22: 2181–2190.
11. Belibou C, Ancuța C, Ancuța E, et al. Carotid intima-media thickness and plaque as surrogate biomarkers of atherosclerosis among consecutive women with systemic lupus erythematosus. *Rom J Morphol Embryol* 2012; 53: 29–34.
12. Tyrrell PN, Beyene J, Feldman BM, et al. Rheumatic Disease and Carotid Intima-Media Thickness: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010; 30: 1014–1026.

13. Inaba Y, Chen JA, Bergmann SR. Carotid plaque, compared with carotid intima-media thickness, more accurately predicts coronary artery disease events: A meta-analysis. *Atherosclerosis* 2012; 220: 128–133.
14. Darabian S, Hormuz M, Latif MA, et al. The Role of Carotid Intimal Thickness Testing and Risk Prediction in the Development of Coronary Atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 2013; 15: 306.
15. Wu G-C, Liu H-R, Leng R-X, et al. Subclinical atherosclerosis in patients with systemic lupus erythematosus: A systemic review and meta-analysis. *Autoimmun Rev* 2015; 15: 22–37.
16. Zubair A, Frieri M. Lupus Nephritis: Review of the Literature. *Curr Allergy Asthma Rep* 2013; 13: 580–586.
17. Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *Kidney Int* 2004; 65: 521–530.
18. Wu L-H, Yu F, Tan Y, et al. Inclusion of renal vascular lesions in the 2003 ISN/RPS system for classifying lupus nephritis improves renal outcome predictions. *Kidney Int* 2013; 83: 715–23.
19. Barber C, Herzenberg A, Aghdassi E, et al. Evaluation of clinical outcomes and renal vascular pathology among patients with lupus. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012; 7: 757–64.
20. Mejía-Vilet JM, Córdova-Sánchez BM, Uribe-Urbe NO, et al. Prognostic significance of renal vascular pathology in lupus nephritis. *Lupus* 2017; 26: 1042–1050.
21. Austin HA, Muenz LR, Joyce KM, et al. Prognostic factors in lupus nephritis. Contribution of renal histologic data. *Am J Med* 1983; 75: 382–391.
22. Venkatakrisnan AJ, Deupi X, Lebon G, et al. Molecular signatures of G-protein-coupled receptors. *Nature* 2013; 494: 185–194.
23. Wallukat G, Schimke I. Agonistic autoantibodies directed against G-protein-coupled receptors and their relationship to cardiovascular diseases. *Semin Immunopathol* 2014; 36: 351–363.
24. Ruster C, Wolf G. Angiotensin II as a morphogenic cytokine stimulating renal fibrogenesis. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22: 1189–99.
25. Cresci B, Giannini S, Pala L, et al. AT1 and AT2 receptors in human glomerular endothelial cells at different passages. *Microvasc Res* 2003; 66: 22–9.
26. Harrison-Bernard LM, Navar LG, Ho MM, et al. Immunohistochemical localization of ANG II

- AT1 receptor in adult rat kidney using a monoclonal antibody. *Am J Physiol* 1997; 273: F170-7.
27. Dragun D, Philippe A, Catar R, et al. Autoimmune mediated G-protein receptor activation in cardiovascular and renal pathologies. *Thromb Haemost* 2009; 101: 643–8.
  28. Dragun D, Müller DN, Bräsen JH, et al. Angiotensin II type 1-receptor activating antibodies in renal-allograft rejection. *N Engl J Med* 2005; 352: 558–69.
  29. Schulze W, Kunze R, Wallukat G. Pathophysiological role of autoantibodies against G-protein-coupled receptors in the cardiovascular system. *Exp Clin Cardiol* 2005; 10: 170–172.
  30. Dragun D. Humoral Responses Directed Against Non-Human Leukocyte Antigens in Solid-Organ Transplantation. *Transplantation* 2008; 86: 1019–1025.
  31. Dragun D, Catar R, Philippe A. Non-HLA antibodies against endothelial targets bridging allo- and autoimmunity. *Kidney Int* 2016; 90: 280–288.
  32. Dragun D, Catar R, Kusch A, et al. Non-HLA-antibodies targeting Angiotensin type 1 receptor and antibody mediated rejection. *Hum Immunol* 2012; 73: 1282–6.
  33. Wallukat G, Homuth V, Fischer T, et al. Patients with preeclampsia develop agonistic autoantibodies against the angiotensin AT1 receptor. *J Clin Invest* 1999; 103: 945–52.
  34. Reinsmoen NL, Lai C-H, Heidecke H, et al. Anti-Angiotensin Type 1 Receptor Antibodies Associated With Antibody Mediated Rejection in Donor HLA Antibody Negative Patients. *Transplantation* 2010; 90: 1473–1477.
  35. Dechend R, Viedt C, Müller DN, et al. AT1 Receptor Agonistic Antibodies From Preeclamptic Patients Stimulate NADPH Oxidase. *Circulation* 2003; 107: 1632–1639.
  36. Li W, Chen Y, Li S, et al. Agonistic antibody to angiotensin II type 1 receptor accelerates atherosclerosis in ApoE<sup>-/-</sup> mice. *Am J Transl Res* 2014; 6: 678–90.
  37. Xiong J, Liang Y, Yang H, et al. The role of angiotensin II type 1 receptor-activating antibodies in patients with lupus nephritis. *Int J Clin Pract* 2013; 67: 1066–7.
  38. Hernández-Méndez EA, Arreola-Guerra JM, Morales-Buenrostro LE, et al. Pre-transplant angiotensin II type 1 receptor antibodies: a risk factor for decreased kidney graft function in the early post-transplant period? *Rev Invest Clin*; 66: 218–24.
  39. Cuevas E, Arreola-Guerra JM, Hernandez-Mendez EA, et al. Pretransplant angiotensin II type 1-receptor antibodies are a risk factor for earlier detection of de novo HLA donor-specific antibodies. *Nephrol Dial Transplant* 2016; 31: 1738–1745.

40. González-Almada A, Arreola-Guerra J, Cuevas E et al. Histologic findings in pre-transplant At1Rab +ve patients point to an increase in sub-intimal fibrosis during acute rejection and at 12 month protocol renal graft biopsies. *Am J Transpl*; 15.
41. Rodriguez-Iturbe B, Pons H, Quiroz Y, et al. The Immunological Basis of Hypertension. *Am J Hypertens* 2014; 27: 1327–1337.
42. Rodriguez-Iturbe B, Pons H, Johnson RJ. Role of the Immune System in Hypertension. *Physiol Rev* 2017; 97: 1127–1164.
43. O'Brien E, Parati G, Stergiou G, et al. European Society of Hypertension Position Paper on Ambulatory Blood Pressure Monitoring. *J Hypertens* 2013; 31: 1731–1768.
44. Touboul P-J, Hennerici MG, Meairs S, et al. Mannheim Carotid Intima-Media Thickness and Plaque Consensus (2004–2006–2011). *Cerebrovasc Dis* 2012; 34: 290–296.
45. Touboul P-J, Vicaut E, Labreuche J, et al. Common Carotid Artery Intima-Media Thickness: The Cardiovascular Risk Factor Multiple Evaluation in Latin America (CARMELA) Study Results. *Cerebrovasc Dis* 2011; 31: 43–50.
46. Miyakis S, Lockshin MD, Atsumi T, et al. International consensus statement on an update of the classification criteria for definite antiphospholipid syndrome (APS). *J Thromb Haemost* 2006; 4: 295–306.
47. Stein JH, Korcarz CE, Hurst RT, et al. Use of Carotid Ultrasound to Identify Subclinical Vascular Disease and Evaluate Cardiovascular Disease Risk: A Consensus Statement from the American Society of Echocardiography Carotid Intima-Media Thickness Task Force Endorsed by the Society for Vascular. *J Am Soc Echocardiogr* 2008; 21: 93–111.
48. Mok CC, Kwok RCL, Yip PSF. Effect of renal disease on the standardized mortality ratio and life expectancy of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2013; 65: 2154–2160.
49. Dechend R, Müller DN, Wallukat G, et al. Activating auto-antibodies against the AT1 receptor in preeclampsia. *Autoimmun Rev* 2005; 4: 61–65.
50. Riemekasten G, Cabral-Marques O. Antibodies against angiotensin II type 1 receptor (AT1R) and endothelin receptor type A (ETAR) in systemic sclerosis (SSc)-response. *Autoimmun Rev* 2016; 15: 935.
51. Dragun D, Catar R, Philippe A. Non-HLA antibodies against endothelial targets bridging allo- and autoimmunity. *Kidney Int* 2016; 90: 280–288.
52. Canpolat N, Kasapcopur O, Caliskan S, et al. Ambulatory blood pressure and subclinical

cardiovascular disease in patients with juvenile-onset systemic lupus erythematosus. *Pediatr Nephrol* 2013; 28: 305–313.

53. Campbell JF, Swartz SJ, Wenderfer SE. Nocturnal Hypertension and Attenuated Nocturnal Blood Pressure Dipping is Common in Pediatric Lupus. *F1000Research* 2015; 4: 164.
54. Salles GF, Reboldi G, Fagard RH, et al. Prognostic Effect of the Nocturnal Blood Pressure Fall in Hypertensive Patients Novelty and Significance. *Hypertension* 2016; 67: 693–700.
55. Franklin SS, O'Brien E, Staessen JA. Masked hypertension: understanding its complexity. *Eur Heart J* 2016; 38: ehw502.
56. Agarwal R, Pappas MK, Sinha a. D. Masked Uncontrolled Hypertension in CKD. *J Am Soc Nephrol* 2016; 27: 924–932.
57. Banegas JR, Ruilope LM, de la Sierra A, et al. High prevalence of masked uncontrolled hypertension in people with treated hypertension. *Eur Heart J* 2014; 35: 3304–3312.
58. Frieri M, Stampfl H. Systemic lupus erythematosus and atherosclerosis: Review of the literature. *Autoimmun Rev* 2016; 15: 16–21.
59. Tektonidou MG, Kravvariti E, Konstantonis G, et al. Subclinical atherosclerosis in Systemic Lupus Erythematosus: Comparable risk with Diabetes Mellitus and Rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev*. Epub ahead of print 2017. DOI: 10.1016/j.autrev.2017.01.009.
60. Frerix M, Stegbauer J, Kreuter A, et al. Atherosclerotic plaques occur in absence of intima-media thickening in both systemic sclerosis and systemic lupus erythematosus: a duplexsonography study of carotid and femoral arteries and follow-up for cardiovascular events. *Arthritis Res Ther* 2014; 16: R54.
61. Carroll RP, Riceman M, Hope CM, et al. Angiotensin II type-1 receptor antibody (AT1Rab) associated humoral rejection and the effect of peri operative plasma exchange and candesartan. *Hum Immunol* 2016; 77: 1154–1158.
62. Zhang Q, Reed EF. The importance of non-HLA antibodies in transplantation. *Nat Rev Nephrol* 2016; 12: 484–495.
63. Pearl MH, Zhang Q, Palma Diaz MF, et al. Angiotensin II Type 1 receptor antibodies are associated with inflammatory cytokines and poor clinical outcomes in pediatric kidney transplantation. *Kidney Int*. Epub ahead of print 16 September 2017. DOI: 10.1016/j.kint.2017.06.034.