



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE MEDICINA

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIA MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

**“CD11b/Mac-1 como biomarcador urinario de actividad renal del
lupus eritematoso generalizado”**

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LA ESPECIALIDAD DE NEFROLOGÍA**

PRESENTA

DR. MAXWELL JOSUE HOOKER LOPEZ

TUTOR DE TESIS

DR. JUAN MANUEL MEJÍA VILET

TUTOR DEL CURSO

DR. RICARDO CORREA ROTTER

Ciudad de México 2021

Febrero





Universidad Nacional
Autónoma de México

Biblioteca Central

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM



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.



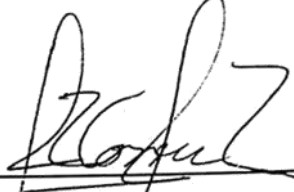
INCMNSZ
INSTITUTO NACIONAL
DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
"DR. SALVADOR ZUBIRÁN"
DIRECCIÓN DE ENSEÑANZA



Dr. Sergio Ponce de León Rosales

Director de Enseñanza del INCMNSZ

(Tesis)



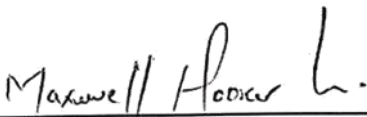
Dr. Ricardo Correa Rotter

Jefe del Departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral
Profesor titular del curso de Nefrología



Dr. Juan Manuel Mejía Vilet

Profesor adscrito al Departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral del INCMNSZ
Tutor de tesis



Dr. Maxwell Josue Hooker Lopez

Residente de tercer año de Nefrología del INCMNSZ

AGRADECIMIENTOS

A Dios nuestro creador por permitir lograr mis metas y darme fuerza día a día

A mi esposa Carolina Rugama Lagos, a mis hijas Leana Hooker y Emily Hooker por su amor, paciencia y apoyo total

Agradezco a mis padres Ceferino Hooker y Xiomara López que han sido fortaleza en mi vida y mi desarrollo profesional

A todos mis maestros del Departamento de Nefrología del Instituto que han contribuido a mi formación profesional

ÍNDICE:

1- RESUMEN	4
2- MARCO TEÓRICO	5
3- JUSTIFICACIÓN	10
4- OBJETIVOS DEL ESTUDIO	11
5- PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
6- PACIENTES Y MÉTODOS	13
A. Definición de variables	15
B. Procedimientos del estudio	15
C. Riesgos del estudio	17
7- RESULTADOS	18
8- DISCUSIÓN	34
9- CONCLUSIONES	37
10-BIBLIOGRAFÍA	38

RESUMEN

Introducción. La respuesta al tratamiento en nefritis lúpica se define por criterios clínicos y de laboratorio, específicamente función renal y proteinuria. Es conocido que la proteinuria tiene una lenta resolución y que puede ser secundaria tanto a actividad de la enfermedad como a daño crónico. El grupo japonés de la Universidad de Nagoya describió recientemente a la proteína CD11b/Mac-1 urinaria como un potencial biomarcador de actividad en nefritis lúpica.

Métodos. Estudio de cohorte prospectiva. Se realizó en 2 fases, una transversal donde se incluyeron 134 pacientes y una longitudinal con seguimiento a 84 pacientes con nefritis lúpica activa demostrada por biopsia renal con muestra de orina colectada al momento del brote, 3, 6 y 12 meses posterior al tratamiento. Se determinaron correlaciones entre la clase histopatológica y hallazgos histopatológicos, con los niveles del marcador. Se evaluó el curso clínico del marcador mediante análisis de modelos lineales mixtos ajustado a las covariables pertinentes.

Resultados. En la fase transversal el grupo de estudio tuvo un predominio de mujeres (89%), con mediana de 30 años (RIC 25-39), 87 pacientes (65%) con primer episodio, tasa de filtración glomerular estimada (TFGe) 75ml/min/m² (RIC 35-111) y proteinuria de 3.6g/24h (RIC 2.1-5.5); en fase longitudinal el grupo de mayor predominio también fue de mujeres (91%), proteinuria de 3.5 g/24h (RIC 2.1-5.6), El tratamiento incluyó esteroides orales, mofetil micofenolato (MMF) en 52 (62%), ciclofosfamida intravenosa en 25 (30%), azatioprina en 4 (5%) y tratamiento combinado de MMF más inhibidor de calcineurina. A los 12 meses de tratamiento se obtuvo remisión completa en 32 (38%) pacientes, 20 (24%) pacientes tuvieron remisión parcial y 32 (38%) pacientes no respondieron al tratamiento, la media de nivel inicial de uCD11b fue de 47.4 pg/mg (RIC 17.7-88.8). Los niveles de uCD11b disminuyeron en una mediana de 3 meses en los grupos de respuesta completa y parcial, mientras que permanecieron elevados en el grupo sin respuesta (Figura 3). En el análisis de los niveles de CD11b urinarios y la respuesta histopatológica hubo adecuada concordancia con los niveles del marcador y al compararlos con proteinuria menor a 500 mg/24h no presento concordancia ni tiempo de respuesta.

Conclusiones. Los niveles urinarios de CD11b representan un marcador temprano de respuesta al tratamiento de nefritis lúpica activa y se relacionan con los hallazgos en la biopsia renal.

MARCO TEÓRICO

Epidemiología de la Nefritis Lúpica

La nefritis lúpica (NL) es una enfermedad renal inflamatoria, complicación común del lupus eritematoso generalizado (LEG). Esta enfermedad autoinmune afecta a las mujeres nueve veces más que a los hombres, y se caracteriza por respuestas autoinmunes aberrantes a los auto-antígenos que pueden provocar múltiples manifestaciones o patologías de órganos terminales.

La nefritis lúpica (NL) ocurre en 50% de los pacientes con LEG y es la causa más común, pero no la única, de lesión renal en el LEG (1). Los hombres con LEG tienden a tener una enfermedad más agresiva con tasas más altas de afectación renal y cardiovascular y con mayor probabilidad de desarrollar enfermedad renal terminal.

Los y las pacientes con LEG que desarrollan nefritis lúpica se presentan a una edad más joven que aquellos o aquellas pacientes con LEG sin nefritis. Además, la NL generalmente se desarrolla temprano en el curso de la enfermedad, generalmente en los primeros 6 a 36 meses, y puede estar presente en el diagnóstico inicial. Los factores de riesgo para el desarrollo de NL incluyen la edad más joven, el sexo masculino y la ascendencia no europea (2).

En los Estados Unidos, la incidencia de NL es mayor en pacientes negros (34% -51%), hispanos (31% -43%) y asiáticos (33%-55%), en comparación con pacientes blancos (14%-23%). Los pacientes negros e hispanos tienen peores desenlaces y mayor probabilidad de progresar a insuficiencia renal en comparación a los pacientes blancos. Los pacientes negros e hispanos tienden a tener una histopatología subyacente más grave. Los autoanticuerpos asociados con NL, incluidos los anticuerpos anti-Sm, anti-Ro y anti-ribonucleoproteína, son positivos con mayor frecuencia en pacientes negros en

comparación con pacientes blancos. Las razones de estas diferencias raciales y étnicas no se entienden completamente, pero posiblemente obedecen a factores genéticos y socioeconómicos (3).

Fisiopatogenia del daño renal asociado a lupus eritematoso generalizado

La fisiopatogenia de la nefritis lúpica implica a una diversidad de mecanismos patogénicos. Las manifestaciones extra-renales del lupus eritematoso generalizado se asocian con múltiples combinaciones de variantes genéticas que finalmente comprometen los mecanismos de tolerancia inmune a los autoantígenos nucleares (4). Esta pérdida de tolerancia se vuelve clínicamente detectable por la presencia de anticuerpos antinucleares. Además, los ácidos nucleicos liberados por las redes neutrofílicas o los neutrófilos apoptóticos activan la inmunidad innata y adaptativa a través de receptores tipo Toll-like (TLR) específicos de ácidos nucleicos virales. Por lo tanto, muchas de las manifestaciones clínicas de lupus sistémico asemejan en su fisiopatogenia a las de una infección viral. En el lupus, las partículas nucleares endógenas activan la señalización de IFN- α , al igual que las partículas virales durante la infección viral. Las células dendríticas, células T auxiliares, células B y las células plasmáticas contribuyen posteriormente al desarrollo de la autoinmunidad aberrante (5).

El daño renal ocasionado por la nefritis lúpica deriva tanto de la formación de complejos antígeno-anticuerpo en la circulación, como de la unión de anticuerpos a múltiples autoantígenos intrarenales. Posteriormente, la respuesta inflamatoria, la formación de tejido linfoide terciario, y la producción local de anticuerpos conducen a la activación de las vías del complemento a nivel renal con el daño consecuente (4).

Tratamiento de la Nefritis Lúpica

La terapia inmunosupresora de inducción a la remisión es vital para controlar la NL a tiempo y reducir el daño de las nefronas, mientras que la terapia inmunosupresora de mantenimiento tiene el objetivo de prevenir las recaídas. El tratamiento recomendado actualmente para la NL de clase histológica III o IV, es el uso combinado de corticosteroides a dosis altas, a lo que se agrega ciclofosfamida (CYC) o micofenolato de mofetilo (MMF)

para la terapia de inducción. Para la terapia de mantenimiento, se recomienda el uso combinado de corticosteroides y MMF. La terapia recomendada para la nefritis lúpica clase V, es el uso combinado de corticosteroides con otro inmunosupresor como ciclofosfamida, MMF, azatioprina o rituximab. La terapia de mantenimiento para este tipo de nefropatía es similar a la utilizada para las clases histológicas III y IV (1,6).

El problema de la evaluación de la respuesta en la nefritis lúpica

La respuesta al tratamiento en nefritis lúpica se define por criterios clínicos, específicamente función renal (creatinina sérica) y proteinuria. Es conocido que la proteinuria tiene una lenta resolución, y que la aparición de proteínas en orina puede ser secundaria tanto a actividad de la enfermedad como a daño cicatricial crónico. Esto ha generado la necesidad de contar con marcadores de actividad inflamatoria de la enfermedad que permitan diferenciar entre pacientes con proteinuria secundaria a inflamación, de aquellos pacientes con proteinuria secundaria a daño renal crónico.

Biomarcadores derivados de macrófagos como potenciales marcadores de actividad renal de lupus

Lena Schiffer y colaboradores reportaron en 2008 un estudio en ratones NZB/WF1 donde el bloqueo de la co-estimulación con CTLA4 Ig, un fármaco anti-CD40, y una dosis única de ciclofosfamida logró inducir la remisión de la NL. En este estudio, se examinaron 61 distintas moléculas en riñones de ratones tratados y no tratados en diferentes etapas de la enfermedad, encontrando la presencia de moléculas inflamatorias derivadas de macrófagos, como la Lipocalina-2, como potenciales marcadores de actividad de la NL. Así mismo, se identificó la presencia de macrófagos activados del tipo II (M2b) como un potencial marcador de inducción y de recaída de la enfermedad (7).

Mejia-Vilet y colaboradores, recientemente demostraron que la molécula CD163 urinaria, otro marcador derivado de macrófagos, podría funcionar como marcador de actividad inflamatoria de la NL. Los niveles urinarios de este marcador correlacionaron con los hallazgos histopatológicos de actividad, y el curso clínico del marcador en respuesta al tratamiento logró diferenciar entre pacientes con una buena respuesta, de aquellos sin respuesta al tratamiento inmunosupresor (8).

Las integrinas de monocitos/macrófagos como potenciales biomarcadores de actividad renal en nefritis lúpica

La proteína CD11b/Mac-1 es un receptor de inmunoglobulinas, miembro de la familia de las integrinas, el cual está presente en neutrófilos y macrófagos. Esta proteína está involucrada en la activación de estos grupos celulares en respuesta a fenómenos inflamatorios diversos (9).

Los monocitos y los macrófagos expresan los cuatro miembros de la subfamilia de integrina b2, incluidos aMb2 (Mac-1, CD11b / CD18), aDb2 (CD11d / CD18), aXb2 (CD11c / CD18) y aLb2 (CD11a / CD18). Dentro de las integrinas b2, la integrina Mac-1 es el receptor más abundante y versátil.

La activación por el ligando de Mac-1 inicia una variedad de respuestas de leucocitos, que incluyen adhesión, migración, fagocitosis, desgranulación, entre otras. La complejidad de las funciones de Mac-1 surge de su capacidad para reconocer una multitud de ligandos estructural y funcionalmente distintos, incluyendo numerosas proteínas de matriz extracelular, así como aquellas que se convierten en matriz extracelular durante la respuesta inflamatoria y que son liberadas de las células dañadas durante la lesión tisular. El receptor Mac-1 puede también unir contrarreceptores expresados en la superficie de otras células, como la molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1), la glucoproteína Ib-IX y la molécula de adhesión de unión 3(10). El mecanismo que permite que Mac-1 exhiba una especificidad de unión de ligando amplia, deriva de la naturaleza de su sitio de reconocimiento, el cual se puede encontrar en muchas proteínas no relacionadas.

A diferencia del receptor Mac-1, la integrina Db2 se expresa pobremente en monocitos de sangre periférica, sin embargo, puede identificarse en macrófagos que han migrado a sitios de inflamación crónica, por ejemplo, en lesiones ateroscleróticas. La integrina Db2 comparte con Mac-1 muchas propiedades funcionales, incluyendo la capacidad de unirse a muchos ligandos. Sin embargo, el papel de las integrinas b2 en la fusión de macrófagos sigue siendo un tema controvertido. Aunque estudios previos con anticuerpos que bloquean la función implicaron a las integrinas b2 en la fusión de macrófagos, otros informes concluyeron que las integrinas b2 juegan un papel menor. Por tanto, esta integrina tendría posiblemente un menor valor diagnóstico como biomarcador en NL (11).

CD11b/CD18 como potencial marcador de actividad en la nefritis lúpica

El receptor del complemento tipo 3 (CR3, también conocido como Mac-1, CD11b/CD18, αMb2), es un receptor transmembrana heterodimérico presente en la mayoría de las células inmunes, destacando los neutrófilos y monocitos/macrófagos. La porción extracelular de este receptor puede fraccionarse, siendo detectable su forma soluble en orina en aquellos pacientes con infiltración renal por neutrófilos y macrófagos (11).

Kitagawa y colaboradores de la Universidad de Nagoya en Japón, encontraron que los niveles urinarios de CD11b soluble (sCD11b) están elevados en pacientes con NL activa en comparación con un grupo de nefritis inactiva. En comparación con la molécula CD163, esta molécula tuvo un mejor desempeño para diferenciar entre clases histopatológicas de la NL. Estos resultados sugieren que CD11b urinario puede ser útil biomarcador para estimar la actividad histopatológica, particularmente acumulación de leucocitos glomerulares, en LN en un estudio transversal (12).

JUSTIFICACIÓN

Alrededor de 50 a 60% de los pacientes con lupus eritematoso generalizado (LEG) desarrollan nefritis lúpica. El involucro renal está asociado con un incremento hasta 60 veces en la morbilidad y mortalidad de la enfermedad en comparación con pacientes de la misma edad y género.

El pronóstico de la enfermedad renal asociada a lupus eritematoso generalizado no se ha modificado sustancialmente en los últimos 15 años. Aproximadamente 10 a 20% de las pacientes afectadas progresan a enfermedad renal crónica terminal (ERCT) en el transcurso de 10 a 20 años. En el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), se estima que 18% de las pacientes con NL progresan a fases terminales de enfermedad renal en el transcurso de 5 años.

Los marcadores actuales de actividad de la enfermedad son moléculas detectables en sangre. Siendo el lupus una enfermedad sistémica, estos marcadores carecen de una sensibilidad y especificidad adecuada para la detección específica de inflamación renal. Esto ha conllevado un diagnóstico tardío, así como un reto terapéutico, al disminuir la capacidad clínica de identificar pacientes en fases tempranas, así como de identificar fiablemente la respuesta al tratamiento, en especial en pacientes con proteinuria persistente.

El objetivo del presente estudio fue evaluar a la molécula derivada de células mononucleares CD11b soluble urinaria, como un potencial biomarcador de actividad renal de lupus en una cohorte mexicana de pacientes con lupus del INCMNSZ.

OBJETIVOS

General:

- Evaluar el desempeño diagnóstico del biomarcador CD11b urinario como marcador de actividad renal en pacientes con NL

Específicos:

- Determinar la sensibilidad, especificidad y valores predictivos del biomarcador CD11b urinario para diferenciar pacientes con NL activa de pacientes con LEG sin nefropatía
- Evaluar el curso clínico del biomarcador CD11b urinario en pacientes con NL con y sin respuesta al tratamiento inmunosupresor
- Correlacionar los niveles del biomarcador CD11b urinario con los hallazgos histopatológicos de la biopsia renal
- Comparar el rendimiento diagnóstico de CD11b urinario con aquellos biomarcadores actualmente utilizados (anticuerpos contra DNA de doble cadena, niveles de proteínas C3 y C4 del complemento)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El pronóstico renal de la NL no se ha modificado sustancialmente en los últimos 15 años. Los marcadores utilizados en la clínica para seguimiento de la enfermedad tienen sensibilidad y especificidad insuficiente para identificar actividad renal, en parte debido a que son marcadores séricos y sus cambios pueden no solo reflejar inflamación renal sino en el resto del organismo.

La inmunidad innata, y en particular los neutrófilos y macrófagos, desempeñan un papel clave en la fisiopatología de la NL. Diversos estudios han demostrado la infiltración de estas células tanto en glomérulos como en el túbulointersticio renal. La molécula CD11b es una subunidad proteica también conocida como antígeno de macrófagos-1 (Mac1), expresada en la superficie de neutrófilos y monocitos/macrófagos. La porción extracelular de esta molécula puede desprenderse e identificarse en orina (9).

Un estudio reciente realizado en Japón, demostró la presencia de células CD11b positivas en el tejido renal de pacientes con nefritis lúpica activa, así como la presencia del CD11b en orina de estas pacientes. Los niveles de la molécula CD11b se encontraron elevadas en pacientes con NL activa en comparación con paciente sin actividad renal una muestra estudiada transversalmente (12).

En este estudio se evaluó el curso longitudinal de los niveles urinarios de CD11b y su relación con la respuesta al tratamiento, en pacientes mexicanos con NL diagnosticada mediante biopsia renal percutánea.

La identificación de un marcador de actividad renal potencialmente permitiría un seguimiento más apropiado de la respuesta al tratamiento de pacientes con NL, así como una detección temprana de aquellos pacientes con recaída de la inflamación. Esto podría traducirse en un beneficio en el pronóstico renal de este grupo de pacientes.

DISEÑO METODOLOGICO

- a) Diseño de estudio: validación de prueba diagnóstica en una cohorte prospectiva
- b) Población de estudio: pacientes con diagnóstico de lupus eritematoso generalizado con actividad renal diagnosticada mediante biopsia renal percutánea

c) Criterios de selección:

Criterios de inclusión

- Hombre o mujer mayor de 18 años y menor de 70 años
- Comprensión, aceptación y firma de consentimiento informado
- Diagnóstico de NL activa mediante biopsia renal percutánea
- Proteinuria > 500mgs en 24 horas
- Candidatos a inmunosupresión de acuerdo a su médico tratante

Criterios de exclusión

- Ausencia de actividad de la enfermedad en la biopsia renal percutánea
- Presencia de hallazgos histopatológicos de otra enfermedad en la biopsia renal (por ejemplo, nefropatía diabética)

Criterios de eliminación

- Pérdida de seguimiento antes de 12 meses
- Retiro del consentimiento informado

d) Tamaño muestral:

- En base en una tasa de respuesta al tratamiento a 12 meses de 40 a 50%, considerando un área bajo la curva >0.800 para diferenciar entre pacientes respondedores y no respondedores, con nivel de confianza al 95% y poder estadístico de 80% se consideró una muestra de 82 pacientes para la fase transversal y 64 para la fase longitudinal

e) Análisis y métodos estadísticos

- Para la estadística descriptiva se utilizaron frecuencias relativas para variables categóricas, medianas con rango intercuartilar para variables continuas.
- Para el objetivo primario (asociación entre el curso clínico de los niveles del marcador CD11b urinario y la respuesta al tratamiento) se utilizaron modelos lineales mixtos tomando en cuenta las mediciones repetidas del biomarcador
- Para objetivos secundarios se construyeron curvas ROC y se obtuvieron los valores de sensibilidad, especificidad y valores predictivos de los valores basales de CD11b, la pendiente de cambio de CD11b y de los marcadores séricos actualmente en uso (dsDNA, C3, C4).
- Para el análisis se utilizó el software SPSS versión 24.0.

f) Resultados esperados previo a la realización del estudio

- La sensibilidad y especificidad del biomarcador CD11b urinario serían superiores a aquellas de los biomarcadores séricos actualmente utilizados
- La pendiente de cambio del biomarcador CD11b urinario (en ascenso o disminución) permitiría identificar a aquellos pacientes con respuesta al tratamiento de aquellos sin respuesta.
- Se determinarían los puntos de corte para este biomarcador

g) Aplicabilidad

- Contar con un biomarcador indicativo de actividad renal, de fácil obtención, permitiría identificar tempranamente aquellos pacientes con respuesta al tratamiento y normar el tratamiento
- Un biomarcador indicativo de actividad renal permitiría identificar tempranamente a aquellos pacientes con lupus y actividad renal nueva o recidivante

h) Este protocolo se encuentra registrado y autorizado por los Comités de Ética e Investigación Institucionales (Referencia 2217 a nombre del Dr. Juan M. Mejía Vilet)

i) Periodo estimado de realización: Enero de 2019 a Febrero de 2020

A. Definición de variables

Variables clínicas: edad, sexo, índice de masa corporal, tiempo de diagnóstico de LEG, terapia de inducción, terapia de mantenimiento actual, dosis de prednisona actual, uso de IECA/ARAI actual, síndrome clínico nefrológico de presentación (síndrome nefrótico, síndrome nefrítico, anormalidades urinarias asintomática), motivo de la biopsia, puntaje de SLEDAI/SLICC actual.

Variables de laboratorio: anemia $<12\text{g/dl}$, trombocitopenia $< 100,000\text{xmm}^3$. Anticuerpos anti-DNAc, niveles de complemento C3, niveles de complemento C4, albúmina sérica, hematuria (5 o más eritrocitos en sedimento urinario).

Variables derivadas de biopsia renal: clasificación de nefritis lúpica (NL) ISN/RPS, índice de actividad de la NL, índice de cronicidad de la NL, esclerosis total, semilunas fibrosas y celulares, inflamación intersticial, proliferación endocapilar, porcentaje de atrofia tubular y fibrosis intersticial.

B. Procedimientos del estudio

Se invitó a participar a todo paciente ingresado por presentar NL activa con criterios de realizar biopsia renal percutánea. Una vez firmado el consentimiento informado del estudio se le realizó una historia clínica completa, historia previa de lupus eritematoso generalizado, terapéutica empleada, exploración física completa. A partir de los datos se determinaron las escalas de actividad (SLEDAI-2k) y de daño (SLICC) de lupus eritematoso generalizado.

C. Estudios de laboratorio iniciales

En la evaluación de todo paciente que ingresa con datos de NL activa se incluye rutinariamente la medición de citometría hemática, tiempos de coagulación, química sanguínea, albúmina sérica, examen general de orina, proteinuria y creatinuria en orina de

24 horas, niveles de anticuerpos contra DNA de doble cadena, niveles de fracciones C3 y C4 del complemento.

D. Conservación de muestras sanguíneas y de orina

Previo a la realización de biopsia renal percutánea se tomaron 2 tubos de 5mL de sangre y 1 tubo de 5mL de orina. Dichas muestras se trasladaron en frío al laboratorio de nefrología y metabolismo mineral donde se centrifugaron y se separaron en tubos Eppendorf almacenándose a -70°C.

E. Medición del Biomarcador urinario CD11b/Mac1

El marcador CD11b/Mac1 urinario se midió mediante técnica de inmunoensayo ligado a enzima (ELISA) con un kit comercialmente disponible (MBS702254-96, MyBioSource, San Diego, CA, USA). Todas las muestras se corrieron por duplicado siguiendo las instrucciones del fabricante. Una vez obtenidos los valores de CD11b urinario, los valores totales fueron corregidos por la concentración urinaria de creatinina.

F. Análisis histopatológico de la biopsia renal percutánea

Los cilindros obtenidos del procedimiento de biopsia renal fueron fijados con formaldehído al 4% para el análisis de microscopía de luz. Se realizaron cortes secuenciales de 3- μ m para la tinción histológica con hematoxilina y eosina, ácido peryódico de Schiff, plata metenamina de Jones y tinción tricrómica de Masson.

Los parámetros patológicos como los índices de actividad y cronicidad fueron reportados como ha sido descrito por H *Austin y cols. 1983* (13).

Para el depósito de complejos inmunes se realizó inmunohistoquímica utilizando anticuerpos de conejo anti-humano IgG, IgM, IgA, C3c y C1q en tejido fijado en formalina de 4- μ m de grosor.

Las lecturas de las biopsias fueron realizadas por una experta nefropatóloga de nuestra unidad hospitalaria.

Todas las biopsias fueron clasificadas de acuerdo a la clasificación de la ISN/RPS 2003 (14).

G. Riesgos del estudio

Biopsia renal percutánea

El estudio no influyó en la decisión ni programación de biopsia renal percutánea de ninguno de los pacientes. De acuerdo a estadísticas del INCMNSZ, el riesgo de complicaciones mayores (definidas como aquellas que requieren de intervención como transfusión, cateterismo, cirugía) en un procedimiento de biopsia renal percutánea es menor al 2% en general, y menor del 1% en pacientes que no cuentan con factores de riesgo para el procedimiento (15).

Muestreo para estudios de laboratorio

Se realizó un procedimiento de venopunción previo a la biopsia renal, obteniendo un máximo de 10cc de sangre por toma. Los riesgos propios de este procedimiento son hematoma, sangrado, infección en sitio de punción, los cuales tienen una incidencia muy baja. No se reportaron complicaciones a lo largo del estudio. La muestra de orina fue colectada por los pacientes, lo cual no conllevó riesgos.

RESULTADOS

RESULTADOS DEL ESTUDIO TRANSVERSAL DE sCD11b URINARIO

Descripción de la población estudiada

Se incluyó a un total de 134 pacientes con NL activa diagnosticada mediante biopsia renal. Un total de 119 (89%) pacientes fueron mujeres, con una mediana de edad en 30 años (rango intercuartilar [RIC] 25-39 años), un tiempo medio de diagnóstico de la enfermedad en 50 meses (RIC 9 a 112 meses), y un índice de masa corporal en 25.6kg/m² (RIC 22.7-28.1kg/m²) (Tabla 1).

Al momento de la inclusión en el estudio, las medianas de los puntajes de actividad de la enfermedad fueron: puntaje ACR 5 puntos (RIC 4-7), puntaje SLEDAI-2k 16 puntos (RIC 12-20) y puntaje SLEDAI-2k no renal de 5 puntos (RIC 4-10) (Tabla 1).

En un total de 87 (65%) pacientes, el episodio de NL correspondió al primer episodio, mientras que en 31 (25%), 14 (10%) y 2 (2%), correspondió al segundo, tercero y cuarto respectivamente (Tabla 1). El síndrome clínico de presentación fue síndrome nefrótico en 40 (30%) pacientes, síndrome nefrítico en 36 (27%), anormalidad asintomática del sedimento urinario en 39 (29%) y hallazgos sugerentes de enfermedad renal crónica en 19 (14%).

En cuanto a pruebas de función renal, la mediana de creatinina sérica fue 1.0 mg/dL (RIC 0.7-2.0mg/dL), tasa de filtrado glomerular estimada en 75mL/min/1.73m² (RIC 35-111), proteinuria de 24h en 3.6 g/24h (RIC 2.1-5.5), relación proteína/creatinina urinaria de 24 horas (UPCR 24h) en 3.3 g/g de creatinina (RIC 2.1-5.3), hematuria en 96 (72%) pacientes (Tabla 1).

Los estudios de laboratorio al momento del episodio de NL mostraron una mediana de hemoglobina sérica de 12.2 g/dL (RIC 10.5-13.6g/dL), plaquetas de 242,000/mm³ (RIC 172,000-307,000), albúmina de 2.9 g/dL (RIC 2.3-3.5g/dL), anticuerpos contra DNA de doble cadena de 121U/L (RIC 17-576U/L), anticuerpos anti-DNA_{dc} positivos en 111 (83%) pacientes, niveles de complemento C3 de 70 mg/dL (RIC 46-89), niveles de C3 disminuidos

94 (70%) pacientes, niveles de complemento C4 de 8 mg/dL (RIC 8-14), niveles de C4 disminuidos en 108 (81%) pacientes. (Tabla 1).

Tabla 1. Características clínicas y de laboratorio de los pacientes incluidos.

Característica	Nefritis Lúpica Activa (n=134)
Sexo Femenino, n (%)	119 (89)
Edad, años	32 (25-39)
Meses con LEG	50 (9-112)
IMC, kg/m ²	25.6 (22.7-28.1)
Episodio de nefrítica lúpica	
primer episodio	87 (65)
segundo episodio	31 (23)
tercer episodio	14 (10)
cuarto episodio	2 (2)
TA sistólica, mmHg	125 (112-145)
TA diastólica, mmHg	80 (70-90)
Creatinina sérica, mg/dL	1.0 (0.7-2.0)
TFGe, mL/min/1.73m ²	75 (35-111)
Proteinuria 24h, g/24h	3.6 (2.1-5.5)
24h-UPCR, g/g·creatinina	3.3 (2.1-5.3)
Hematuria, n (%)	96 (72)
Hemoglobina, g/dL	12.2 (10.5-13.6)
Plaquetas, x10 ³ /mm ³	242 (172-307)
Albúmina sérica, g/dL	2.9 (2.3-3.5)
Anticuerpos anti-DNA de doble cadena, U/mL	121 (17-576)
Anticuerpos anti-DNA _{dc} positivos, n (%)	111 (83)
Complemento C3, mg/dL	70 (46-89)
C3 bajo, n (%)	94 (70)
Complemento C4, mg/dL	8 (8-14)
C4 bajo, n (%)	108 (81)
Puntaje ACR, puntos	5 (4-7)
Puntaje SLEDAI2k, puntos	16 (12-20)
Puntaje SLEDAI2k no renal, puntos	5 (4-10)

Características histopatológicas del tejido renal

El análisis histopatológico de la biopsia renal mostró NL clase II de la ISN/RPS en 2 (2%) pacientes, clase III±V en 44 (33%), clase IV±V en 78 (58%), y clase V en 10 (8%) pacientes.

Se evaluó cada uno de los ítems histopatológicos contenidos en los índices de actividad y cronicidad de la biopsia renal. Cada uno de los ítems se clasificó como ausente si se encontraba en menos del 5% de los glomérulos, leve (5-25%), moderado (26-50%) o grave (>50%). Los hallazgos histopatológicos de los ítems de actividad se muestran en la Tabla 2 y los de los ítems de cronicidad en la Tabla 3.

Tabla 2. Hallazgos de actividad en la biopsia renal de los pacientes incluidos

Ítem	NL activa (n=134)
Necrosis fibrinoide	
Ausente (<5% glomérulos)	108 (79)
Leve (5-25%)	21 (15)
Moderada (26-50%)	5 (4)
Severa (>50%)	2 (2)
Proliferación endocapilar	
Ausente (<5% glomérulos)	68 (50)
Leve (5-25%)	34 (25)
Moderada (26-50%)	19 (14)
Severa (>50%)	15 (11)
Leucostasis	
Ausente (<5% glomérulos)	70 (52)
Leve (5-25%)	32 (24)
Moderada (26-50%)	23 (17)
Severa (>50%)	11 (8)
Asas de alambre	
Ausente (<5% glomérulos)	105 (77)
Leve (5-25%)	20 (15)
Moderada (26-50%)	6 (4)

Severa (>50%)	5 (4)
Cariorrexis	
Ausente (<5% glomérulos)	110 (81)
Leve (5-25%)	16 (12)
Moderada (26-50%)	8 (6)
Severa (>50%)	2 (2)
Trombos hialinos	
Ausente (<5% glomérulos)	117 (86)
Leve (5-25%)	12 (9)
Moderada (26-50%)	4 (3)
Severa (>50%)	3 (2)
Semilunas celulares	
Ausente (<5% glomérulos)	96 (71)
Leve (5-25%)	27 (20)
Moderada (26-50%)	13 (10)
Severa (>50%)	-
Inflamación intersticial	
Ausente (<5% glomérulos)	40 (29)
Leve (5-25%)	74 (54)
Moderada (26-50%)	18 (13)
Severa (>50%)	14 (10)

Tabla 3. Hallazgos de cronicidad en la biopsia renal de los pacientes incluidos

NL activa (n=134)	
Esclerosis glomerular	
Ausente (<5% glomérulos)	20 (15)
Leve (5-25%)	41 (30)
Moderada (26-50%)	40 (29)
Severa (>50%)	35 (26)
Semilunas fibrosas	
Ausente (<5% glomérulos)	95 (70)
Leve (5-25%)	35 (26)
Moderada (26-50%)	5 (4)
Severa (>50%)	1 (1)
Fibrosis intersticial	
Ausente (<5% glomérulos)	17 (13)
Leve (5-25%)	72 (53)
Moderada (26-50%)	35 (53)
Severa (>50%)	12 (9)
Atrofia Tubular	
Ausente (<5% glomérulos)	21 (15)
Leve (5-25%)	71 (52)
Moderada (26-50%)	30 (22)
Severa (>50%)	14 (10)

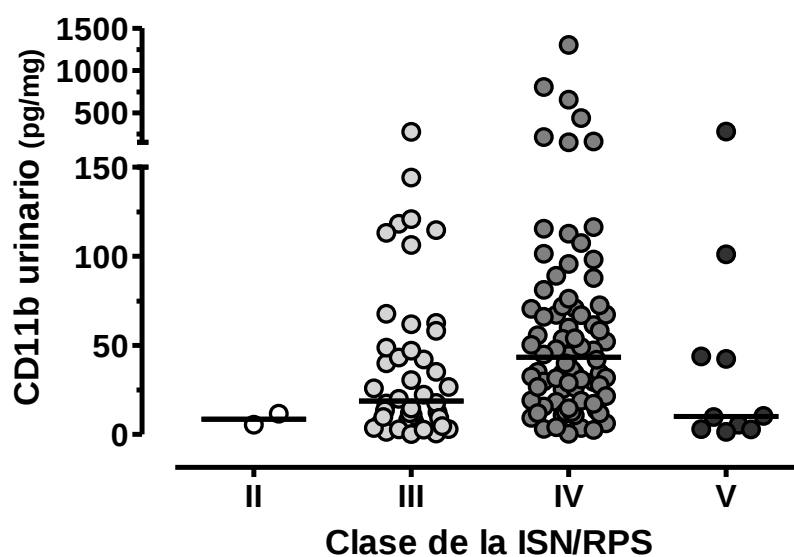
Niveles basales de diversos marcadores urinarios estudiados

Los niveles basales de CD11b soluble urinario fueron de 34.3 pg/mg (RIC 11.9-67.2). Adicionalmente se midieron los niveles de CD163 urinario cuya mediana fue 1890 ng/mg (RIC 189-4300), la proteína quimiotáctica de monocitos MCP-1 cuya mediana fue de 682 pg/mg (RIC 280-1763) y los niveles del marcador de función tubular factor de crecimiento epidérmico EGF cuya mediana fue de 6.8 ng/mg (RIC 3.4-11.2).

Los niveles de CD11b urinario entre distintas clases histopatológicas de nefritis lúpica

Como se muestra en la Figura 1, los niveles urinarios de CD11b fueron significativamente mayores en pacientes con clases histopatológicas III y IV, en comparación con los pacientes con nefritis lúpica clases II y V.

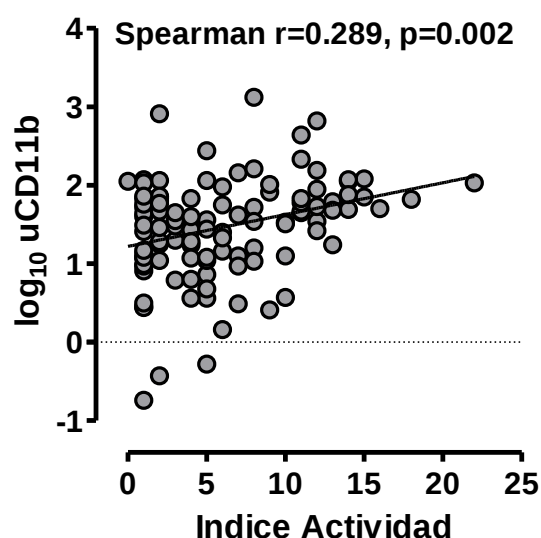
Figura 1. Distribución de niveles urinarios de CD11b de acuerdo a la clase histopatológica



Correlación entre los niveles urinarios de CD11b y los hallazgos histopatológicos

Los niveles urinarios de CD11b correlacionaron débilmente con el índice histológico de actividad renal (Spearman $r=0.289$, $p=0.002$), como se muestra en la Figura 2. Al analizar las correlaciones con los diversos ítems de actividad y cronicidad, se encontraron correlaciones débiles entre los niveles urinarios de CD11b y la hiper celularidad endocapilar ($r=0.222$, $p=0.010$), CD11b y leucostasis ($r=0.218$, $p=0.011$), asas de alambre ($r=0.201$, $p=0.020$), trombos hialinos ($r=0.184$, $p=0.033$), y semilunas celulares ($r=0.227$, $p=0.008$), Tabla 4.

Figura 2. Correlación entre los niveles urinarios de CD11b y el índice histológico de actividad



Por otra parte, se encontraron correlaciones débiles entre los niveles urinarios de CD11b y la presencia de semilunas fibrosas ($r=0.179$, $p=0.039$), porcentaje de fibrosis intersticial ($r=0.204$, $p=0.018$) y porcentaje de atrofia tubular ($r=0.211$, $p=0.015$). Finalmente, los niveles urinarios de CD11b también correlacionaron débilmente con el índice histológico de cronicidad ($r=0.261$, $p=0.002$), Tabla 4.

Tabla 4. Correlación entre los niveles urinarios de CD11b y los parámetros histológicos de la biopsia renal

Parámetro	r	Valor p
Necrosis fibrinoide	0.083	0.339
Hipercelularidad endocapilar	0.222	0.010
Leucostasis	0.218	0.011
Asas de alambre	0.201	0.020
Cariorrexis	0.151	0.082
Trombos hialinos	0.184	0.033
Semilunas celulares	0.227	0.008
Inflamación intersticial	0.163	0.059
Índice de actividad	0.289	0.002

	r	Valor p
Esclerosis global	0.040	0.642
Semilunas fibrosas	0.179	0.039
Fibrosis intersticial	0.204	0.018
Atrofia tubular	0.211	0.015
Índice de cronicidad	0.261	0.002

RESULTADOS DEL ESTUDIO LONGITUDINAL DE sCD11b URINARIO

Para la fase de estudio longitudinal se lograron obtener muestras secuenciales a los 3, 6 y 12 meses de seguimiento en un subgrupo de 84 pacientes de aquellos incluidos en la fase transversal del estudio.

Características de la población estudiada

De los 84 pacientes incluidos, 76 (91%) fueron mujeres, con una mediana de edad de 32 años (RIC 25-40 años), un tiempo de evolución de LEG de 34 meses (RIC 3-75). En este subgrupo de pacientes, 57 (68%) pacientes experimentaron su primer episodio de nefritis lúpica. Al momento del episodio de nefritis lúpica, sus puntajes de actividad tuvieron una media de 6 puntos (RIC 4-8) para el puntaje ACR, 17 puntos (RIC 14-22) para el puntaje SLEDAI-2k, y 7 puntos (RIC 4-10) para el puntaje SLEDAI-2k sin tomar en cuenta los puntos renales (Tabla 5).

Los estudios de laboratorio al momento del episodio de NL se muestran en la Tabla 5. La mediana de creatinina durante el episodio fue 1.1mg/dL (RIC 0.7-2.0), proteinuria de 24 horas de 3.5 g/24h (RIC 2.1-5.6), razón proteinuria/creatinuria 3.2 g/g (RIC 2.1-5.1). Un total de 64 (76%) pacientes se presentaron con hematuria, 72 (86%) tuvieron anticuerpos anti-DNA de doble cadena positivos, 76 (90%) niveles de complemento C3 bajo y 76 (90%) niveles de complemento C4 bajo.

Tabla 5. Características de la cohorte incluida en la fase longitudinal

Característica	NL activa (n=84)
Sexo Femenino, n (%)	76 (91)
Edad, años	32 (25-40)
Meses con LEG	34 (3-75)
IMC, kg/m ²	25.7 (23.5-28.1)
Episodio de nefritis lúpica	
primer episodio	57 (68)
segundo episodio	18 (21)
tercer episodio	7 (8)
cuarto episodio	2 (2)
TA sistólica, mmHg	130 (115-146)
TA diastólica, mmHg	80 (70-90)
Creatinina, mg/dL	1.1 (0.7-2.0)
TFGe, mL/min/1.73m ²	71 (34-106)
Proteinuria, g/24h	3.5 (2.1-5.6)
24h-UPCR, g/g	3.2 (2.1-5.1)
Hematuria, n (%)	64 (76)
Hemoglobina, g/dL	11.9 (10.5-13.6)
Plaquetas, x10 ³ /mm ³	233 (168-297)
Albúmina, g/dL	2.9 (2.2-3.5)
Anticuerpos anti-DNAc	133 (20-606)
Anticuerpos anti-DNAc positivos	72 (86)
Complemento C3, mg/dL	61 (43-89)
C3 disminuido, n (%)	76 (90)
Complemento C4, mg/dL	8 (8-14)
C4 bajo, n (%)	76 (90)
Puntaje ACR, puntos	6 (4-8)
Puntaje SLEDAI2k, puntos	17 (14-22)
Puntaje SLEDAI2k no renal, puntos	7 (4-10)

En la Tabla 6 se especifican las características histopatológicas de la población incluida en la fase longitudinal. De los 84 pacientes incluidos, 1 (1%) tuvo nefritis lúpica clase II, 28 (33%) nefritis lúpica clase III±V, 50 (60%) nefritis lúpica clase IV±V, y 5 (6%) nefritis lúpica clase V.

Tabla 6. Características histopatológicas de los pacientes incluidos en la fase longitudinal

	NL activa (n=84)
Necrosis fibrinoide	
Ausente (<5% glomérulos)	68 (81)
Leve (5-25%)	11 (13)
Moderada (26-50%)	3 (4)
Severa (>50%)	2 (2)
Proliferación endocapilar	
Ausente (<5% glomérulos)	42 (50)
Leve (5-25%)	22 (26)
Moderada (26-50%)	7 (8)
Severa (>50%)	13 (16)
Leucostasis	
Ausente (<5% glomérulos)	44 (52)
Leve (5-25%)	21 (25)
Moderada (26-50%)	10 (12)
Severa (>50%)	9 (11)
Asas de alambre	
Ausente (<5% glomérulos)	64 (76)
Leve (5-25%)	14 (17)
Moderada (26-50%)	4 (5)
Severa (>50%)	2 (2)
Cariorrexis	
Ausente (<5% glomérulos)	66 (79)
Leve (5-25%)	11 (13)
Moderada (26-50%)	5 (6)
Severa (>50%)	2 (2)

Trombos hialinos	
Ausente (<5% glomérulos)	70 (83)
Leve (5-25%)	10 (12)
Moderada (26-50%)	3 (4)
Severa (>50%)	1 (1)
Semilunas celulares	
Ausente (<5% glomérulos)	56 (67)
Leve (5-25%)	20 (24)
Moderada (26-50%)	8 (10)
Severa (>50%)	0 (0)
Inflamación intersticial	
Ausente (<5% glomérulos)	25 (30)
Leve (5-25%)	48 (57)
Moderada (26-50%)	8 (10)
Severa (>50%)	3 (4)
NL activa (n=84)	
Esclerosis glomerular	
Ausente (<5% glomérulos)	11 (13)
Leve (5-25%)	28 (33)
Moderada (26-50%)	27 (32)
Severa (>50%)	18 (21)
Semilunas fibrosas	
Ausente (<5% glomérulos)	60 (71)
Leve (5-25%)	23 (27)
Moderada (26-50%)	1 (1)
Severa (>50%)	0 (0)
Fibrosis intersticial	
Ausente (<5% glomérulos)	10 (12)
Leve (5-25%)	49 (58)
Moderada (26-50%)	19 (23)
Severa (>50%)	6 (7)
Atrofia Tubular	
Ausente (<5% glomérulos)	13 (16)

Leve (5-25%)	47 (56)
Moderada (26-50%)	18 (21)
Severa (>50%)	6 (7)

En la Tabla 7 se especifican los tratamientos recibidos de inducción a la remisión recibidos por los pacientes incluidos en la fase longitudinal del estudio. La mayor parte de los pacientes recibió tratamiento con mofetil micofenolato (62%), seguido de ciclofosfamida intravenosa (30%), esquema combinado con inhibidor de calcineurina y mofetil micofenolato (5%), y azatioprina (5%). Todos los pacientes recibieron esteroides orales y un 39% adicionalmente recibió pulsos de metilprednisolona. Del total de pacientes, 55 (66%) recibieron además tratamiento antihipertensivo y 45 (54%) recibieron inhibidores del sistema renina angiotensina aldosterona.

Las tasas de respuesta a los 12 meses de tratamiento inmunosupresor fueron: 32 (38%) pacientes tuvieron una remisión completa, 20 (24%) pacientes tuvieron una remisión parcial, y 32 (38%) pacientes no respondieron al tratamiento.

Tabla 7. Tratamiento de los pacientes incluidos en la fase longitudinal

NL activa (n=84)	
Pulsos metilprednisolona	33 (39)
Prednisona en los primeros 3 meses, g	2.7 (2.0-3.0)
Ciclofosfamida intravenosa	25 (30)
Mofetil micofenolato	52 (62)
Azatioprina	4 (5)
Inhibidor calcineurina + MMF	3 (3)

Niveles de los biomarcadores urinarios estudiados en la fase longitudinal

En cuanto al comportamiento de los marcadores estudiados en orina y su evolución se encontró que MCP1 fue de 796 ng/dL (377-2041), a los 3 meses media de 625ng/dL (275-1349), a los 6 meses en 414ng/dL (237-1023) y a los 12 meses en 407ng/dL (163-905). (Tabla 8)

El sCD163 inicial fue de 2301ng/dL (925-5012), a los 3 meses una media de 597 ng/dL (258-2610), a los 6 meses con media de 379 ng/dL (135-1094) y a los 12 meses media de 232ng/dL (42-1017). (Tabla 8)

El sCD11b inicial tuvo una media de 47.4pg/mg (17.7-88.8), a los 3 meses en 17.8pg/mg (5.4-47.6), a los 6 meses en 13.5pg/mg (4.0-37.7) y, a los 12 meses en 10.6 pg/dL (4.4-24.9). (Tabla 8)

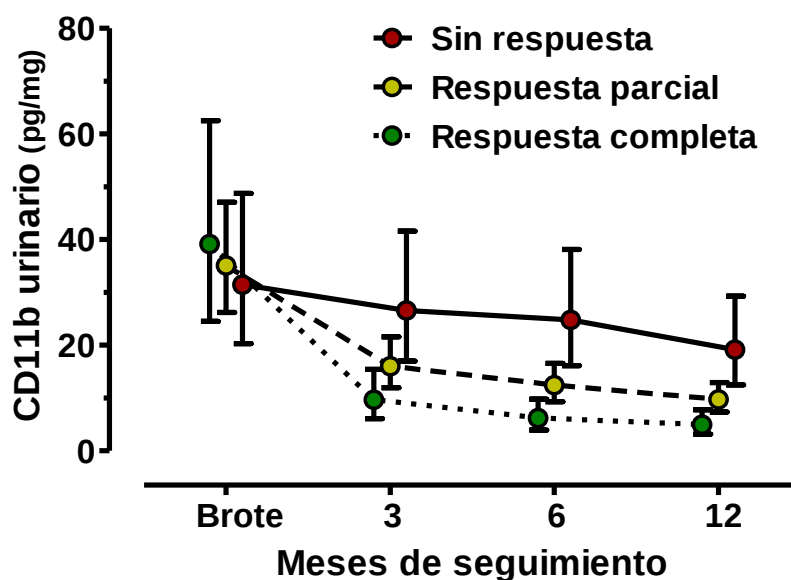
Tabla 8. Comportamiento y evolución de marcadores urinarios en estudio fase transversal.

NL activa (n=84)	
MCP1 basal	796 (377-2041)
MCP1- 3 meses	625 (275-1349)
MCP1- 6 meses	414 (237-1023)
MCP1- 12 meses	407 (163-905)
sCD163 basal	2301 (925-5012)
CD163- 3 meses	597 (258-2610)
CD163- 6 meses	379 (135-1094)
CD163- 12 meses	232 (42-1017)
sCD11b basal	47.4 (17.7-88.8)
sCD11b – 3 meses	17.8 (5.4-47.6)
sCD11b – 6 meses	13.5 (4.0-37.7)
sCD11b – 12 meses	10.6 (4.4-24.9)

Curso de CD11b urinario en respuesta al tratamiento inmunosupresor

El curso de CD11b urinario en respuesta al tratamiento inmunosupresor se muestra en la Figura 3. En los grupos con respuesta al tratamiento, los niveles urinarios de CD11b disminuyeron rápidamente entre los valores iniciales y los primeros 3 meses, permaneciendo bajos en los grupos respondedores y manteniéndose elevados en el grupo sin respuesta al tratamiento. Se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los valores a los 3, 6 y 12 meses en los grupos con respuesta completa y sin respuesta al tratamiento.

Figura 3. Curso de los niveles de CD11b urinario de acuerdo a la respuesta al tratamiento

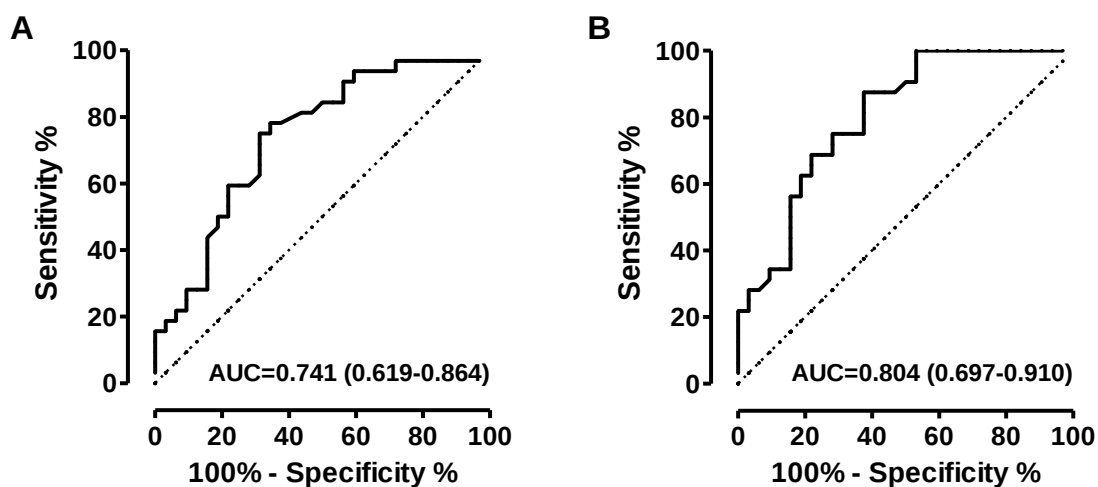


Desempeño de los niveles de CD11b urinario para predecir la respuesta al tratamiento a los 12 meses de seguimiento

Dado que los niveles urinarios de CD11b diferenciaron entre los grupos con respuesta completa al tratamiento y aquellos sin respuesta, se evaluó mediante curvas ROC la capacidad predictiva de los niveles de CD11b urinario a los 3 y 6 meses para prever una respuesta completa a los 12 meses.

Como se muestra en la Figura 4, el área bajo la curva de los niveles urinarios de CD11b a los 3 meses para predecir la respuesta a los 12 meses fue de 0.74, con una sensibilidad de 75% y especificidad del 69%. Por otra parte, los niveles urinarios de Cd11b a los 6 meses de tratamiento, tuvieron un área bajo la curva de 0.80, con una sensibilidad de 75% y especificidad de 72%.

Figura 4. Desempeño de los niveles urinarios de CD11b a los 3 (A) y 6 (B) meses de seguimiento para predecir la respuesta al tratamiento a los 12 meses.



Comparación del valor predictivo del marcador CD11b urinario y otros biomarcadores de actividad en nefritis lúpica

En la Tabla 9 se muestra el valor predictivo de diversos marcadores urinarios para diferenciar entre pacientes respondedores y no respondedores al tratamiento.

Como puede observarse en la Tabla 9, el marcador CD11b urinario fue superior a los marcadores serológicos (anticuerpos anti-DNA_{dc} y niveles de complemento), así como al marcador urinario MCP-1. Sin embargo, los niveles urinarios de CD11b fueron inferiores al biomarcador urinario CD163 así como a los niveles de proteinuria, aunque este último es poco válido dado que la proteinuria está incluida en la definición clínica de respuesta al tratamiento.

Tabla 9. Comparación de diversos marcadores para predecir respuesta a 12 meses.

Predictor	ABC	Punto corte	Sensibilidad	Especificidad	+LR	-LR
CD11b a los 3 meses	0.741 (0.619-0.864)	19.7	75	69	2.40	0.36
CD11b a los 6 meses	0.804 (0.697-0.910)	11.9	69	78	3.14	0.40
CD163 a los 3 meses	0.807 (0.694-0.920)	531	75	72	2.72	0.35
CD163 a los 6 meses	0.892 (0.807-0.977)	417	90	83	5.22	0.12
MCP-1 a los 3 meses	0.717 (0.585-0.849)	575	70	67	2.10	0.45
MCP-1 a los 6 meses	0.763 (0.641-0.885)	327	70	81	3.62	0.37
Proteinuria a los 3 meses	0.842 (0.742-0.941)	1.7	81	78	3.71	0.24
Proteinuria a los 6 meses	0.935 (0.875-0.995)	1.5	88	84	5.60	0.14
Anti-dsDNA a los 3 meses	-	negativo	16	84	1.00	1.00
Anti-dsDNA a los 6 meses	-	negativo	31	69	1.00	1.00
C3 a los 3 meses	-	normal	72	63	1.95	0.44
C3 a los 6 meses	-	normal	78	56	1.77	0.39

Niveles de CD11b urinario y respuesta histopatológica

Dado que ha sido demostrado que la definición clínica de remisión no siempre concuerda con la respuesta histológica completa, se analizó la concordancia entre los diversos marcadores evaluados y la respuesta histopatológica en 14 pacientes quienes contaban con biopsias repetidas.

La concordancia entre un nivel de CD11b urinario < 12pg/mg y una respuesta histológica completa fue de kappa=0.851, mientras que del marcador CD163 urinario fue de kappa=1.00. A comparación de estos marcadores, la concordancia de una proteinuria menor de 500mgs/24h (definición clínica de proteinuria) fue solamente de kappa=0.462.

DISCUSIÓN

La diferenciación entre actividad (inflamación) y cronicidad en NL continúa siendo foco de discusión y controversia. En este estudio, demostramos que el biomarcador CD11b, una molécula fácilmente detectable en orina proveniente de células mononucleares, se encuentra elevado en la orina de pacientes con nefritis lúpica activa. Los niveles urinarios de CD11b correlacionan con los índices histológicos de actividad y cronicidad, y su curso clínico en respuesta al tratamiento permite diferenciar entre pacientes con remisión clínica completa y aquellos sin respuesta al tratamiento inmunosupresor. Finalmente, este marcador urinario concuerda mejor con los hallazgos histopatológicos que la proteinuria.

El biomarcador CD11b deriva es un receptor presente en células mononucleares (11) que puede liberarse de las células infiltrantes del tejido renal, siendo detectable en orina. Tanto los neutrófilos como los macrófagos expresan este receptor, y ambos tipos celulares han sido involucrados en la fisiopatogenia de la nefritis lúpica (9). De acuerdo a un estudio previo (12), esta molécula es detectable mediante inmunohistoquímica en el tejido renal de pacientes con NL activa. Dado que ambos tipos celulares se detectan predominantemente en las clases histológicas III y IV de nefritis lúpica, en dicho estudio (12), los niveles urinarios del marcador facilitaron la diferenciación de clases histopatológicas.

En este estudio, de acuerdo a lo previamente reportado, se encontraron niveles elevados de CD11b urinario en pacientes con NL activa. Así mismo, los niveles urinarios del biomarcador fueron mayores en las clases histológicas “proliferativas” de nefritis lúpica, similar a lo previamente descrito (12). A diferencia del estudio previo, la correlación de los niveles urinarios de CD11b con el índice histológico de actividad fueron menores ($r=0.726$ vs $r=0.289$), y adicionalmente se encontró una correlación débil con el índice histológico de cronicidad.

En la evaluación longitudinal del biomarcador en respuesta al tratamiento, similar a lo descrito en un número pequeño de pacientes, se encontró que los niveles urinarios de CD11b disminuyen rápidamente en pacientes con buena respuesta a la fase de inducción a la remisión, específicamente entre el inicio del tratamiento y los 3 meses del tratamiento. Por otra parte, los niveles urinarios del biomarcador permanecen elevados en aquellos pacientes sin respuesta al tratamiento. Se ha descrito previamente que los niveles urinarios de CD11b correlacionan con el número de células (neutrófilos y macrófagos) CD11b+ que

infiltran el tejido renal. Por tanto, las observaciones descritas, sugieren que, en pacientes con respuesta clínica completa, la disminución rápida de los niveles urinarios de CD11b traduce la respuesta y eliminación de las células infiltrantes del tejido renal. Esta hipótesis se ve respaldada por el hallazgo de una buena concordancia entre un nivel de CD11b urinario debajo de 12 pg/mg y la ausencia de inflamación en la biopsia renal en el pequeño subgrupo de pacientes estudiado mediante biopsia repetida.

El desempeño del biomarcador CD11b urinario para identificar una respuesta renal completa de forma temprana es superior a los biomarcadores serológicos utilizados actualmente (anticuerpos anti-DNA de doble cadena, niveles de complemento C3). Sin embargo, su desempeño a los 3 y 6 meses es aún moderado.

Recientemente se han estudiado otros marcadores de células infiltrantes del tejido renal, en especial los macrófagos. Los macrófagos que infiltran el tejido renal suelen corresponder al subtipo M2c, caracterizados por la expresión del receptor CD163 en su superficie. Al igual que CD11b, este marcador es detectable en orina y ha sido estudiado previamente como un potencial marcador de actividad de nefritis lúpica (8). En este estudio, se corroboró la utilidad de los niveles de CD163 urinario, e incluso, como marcador único, los niveles de CD163 urinario tuvieron un mejor desempeño que los niveles urinarios de CD11b para identificar una respuesta a 12 meses. A pesar de ello, se observaron diferencias importantes entre ambos marcadores:

- 1) el curso clínico del descenso de los niveles de CD11b urinario en pacientes con respuesta renal completa fue más rápido en comparación con el descenso de CD163 urinario, lo cual sugiere que CD11b podría representar un marcador más temprano de respuesta.
- 2) A diferencia de CD163, los niveles de CD11b urinario disminuyen a los 3 meses del tratamiento y posteriormente no tienen cambios significativos; mientras que los niveles de CD163 continúan reduciendo a lo largo del tiempo

Por tanto, se vislumbra que ambos biomarcadores puedan utilizarse conjuntamente con información complementaria: CD11b urinario representando la respuesta de células inflamatorias aguda y CD163 representando la respuesta de células inflamatorias crónicas y de la persistencia de inflamación en el tejido renal. El análisis conjunto de estos marcadores no correspondió con los objetivos de este estudio, pero se planea realizar en fases futuras, incluso utilizando otros biomarcadores de inflamación aguda y crónica.

Existen algunas limitaciones al presente estudio: en primer lugar, debido a los costos de medición del biomarcador, no fue posible incluir grupos controles con LEG sin actividad renal para verificar la especificidad del biomarcador para inflamación renal; en segundo lugar, solamente se contó con tejido renal de biopsia repetida en un pequeño subgrupo de pacientes y no fue posible realizar inmunohistoquímica para la detección del biomarcador en el tejido renal. Finalmente, el seguimiento es corto y no se pudieron documentar desenlaces renales a largo plazo, cuya mejoría es el principal objetivo del tratamiento de la nefritis lúpica.

En conclusión, este estudio demuestra que los niveles urinarios de CD11b se elevan en pacientes con nefritis lúpica activa, disminuyen rápidamente con el tratamiento en pacientes respondedores y correlacionan con los hallazgos inflamatorios del tejido renal. Con todo esto, este biomarcador surge como una molécula prometedora para el manejo de los pacientes con nefritis lúpica.

CONCLUSIONES

Los niveles urinarios de CD11b se elevan en pacientes con nefritis lúpica activa, tienen correlación con los hallazgos de inflamación de la biopsia renal y representan un marcador temprano de respuesta en pacientes con remisión. Por lo tanto, este biomarcador urinario utilizado individualmente o en combinación con otros es una herramienta para el diagnóstico no invasivo de inflamación renal en nefritis lúpica.

BIBLIOGRAFÍA

- 1- Samir V. Parikh, Salem Almaani, Sergey Brodsky, and Brad H. Rovin, Update on Lupus Nephritis: Core Curriculum 2020 *Am J Kidney Dis.* 2020 Mar 24; S0272-6386(19)31170-9.
- 2- Danchenko N, Satia JA, Anthony MS, et al. Epidemiology of systemic lupus erythematosus: a comparison of worldwide disease burden. *Lupus.* 2006; 15:308-318.
- 3- Korbet SM, Schwartz MM, Evans J, Lewis EJ; Collaborative Study Group. Severe lupus nephritis: racial differences in presentation and outcome. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18(1):244-254.
- 4- Lech M and Anders H. The Pathogenesis of Lupus Nephritis. *J Am Soc Nephrol* 24: 1357–1366, 2013.
- 5- Muñoz LE, Lauber K, Schiller M, et al: The role of defective clearance of apoptotic cells in systemic autoimmunity. *Nat Rev Rheumatol* 6: 280– 289, 2010.
- 6- Chan TM (2015). Treatment of severe lupus nephritis: the new horizon. *Nat rev Nephrol* 11(1):46–61.
- 7- Schiffer L, Sinha J, Wang X, et al. Short term administration of costimulatory blockade and cyclophosphamide induces remission of systemic lupus erythematosus nephritis in NZB/W F1 mice by a mechanism downstream of renal immune complex deposition. *J Immunol.* 2003 Jul 1;171(1):489-97.
- 8- Mejia-Vilet JM, Zhang XL, Brad H Rovin, et al. Urinary Soluble CD163: a Novel Noninvasive Biomarker of Activity for Lupus Nephritis, *JASN* April 2020, ASN.2019121285.
- 9- Khan SQ, Khan I and Gupta V (2018) CD11b Activity Modulates Pathogenesis of Lupus Nephritis. *Front. Med.* 5:52. doi: 10.3389/fmed.2018.00052.
- 10- Yakubenko V, Lishko V.K, Lam S.C, et al. A molecular basis for integrin $\alpha_M\beta_2$ ligand binding promiscuity. *J Biol Chem.* 2002;277:48635–48642.
- 11- Podolnikova N, Kushchayeva Y, Ugarova T, et al. The Role of Integrins $\alpha_M\beta_2$ (Mac-1, CD11b/CD18) and $\alpha_D\beta_2$ (CD11d/CD18) in Macrophage Fusion. *Am J Pathol.* 2016 Aug; 186(8): 2105–2116.
- 12- Kitagawa A, Tsuboi N, Maruyama S, et al. Urinary levels of the leukocyte surface molecule CD11b associate with glomerular inflammation in lupus nephritis, *Kidney Int.* 2019 Mar;95(3):680-692.
- 13- Austin HA, Muenz LR, Joyce KM, et al. Prognostic factors in lupus nephritis. Contribution of renal histologic data. *Am J Med.* 1983 Sep;75(3):382-91.

- 14- Markowitz GS and D'Agati VD. The ISN/RPS 2003 classification of lupus nephritis: An assessment at 3 years. *Kidney International* (2007) 71, 491–495.
- 15- Mejía-Vilet JM, Márquez-Martínez MA, Morales-Buenrostro LE, et al Simple risk score for prediction of haemorrhagic complications after a percutaneous renal biopsy. *Nephrology (Carlton)*. 2018 Jun;23(6):523-529.