



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E
INVESTIGACIÓN



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES
“BERNARDO SEPULVEDA”
CENTRO MÉDICO NACIONAL “SIGLO XXI”

**COMPARACIÓN DE LOS MARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO Y
PROTEÍNA IP-10, CON EL GRADO DE ACTIVIDAD DEL LUPUS
ERITEMATOSO SISTÉMICO**

Tesis para obtener el diploma en la especialidad de
REUMATOLOGÍA

Presenta

Dra. MARISELA BERENICE BALDERAS GUERRERO

Tutor

Dr. JUAN MANUEL GALLARDO MONTOYA

Co-tutor

Dr. MIGUEL ÁNGEL VÁZQUEZ ZARAGOZA

CIUDAD DE MÉXICO

FEBRERO 2021



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



Universidad Nacional
Autónoma de México



Biblioteca Central

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM



UNAM – Dirección General de Bibliotecas

Tesis Digitales

Restricciones de uso

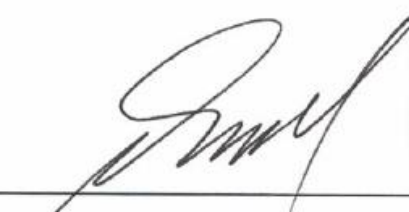
DERECHOS RESERVADOS ©

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.

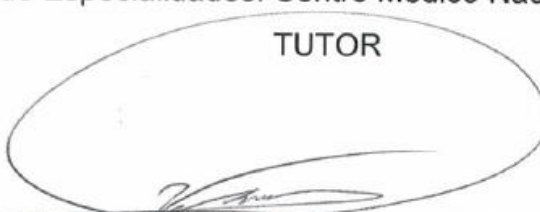



Dra. Victoria Mendoza Zubieta
Jefe de la División de Educación en Salud
Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional "Siglo XXI".


Dr. José Ramiro Hernández Vázquez
Profesor titular de la especialidad
Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional "Siglo XXI".


Dr. Juan Manuel Gallardo Montoya
Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas
Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional "Siglo XXI".

TUTOR


Dr. Miguel Ángel Vázquez Zaragoza
Servicio de Reumatología
Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional "Siglo XXI".
CO-TUTOR

CARTA DE AUTORIZACIÓN



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



Dictamen de Aprobado

Comité Local de Investigación en Salud **3601**.
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES Dr. BERNARDO SEPULVEDA GUTIERREZ, CENTRO MEDICO NACIONAL
SIGLO XXI

Registro COFEPRIS 17 CI 09 015 034
Registro CONBIOÉTICA **CONBIOÉTICA 09 CEI 023 2017082**

FECHA Lunes, 15 de julio de 2019

Dr. Miguel Angel Vázquez Zaragoza

PRESENTE

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con titulo **COMPARACIÓN DE LOS MARCADORES DE ANTIOXIDACIÓN, OXIDACIÓN Y PROTEÍNA IP-10, CON EL GRADO DE ACTIVIDAD DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO** que sometió a consideración para evaluación de este Comité, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A P R O B A D O**:

Número de Registro Institucional

R-2019-3601-166

De acuerdo a la normativa vigente, deberá presentar en junio de cada año un informe de seguimiento técnico acerca del desarrollo del protocolo a su cargo. Este dictamen tiene vigencia de un año, por lo que en caso de ser necesario, requerirá solicitar la reaprobación del Comité de Ética en Investigación, al término de la vigencia del mismo.

ATENTAMENTE

Dr. Carlos Fredy Cuevas García
Presidente del Comité Local de Investigación en Salud No. 3601

Imprimir

IMSS

SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

Esta tesis se desarrolló en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas con la supervisión del Dr. Juan Manuel GALLARDO y el apoyo técnico de la QBP Patricia VALDEZ CABALLERO y la Dra. Anakaren CRUZ ROSALES.

Los pacientes que aceptaron participar fueron reclutados en el Servicio de Reumatología con la supervisión del Dr. VÁZQUEZ ZARAGOZA.

Los fondos para la realización de este trabajo provinieron del Instituto Mexicano del Seguro Social. FIS/IMSS/PROT/G17/1664.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme la vida y la salud, especialmente en este tiempo de pandemia y por permitirme concluir este trabajo.

Al Dr. Juan Manuel Gallardo porque sin su dirección esta tesis no hubiera sido posible, gracias por su invitación a estudiar el estrés oxidativo en lupus, gracias por sus enseñanzas, motivación e impulso para continuar en el área de investigación, así como a Anakaren Cruz y Patricia Valdéz quienes realizaron una ardua labor en los análisis bioquímicos de cada paciente en este estudio, y sin su trabajo no hubiera sido posible la obtención de los marcadores.

A mis profesores Dr. Miguel Ángel Vázquez co-tutor de este estudio, gracias por sus enseñanzas en el área de Reumatología, al Dr. Ramiro Hernández Vásquez, Dr. Mario Pérez, Dra. Margarita Portela, Dra. Alina Hernández, Dra. Rocío Catana, Dra. Astrid Ramírez, Dra. Pamela Marín, Dr. Francisco Jiménez por su paciencia, consejos y apoyo en el proceso de realización de la tesis. Gracias a los químicos y doctoras del área de Laboratorio, por su apoyo en la obtención de muestras y en el análisis bioquímico e inmunológico a todos los pacientes que participaron en el estudio.

DEDICATORIAS

Mi familia que siempre me ha acompañado en este camino, a mi abuelita Severita (+), a mis padres Marisela y Carlos, a mis hermanos Carlos Abraham, Guillermo y José Eduardo, por sus consejos y palabras de ánimo para no desistir

A Alberto, mi futuro compañero de vida, por su amor, cariño, comprensión y apoyo incondicional.

CONTENIDO

	Pag
Comité revisor	3
Carta de autorización	4
Agradecimiento	6
Dedicatoria	7
Contenido	8
Información de la tesis	12
Resumen	13
1. Antecedentes	15
1.1. Lupus eritematoso sistémico	15
1.2. Datos epidemiológicos	15
1.3. Antioxidantes y oxidantes en LES	16
1.4. Índice Neutrófilo Linfocito en LES	18
1.5. Proteína IP-10	19
2. Planteamiento del problema	22
3. Justificación	24
4. Hipótesis	27

5. Objetivos	28
5.1. Objetivo general	28
5.2. Objetivos particulares	28
6. Pacientes y métodos	29
6.1. Población y tamaño de la muestra	29
6.2. Diseño del estudio	29
6.3. Criterios de selección	30
6.3.1 Criterios de inclusión	30
6.3.2. Criterios de no inclusión	30
6.3.3 Criterios de eliminación	31
6.4. Definición de variables	31
6.4.1. Actividad lúpica	31
6.4.2. Marcadores de oxidación y antioxidación	32
6.4.3. Variables clínicas y demográficas	33
6.4.4. Variables bioquímicas generales	34
6.5. Procedimiento	34
6.5.1. Antioxidantes	35
6.5.1.1. Medición de vitamina C	35

6.5.1.2. Determinación de superóxido dismutasa (SOD)	35
6.5.1.3. Medición de la actividad de la glutatión total (GSH)	36
6.5.2. Oxidantes	36
6.5.2.1. Determinación de la producción de óxido nítrico (NOx)	36
6.5.2.2. Determinación de la peroxidación lipídica (MDA)	37
6.5.3. Marcadores de inflamación	37
6.5.3.1. Determinación de proteína IP-10	38
6.5.4. Obtención de la muestra	38
6.5.5. Análisis estadístico	39
6.5.5.1. Análisis descriptivo	39
6.5.5.2. Análisis inferencial	39
6.6. Recursos	40
6.6.1. Recursos humanos:	40
6.6.2. Recursos materiales	40
6.6.2.1. Sustancias AOx	40
6.6.2.2. Sustancias oxidantes	40
6.6.2.3. Otros marcadores	41
6.7. Consideraciones éticas	41

6.7.1. Riesgo de la investigación	41
6.7.2. Confidencialidad	42
6.7.3. Condiciones en las cuales se solicitó el consentimiento	43
6.7.4. Forma de selección de los participantes	43
6.8. Consideraciones de bioseguridad	43
7. Resultados	45
8. Discusión	73
9. Conclusión	76
10. Referencias	78
Anexos	84
Anexo 1. Consentimiento informado	86
Anexo 2. Carta de bioseguridad	94
Anexo 3. Cronograma de actividades	97
Anexo 4. Formato de recolección de datos	99
Anexo 5. Índice de actividad del lupus eritematoso sistémico (SLEDAI)	108

INFORMACIÓN DE LA TESIS

Datos de la alumna	
Apellido paterno Apellido materno Nombre Teléfono Universidad Facultad Carrera/especialidad No. de cuenta Correo electrónico	BALDERAS GUERRERO MARISELA BERENICE 8334284856 Universidad Nacional Autónoma De México Facultad de Medicina Reumatología 517225620 m_bbg@hotmail.com
Datos de los tutores	
Tutor principal Adscripción Teléfono Correo electrónico	JUAN MANUEL GALLARDO MONTOYA Unidad de Investigación en Enfermedades Nefrológicas, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional "Siglo XXI", IMSS. 5556276900 ext. 21371 jmgallardom@gmail.com
Cotutor Adscripción Teléfono Correo electrónico	MIGUEL ÁNGEL VÁZQUEZ ZARAGOZA Servicio de Reumatología, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional "Siglo XXI", IMSS. 5556276900 ext. 21536 vazza78@hotmail.com
Datos de la tesis	
Título No. de páginas Año No. de registro	COMPARACIÓN DE LOS MARCADORES DE ANTIOXIDACIÓN, OXIDACIÓN Y PROTEÍNA IP-10, CON EL GRADO DE ACTIVIDAD DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO 108 2021 R-2019-3601-166

RESUMEN

Introducción: Lupus eritematoso sistémico es una enfermedad autoinmune inflamatoria sistémica. La actividad de la enfermedad se ha asociado con desequilibrio del estrés oxidativo. En búsqueda de nuevos parámetros de laboratorio útiles para indicar actividad está la proteína IP-10 y el índice: neutrófilo/linfocito (INL).

Objetivo: Establecer si existe correlación entre los niveles de estrés oxidativo, proteína IP-10, INL con el grado de actividad de la enfermedad en mujeres con LES y comparar su comportamiento entre grupos activos, inactivos y un grupo control.

Material y métodos: Se realizó estudio clínico, transversal, comparativo. Se reclutaron 78 mujeres organizadas en: grupo control, LES inactivo, LES activo. La actividad de la enfermedad fue clasificada de acuerdo a SLEDAI. El estrés oxidativo se basó en la medición de antioxidantes: superóxido dismutasa, glutatión, vitamina C y oxidantes: óxido nítrico, malondialdehído, productos tardíos de la glucosilación y productos de oxidación avanzada de proteínas. Se determinó la concentración sérica de IP-10 e INL. Análisis estadístico se obtuvo mediante t student o ANOVA según el caso.

Resultados: En las pacientes con LES activo se encontraron niveles significativamente elevados de NOX y AOPPs (3.13 ± 1.32 uM y 58.3 ± 16.2 uM, respectivamente) en comparación con LES inactivo y controles. También presentaron elevación de SOD en LES activo (51.4 ± 8.79 % IDP) y GSH en mayor cantidad en LES activo (4.74 ± 0.70 uM vs sanos 4.07 ± 0.64 uM, $p < 0.05$). Se encontraron mayores concentraciones de IP-10 en paciente con lupus activo 45.36 ± 24.7 pg/mL en comparación con grupo inactivo y control ($p < 0.05$). El INL se encontró mayor en el grupo LES activo (5.54 ± 4.96) vs aparentemente sano (1.69 ± 0.61) e inactivo (3.20 ± 1.72) ($p < 0.05$).

Conclusiones: Pacientes con LES activo tienen mayores cantidades de oxidantes en comparación con pacientes con lupus inactivo y el grupo aparentemente sano. Los niveles de antioxidantes (SOD y GSH) fueron mayores en el grupo de LES activo. La proteína IP-10 se encuentra elevada en lupus activo y sus valores correlacionan con nivel de actividad. El INL presentó correlación positiva en actividad de la enfermedad.

Palabras clave: Lupus eritematoso sistémico, actividad, Biomarcadores, estrés oxidativo, proteína IP-10, índice neutrófilo/linfocito e índice plaqueta/linfocito.

1. ANTECEDENTES

1. Lupus eritematoso sistémico

1.1. Definición

Lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune, multisistémica, crónica, causada por la producción de autoanticuerpos, activación de complemento y depósito de complejos inmunes, de curso y gravedad variable, con diversas formas de presentación clínica. (1, 2)

1.2. Datos epidemiológicos

La incidencia y prevalencia mundial de LES varía considerablemente dependiendo de múltiples factores (entre ellos el étnico y las diferencias geográficas de cada población). La gravedad de las manifestaciones de la enfermedad depende mucho del nivel socioeconómico, la educación, el tipo de seguridad social, el apoyo social, el apego al tratamiento farmacológico, así como de factores ambientales y ocupacionales relacionados con el paciente (3).

La incidencia de LES a nivel mundial se considera en un parámetro de 20 a 150 casos por 100,000 personas (4).

Según la Secretaría de Salud de México, esta enfermedad suele comenzar entre los 17 y 35 años de edad, tiene una relación mujer-hombre 10:1, respectivamente, con una prevalencia de 0.06%, una incidencia de 1.8 a 7.6 casos por cada 100,000 habitantes por año y de estos poco más de 50% van a desarrollar daño permanente en múltiples órganos y sistemas (5).

Se han realizado diversos estudios para correlacionar manifestaciones clínicas y marcadores serológicos y de laboratorio entre pacientes con LES, y estos

representan un gran reto para los clínicos al evaluar la actividad de la enfermedad y el consiguiente ajuste del tratamiento (6).

Entre los biomarcadores serológicos tradicionales para evaluar la actividad de la enfermedad, se encuentran anticuerpos Anti DNA de doble cadena (anti-DNA_{dc}), componentes del complemento, los cuales se han demostrado ser parámetros no confiables de la actividad de la enfermedad (7).

Se requieren varios criterios para que una medida de laboratorio sirva como biomarcador confiable, incluyendo:

1. Debe ser biológica y fisiopatológicamente relevante;
2. Debe ser simple para la práctica de rutina; y
3. Debe responder con precisión y sensibilidad a los cambios en la actividad de la enfermedad (8,9). No existe una prueba de laboratorio con capacidad confiable para identificar o predecir el comienzo o el final de un brote de enfermedad, lo que ha impedido esfuerzos para evaluar nuevas terapias de LES en ensayos clínicos (7).

La inflamación crónica está relacionada con la progresión y recaída de LES. Citocinas y quimiocinas no solamente tienen una función biológica promoviendo la maduración de células inmunes si no también tienen la capacidad de inducir, mantener y amplificar la respuesta inflamatoria (10).

1.3. Antioxidantes y oxidantes en LES

El estrés oxidativo, es un estado en el que hay un incremento en especies reactivas de oxígeno (EROs) como resultado de un incremento en su producción o una reducción de los antioxidantes. Este desbalance está asociado con una gran variedad de condiciones inflamatorias. LES se caracteriza por cursar con períodos de actividad y remisión, es durante estos períodos de actividad, en la que se ha demostrado incremento del estrés oxidativo (11).

En años recientes se ha demostrado que el daño de radicales libres y estrés oxidativo juega un papel muy importante en la patogénesis y síntomas en pacientes con LES.

Las EROs se originan principalmente en la mitocondria y células T de pacientes con LES con disfunción mitocondrial, caracterizadas por hiperpolarización mitocondrial. Se ha encontrado incremento en la producción de EROs o niveles disminuidos de glutatión en linfocitos de sangre periférica en pacientes con LES.

Las EROs también pueden ser generados por enzimas de NADPH oxidasa en fagocitos, células endoteliales, células T y células B, así como oxidantes ambientales. Factores genéticos que comprometen la defensa antioxidante contra EROs o control endógeno de la producción de EROs que alteran la homeostasis mitocondrial se han relacionado en la patología de LES (12).

Los radicales libres y especies reactivas de oxígeno son generados constantemente como parte de procesos celulares metabólicos. Estos radicales libres son desactivados por un sistema de defensa antioxidante que rompe la reacción, este sistema consiste en enzimas y numerosos antioxidantes no enzimáticos. El estrés oxidativo es esencialmente un desbalance entre la producción de EROs y mecanismos de defensa antioxidante (13).

La producción aumentada de radicales libres interrumpe el estatus redox y puede incrementar la expresión de una amplia variedad de moléculas inflamatorias que pueden ser causa importante de inflamación en el tejido dañado. Varios estudios sugieren que el estrés oxidativo podría ser un factor de riesgo en enfermedades autoinmunes como LES (14,15, 16, 17).

Algunos estudios revelan que la incapacidad del sistema de defensa antioxidante para hacer frente al estrés oxidativo juega un rol importante en la patogénesis del LES (18).

Además el estrés oxidativo contribuye a la formación de NETosis, que a su vez promueve la producción de auto antígenos y anticuerpos (15).

En el estudio de Jafari y colaboradores (19) se evaluó el balance prooxidante-antioxidante (PAB) en pacientes con LES, se mostró que el PAB se encontraba incrementado en el grupo de pacientes con LES con actividad en comparación con el grupo control (sanos). De acuerdo con los resultados, sugieren agregar antioxidantes como complemento en la terapia farmacológica de pacientes con LES.

Los desequilibrios inmuno metabólicos específicos de la enfermedad y el exceso de estrés oxidativo parecen ser características del LES. Es necesario un mejor entendimiento de la disfunción metabólica celular específica en lupus, para mejorar las opciones terapéuticas (18).

1.4. Índice Neutrófilo Linfocito en LES

El índice neutrófilo-linfocito (INL) en sangre periférica se ha propuesto como un nuevo indicador de inflamación sistémica. Su valor predictivo y valor pronóstico se ha mostrado en varias enfermedades cardiovasculares (20).

En el estudio de Murat Yuksel y colaboradores (21) se encontró un INL elevado en pacientes con enfermedad de Behçet (BD) en comparación con los controles sanos. Además, los pacientes con BD ocular activa tuvieron mayores valores de INL que los del grupo ocular de BD inactivo. Demostrando valores y la asociación entre INL y actividad de la enfermedad en pacientes con BD ocular. (21). Hasta el momento hay pocos estudios de Índice neutrófilo/linfocito en pacientes con LES (22).

El proceso inflamatorio crónico, el cual es activado por auto antígenos y mantenido por factores genéticos y ambientales, es una característica común de enfermedades autoinmunes (23).

Además, estudios previos han demostrado que el INL está asociado con morbilidad y mortalidad en muchas enfermedades crónicas, como hipertensión (24), insuficiencia cardíaca (25), síndromes coronarios agudos (26,27) y diabetes tipo 2 (28). Por lo que su estudio en pacientes con LES, demostrará la relación de inflamación y actividad de la enfermedad (29), pudiendo confirmar su utilidad como marcador de inflamación.

1.5. Proteína IP-10

Diversas citocinas, interferón gamma y receptores tipo toll juegan un rol importante en la fisiopatología de LES. Son producidos por la infiltración de macrófagos, células dendríticas y linfocitos. Interferón gamma (IFN- γ) es crucial para el desarrollo de respuesta por los linfocitos T cooperadores tipo 1 (TH1) (30) y es una citocina inflamatoria. Adicionalmente, activa las células dendríticas, macrófagos, y células T citotóxicas, células B, y “natural killer” (NK) y suprime células T reguladoras. También mejora la producción de IFN tipo I por parte de células dendríticas plasmocitoides (31).

Entre los marcadores que se han estudiado, la proteína IP-10, es una proteína inducida por IFN- γ , también conocida como CXCL 10, con su receptor CXCR3, expresadas por linfocitos T cooperadores, células B, macrófagos y células NK (32) que ha demostrado que puede ser empleada como un nuevo biomarcador para identificar actividad de la enfermedad en pacientes con LES, así como marcador para identificar actividad en nefritis lúpica (33).

La proteína IP-10, fue clonada por primera vez en 1985 como una proteína secretada por células mononucleares en sangre periférica, fibroblastos, y células

endoteliales. Promueve la migración de células T a sitios de inflamación. Su función biológica incluye la estimulación de monocitos, células NK y la migración de linfocitos T, así como la regulación de células T, maduración de progenitores en médula ósea, y modulador en la expansión de moléculas de adhesión e inhibición de la angiogénesis (34).

CXCL 10 ejerce su función a través de la unión a la quimiocina receptor 3 (CXCR3) (35).

La expresión regulada del ARN mitocondrial de la proteína IP-10 ha sido descrita en una variedad de condiciones autoinmunes, como la diabetes tipo I (36), artritis reumatoide (37), así como enfermedades infecciosas crónicas como tuberculosis (38) y hepatitis crónica (39,40).

El-Gohay y colaboradores (41) estudiaron niveles séricos y urinarios de proteína IP-10 para determinar la actividad en pacientes con LES, nefritis lúpica y correlación con clase histológica, con mejor sensibilidad de proteína IP-10 en suero (sensibilidad 76% y especificidad 70%) para diagnóstico de LES, a comparación con niveles urinarios de proteína IP-10, aunque no se encontró diferencia significativa al momento de comparar actividad renal, en un estudio de 30 pacientes con LES (41).

En el estudio de Abujan y colaboradores (42) estudiaron niveles de proteína IP-10, encontrando diferencia significativa en los niveles de IP-10 al diferenciar un LES con actividad renal, versus LES sin actividad renal. Mostrando superioridad con significancia estadística al comparar con niveles urinarios de IP-10, índice albúmina/creatinina, y determinación de anti-DNA dc (42).

En el estudio de Kong y colaboradores (43), una cohorte oriental grande, se encontró diferencia en niveles de proteína IP-10, con significancia estadística, en suero de pacientes con LES activo, sin embargo sin encontrar una correlación

significativa entre niveles séricos de IP-10 y actividad renal, quizá debido al número reducido de pacientes con nefritis lúpica en el estudio (43).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existen biomarcadores serológicos considerados en la literatura como no confiables para evaluar el grado de actividad en lupus (7), ya que estos deberían responder con precisión y sensibilidad a los cambios en la actividad de la enfermedad (7,8). Actualmente, se emplean múltiples marcadores bioquímicos y clínicos, para poder determinar el grado de actividad en pacientes con LES. La estimación de actividad puede realizarse de acuerdo a diversas escalas, como MEX-SLEDAI, BILAG, SLEDAI. Se clasificaron pacientes con LES activo: actividad leve cuando el puntaje de SLEDAI fue ≥ 1 o menor a 4, actividad moderada ≥ 5 y menor a 8, grave 8, LES inactivo con SLEDAI 0.

Se ha dedicado considerable esfuerzo a investigar el papel de los radicales libres en la patogenia de las enfermedades. Encontrando que el daño producido por radicales libres y estrés oxidativo juegan un papel muy importante en la patogénesis y síntomas en pacientes con LES. (12). Especies reactivas de oxígeno derivadas de mitocondrias y modificaciones moleculares inducidas por estrés oxidativo son perjudiciales en lupus, aumentando el riesgo de síndrome metabólico, características que también contribuyen a acelerar aterosclerosis y eventos cardiovasculares en pacientes portadores de LES (44).

Este estudio se enfocó en determinar la presencia de antioxidantes en un estado de inflamación aguda, como lo es el LES con actividad.

El índice neutrófilo- linfocito (INL) en sangre periférica se ha propuesto como un nuevo indicador de inflamación sistémica. Su valor predictivo y valor pronóstico se ha mostrado en varias enfermedades cardiovasculares (20). Hasta el momento hay pocos estudios del INL en pacientes con LES. Por lo que su estudio demostrará la relación de inflamación y actividad de la enfermedad, (29) pudiendo confirmar su utilidad como marcador de inflamación.

Durante la última década, se han estudiado nuevos marcadores de inflamación. Entre estos marcadores se encuentra la proteína IP-10, (inducida por IFN- γ) que se expresa en linfocitos T cooperadores, células B, macrófagos y células NK (32), que ha demostrado ser útil para identificar actividad de la enfermedad en pacientes con LES (33).

Debido a su compleja etiología y patogénesis, su presentación heterogénea y su curso impredecible, el LES sigue siendo uno de los mayores desafíos tanto para los investigadores como para los médicos. Por lo que nuestro estudio se centró en comparar los niveles de la proteína IP-10, algunos marcadores de antioxidación e INL en tres grupos de sujetos, 1: sujetos aparentemente sanos, 2: pacientes con LES en etapa de enfermedad inactiva, y 3) pacientes con LES con enfermedad activa.

3. JUSTIFICACIÓN

Según la Secretaría de Salud de México, el LES tiene una prevalencia de 0.06%, una incidencia de 1.8 a 7.6 casos por cada 100,000 habitantes por año. Esta estadística varía a través del mundo, encontrándose una incidencia a nivel mundial entre 20-150 casos por 100,000 personas (5).

La falta de biomarcadores específicos y confiables para el diagnóstico de actividad de LES dificulta el manejo clínico adecuado de los pacientes e impide el desarrollo de nuevas terapias contra el lupus (45).

Dentro de la búsqueda de biomarcadores que apoyen el diagnóstico temprano de actividad del LES, se ha encontrado que la elevación de la proteína IP-10 se asocia a actividad de la enfermedad de forma dirigida a actividad renal (nefritis lúpica), como lo demostró en su estudio Zhang y cols. (33), no obstante la evidencia no es clara con respecto a elevación de IP-10 en relación a otras manifestaciones extrarrenales en lupus, como podría ser actividad hematológica, mucocutánea, sistema nervioso central, vascular y sin especificar a partir de qué severidad de la actividad de LES inicia su elevación en sangre.

El estrés oxidativo está prevalente en pacientes con enfermedades inflamatorias crónicas, como portadores de enfermedad renal crónica (46), diabetes tipo 2 (47), enfermedad cardiovascular (48), cáncer pulmonar (49), siendo LES una enfermedad inflamatoria crónica, se buscó correlacionar niveles de estrés oxidativo en presencia de actividad de la enfermedad.

El determinar el comportamiento de estos biomarcadores de estrés oxidativo en pacientes con lupus eritematoso sistémico permite planear intervenciones útiles para el control de la enfermedad, así como detectar incremento de riesgo cardiovascular, el cual es una causa importante de morbilidad en pacientes con LES.

El índice neutrófilo- linfocito (NLR) en sangre periférica se ha propuesto como un nuevo indicador de inflamación sistémica (20).

Por lo anteriormente mencionado el estudio se centró en determinar la utilidad de diversos marcadores que podrían emplearse como herramienta válida en la evaluación de actividad en LES (proteína IP-10, algunos marcadores de antioxidación y oxidación así como el índice neutrófilo/linfocito).

Es necesario un mejor entendimiento de la disfunción metabólica celular específica en LES, que permita ampliar y mejorar las opciones terapéuticas que hoy en día existen, lo cual se logrará con el reconocimiento de células inflamatorias, y su detección de forma precoz para poder brindar tratamiento temprano y evitar complicaciones y progresión de la enfermedad, con el presente estudio se determinó qué marcadores de inflamación no convencionales, tanto de estrés oxidativo, la proteína IP-10, e INL, comparados con marcadores convencionales de inflamación: velocidad de sedimentación globular (VSG) y proteína C reactiva (PCR) fueron mejores para predecir actividad inflamatoria en personas con LES, y no únicamente limitado a su relación con la actividad de la enfermedad, en la cual esperaríamos mayor cantidad de marcadores de inflamación, sino también se determinó si existe alguna correlación de estos marcadores con daño a un determinado sistema en pacientes con lupus (hematológico, renal, neurológico) y también se estudió el comportamiento de estos marcadores en pacientes con LES inactivo, ya que al ser per se un estado de inflamación crónica, el riesgo cardiovascular debido a la inflamación sistémica es mayor comparado a grupo control (sujetos aparentemente sanos).

También hacen falta estudios que determinen la vía de estrés oxidativo más importante en pacientes con LES, por lo que en este trabajo se realizó la medición de estrés oxidativo en pacientes con actividad y sin actividad de la enfermedad. Su

relación con daño a órgano blanco específico (renal, mucocutánea, hematológico), y se estimó el índice de neutrófilo / linfocito.

Debido a que no se cuenta con suficientes marcadores bioquímicos confiables para la determinación de actividad en LES, en este trabajo se estudiaron marcadores de antioxidación-oxidación, se realizó la medición de índice neutrófilo/linfocito y niveles séricos de proteína IP-10, y se compararon estos valores en tres grupos de estudio: lupus activo, inactivo y controles aparentemente sanos.

Por lo anterior, surgió la siguiente pregunta de investigación:

¿Los niveles de marcadores de antioxidación y oxidación, el índice neutrófilo-linfocito y la proteína IP-10 sérica son directamente proporcionales con el incremento en la actividad del LES?

4. HIPÓTESIS

Existe un incremento en los marcadores de antioxidación y oxidación así como del índice neutrófilo/linfocito y la proteína IP-10 sérica, de manera directamente proporcional conforme se incrementa la actividad de LES.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Establecer si existe correlación de los niveles séricos de antioxidantes y oxidantes, índice neutrófilo/linfocito, y proteína IP-10 y la actividad de la enfermedad en pacientes con LES.

5.2. Objetivos particulares

5.2.1. Determinar la concentración de sustancias antioxidantes y oxidantes en suero en pacientes con LES y establecer la relación que exista entre estos marcadores y la actividad de la enfermedad.

5.2.2. Determinar niveles del índice neutrófilo/linfocito en pacientes con LES y establecer la relación que exista entre el índice y la actividad de la enfermedad.

5.2.3. Determinar la concentración de la IP-10 sérica en pacientes con LES y establecer la relación que exista entre esos marcadores y la actividad de la enfermedad.

5.2.4. Estudiar si los marcadores descritos anteriormente están o no elevados en un grupo de sujetos con LES en forma inactiva y compararlos con personas aparentemente sanos, mismos que participaron como grupo testigo.

6. PACIENTES Y MÉTODOS

6.1. Población y tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra se calculó, mediante un análisis de la variable: estrés oxidativo (EO), considerando una diferencia en los marcadores de estrés oxidativo en lupus eritematoso sistémico (50%) y en pacientes sanos (20%), obtuve una desviación estándar de 30% entre los grupos, y una probabilidad de error tipo I a un valor de 5%, con una potencia 1- beta, % probabilidad de detección de 80%, nivel de significancia 95%, resultó en un tamaño de muestra de 40 pacientes en el grupo de LES y de 40 pacientes del grupo aparentemente sano.

Los pacientes con LES tanto en estado inactivo como activo, fueron reclutados en el Servicio de Reumatología de la UMAE Hospital de Especialidades Centro Médico Nacional “Siglo XXI”, y todas las muestras biológicas fueron analizadas en la Unidad de Investigación en Enfermedades Nefrológicas de la UMAE Hospital de Especialidades del mismo Centro Médico.

Los sujetos del grupo testigo fueron reclutados de entre los familiares de los mismos pacientes o de voluntarios aparentemente sanos.

6.2. Diseño del estudio

Por el control de la maniobra por el investigador: Observacional

Por la obtención de la información: Prospectivo

Por la medición del fenómeno en el tiempo: Transversal

Este estudio es piloto, prospectivo, observacional, descriptivo, transversal y comparativo.

6.3. Criterios de selección

6.3.1 Criterios de inclusión

6.3.1.1 Pacientes con lupus eritematoso sistémico en seguimiento por el departamento de Reumatología en el Hospital de Especialidad Dr Bernardo Sepúlveda de CMN “Siglo XXI”.

6.3.1.2. Para todos los grupos:

- Sujetos mayores de 18 años de edad, ambos géneros
- Con o sin biopsia renal
- Se clasificaron en grupos del 1 al 3 de acuerdo a lo siguiente:
- G1: Pacientes aparentemente sanos, mayores de 18 años
- G2: Pacientes con LES inactivo o SLEDAI $\leq$ 0 puntos, mayores de 18 años
- G3: Pacientes con LES con actividad, SLEDAI $\geq$ 1 , mayores de 18 años

6.3.2. Criterios de no inclusión

6.3.2.1. Pacientes con otras enfermedades crónicas concomitantes como: cáncer, enfermedad renal crónica terminal y en terapia de sustitución de la función renal, enfermedad pulmonar, enfermedad metabólica endocrina descontrolada, infección de virus hepatitis C activa, con tuberculosis activa, con infección por VIH. Mujeres embarazadas.

6.3.2.2 Pacientes que además de tener diagnóstico de LES también presentaron microangiopatía trombótica o glomerulopatía primaria.

6.3.2.3 Pacientes con daño renal que se explicó por otras causa (Diabetes, glomerulopatía primaria, atrofia renal)

6.3.2.4. Pacientes que cursaron con un proceso infeccioso 2 semanas previas a la toma de muestra o que se encontraban con proceso infeccioso activo.

6.3.3 Criterios de eliminación

6.3.3.1 Pacientes que decidieron retirar su consentimiento informado

6.3.3.2 Pacientes en los cuales la muestra no fue suficiente o se encontró hemolizada

6.4. Definición de variables

6.4.1. Actividad lúpica

Cuadro 1. Variable dependiente

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Unidad de medida
Índice de actividad lúpica (SLEDAI)	Instrumento para determinar el grado de actividad o la intensidad del brote de la enfermedad lúpica en un momento dado	Califica la actividad de la enfermedad en remisión (0 puntos) , leve $\geq 1-4$, moderada 5-7 y grave ≥ 8	Cuantitativa discreta	Puntos

6.4.2. Marcadores de oxidación y antioxidación

Cuadro 2. Variables relacionadas con el estrés oxidativo

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Unidad de medida
Óxido nítrico	Medición total. Control de calidad por curva de calibración	Marcador de radicales libres	Cuantitativa continua	uM
Productos de la oxidación tardía de las proteínas (AOPP)	Medición total. Control de calidad por curva de calibración	Marcador de oxidación de las proteínas	Cuantitativa continua	uM
Productos avanzados de la glucosilación de las proteínas (AGES) (UAF)	UAF: Unidades arbitrarias de fluorescencia	Marcador de la glucosilación de proteínas y otras moléculas biológicas	Cuantitativa continua	UAF
Tioles (GSH)	Medición total. Control de calidad por curva de calibración.	Marcador de antioxidación	Cuantitativa continua	uM
Vitamina C	Medición total. Control de calidad por curva de calibración	Se utiliza para determinar la capacidad antioxidante del suero. Se determina en términos de ácido ascórbico	Cuantitativa continua	mM
Superóxido dismutasa	Medición total. Control de calidad por curva de calibración	Actividad enzimática de una enzima antioxidante	Cuantitativa continua	% IDP

6.4.3. Variables clínicas y demográficas

Cuadro 3. Variables demográficas

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Unidad de medida
Sexo	Sexo biológico	Masculino Femenino	Cualitativa nominal	Dicotómica
Edad	Edad cronológica	Número de años cumplidos	Cuantitativa continua	años
Estatura	Altura de una persona desde los pies a la cabeza	Altura en metros	Cuantitativa continua	metros
Peso	Medida de esta propiedad de los cuerpos	Peso en kilogramos	Cuantitativa continua	kg
Índice de masa corporal	Índice sobre la relación entre el peso y la altura	Cociente que se obtiene de la división del peso en kilogramos por el cuadrado de la altura en metros	Cuantitativa continua	Kg/m ²
Presión arterial sistólica (PAS)	Fuerza que ejerce la sangre que circula contra las paredes de las arterias	Medida en milímetros de mercurio	Cuantitativa continua	mmHg
Presión arterial diastólica (PAD)	Fuerza que ejerce la sangre que circula contra las paredes de las arterias	Medidas en milímetros de mercurio	Cuantitativa continua	mmHg

6.4.4. Variables bioquímicas generales

Cuadro 4. Variables bioquímicas

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Unidad de medida
Urea en suero	Substancia tóxica resultante de la degradación de sustancias nitrogenadas	Medición total. Control de calidad por curva de calibración	Cuantitativa continua	(mg/dL)
Creatinina sérica	Producto del catabolismo de las proteínas	Medición total. Control de calidad por curva de calibración	Cuantitativa continua	(mg/dL)
Neutrófilos totales	Número de neutrófilos totales en biometría hemática	Células x 10e3 por microlitro	Cuantitativa continua	x10e3/uL
Linfocitos totales	Número de linfocitos totales en biometría hemática	Células x 10e3 por microlitro	Cuantitativa continua	x10e3/uL
Índice neutrófilo / linfocito	Proporción neutrófilo sobre linfocito	Puntos	Cuantitativa	0 a infinito
Proteína IP-10	Proteína inducida por IFN- γ	Medición total por método ELISA	Cuantitativa continua	pg/mL

6.5. Procedimiento

A los pacientes del servicio de Reumatología del Hospital de Especialidades del CMN “Siglo XXI” que acudieron a consulta externa u hospitalización que cumplieron con los criterios de inclusión se les comentó acerca del estudio, y

aquellos que aceptaron participar, y firmaron el consentimiento informado, fueron ingresados al estudio. Posteriormente, el día que acudieron a la toma de exámenes de laboratorio para la consulta externa de reumatología se les extrajo 6 mL de sangre extra para las muestras que fueron procesadas en el laboratorio de enfermedades nefrológicas. La información fue recabada mediante interrogatorio dirigido.

La colección de la sangre se realizó en condiciones controladas ambientales de luz y temperatura entre las 7 y 9 de la mañana con el propósito de evitar variaciones circadianas.

Se les solicitó a los pacientes que se abstuvieran de comer cualquier tipo de alimento y bebida endulzada al menos durante las 12 últimas horas previas a la toma de sangre.

6.5.1. Antioxidantes

6.5.1.1. Medición de vitamina C

Para la medición de vitamina se utilizó el procedimiento descrito por Prieto (50). Este método se basa en la reducción de molibdato (VI) a molibdato (V) por la muestra, seguido de la formación de un complejo entre el fosfato y el molibdato (V), el cual tiene una absorción óptima a 695 nm. La curva de calibración se preparó con ácido ascórbico y se leyó a 695 nm.

6.5.1.2. Determinación de superóxido dismutasa (SOD)

La SOD se determinó con base en el método de Marklund y Marklund (51). El radical aniónico superóxido participa en la autooxidación del pirogalol. Para ello se preparó una solución de pirogalol en HCl (JT Baker, Xalostoc, Mex. México) y se incubó a 40°C. A 50 µL de muestra se le añadió 200 µL de una mezcla de Tris–

EDTA-HCl y se leyó a 420 nm en un espectrofotómetro DU 50 (Beckman, Palo Alto, CA. USA). Posteriormente se añadió la solución de pirogalol y se midió el incremento en la absorbancia cada 30 segundos durante 3 min. El blanco de reactivos se realizó de la misma manera pero en lugar de muestra se utilizó agua bidestilada. La actividad de la SOD se expresó en porcentaje (%).

6.5.1.3. Medición de la actividad de la glutatión total (GSH)

La actividad de la glutatión total se analizó mediante el método de Beutler y colaboradores (52). GSH-Px se encargó de degradar al ter-butil-hidroperóxido (t-BOOH) en presencia de GSH que es consumido. El GSH remanente fue medido con el 5,5' ditiobis-(2-ácido nitrobenzoico) (DTNB). La mezcla de reacción contuvo 1 mL de GSH (Amresco) 2 mmol en PBS 400 mmol (pH 7.0), EDTA 4 mmol, 0.5% de azida de sodio 1 mmol, 250 µL de muestra biológica y agua bidestilada para aforar a 4 mL. Tras la incubación a 37°C durante cinco minutos, se añadió 1 mL de T-BOOH 1.25 mmol precalentado y se volvió a incubar por cuatro minutos más. Al final de ese período se recuperó 1 mL y se le añadieron 4 mL de ácido fosfórico (High Purity de México), se centrifugó a temperatura ambiente, y a 2000 x g durante 10 minutos. Se recuperaron 2 mL del sobrenadante y se le añadieron 2 mL de Na₂HPO₄ 400 mmol y 1 mL del reactivo de DTNB. La absorbancia fue medida a 412 nm. Los blancos y los estándares fueron preparados de manera similar. La actividad de GSH-Px se expresó en µmol/L.

6.5.2. Oxidantes

6.5.2.1. Determinación de la producción de óxido nítrico (NOx)

La medición de NOx se realizó mediante la determinación de la cantidad total de nitritos (NO₂-), que son los productos estables del metabolismo de NO. Se utilizó el reactivo de Griess (solución acuosa de sulfanilamida al 1% y naftiletilendiamina

al 0.1% en H₃PO₄ (al 2.5%, JT Baker), el cual forma un cromóforo estable con NO₂⁻, y que absorbe a 546 nm. La curva de calibración se realizó con diferentes concentraciones de nitrito de sodio disuelto en NaCl al 0.9% (53, 54).

6.5.2.2. Determinación de la peroxidación lipídica (MDA)

El malondialdehído es el producto final de la peroxidación de los ácidos grasos y un marcador de la actividad de los radicales libres (44). Para la medición de la concentración de peroxidación lipídica en plasma se utilizó el método del ácido tiobarbitúrico (TBA) descrito por Wade y van Rijn (55). Aunque el TBA no sólo se limita a la medición del MDA, es el método más empleado para determinar la oxidación lipídica y por lo tanto el estrés oxidativo. En resumen, a una alícuota de muestra se les añadieron 200 µL de ácido tricloroacético al 25%, y se incubó a 4 °C durante 15 minutos, posteriormente se centrifugó a 4 °C, 5000 x g durante 3 min., y el sobrenadante (100 µL) fue neutralizado con NaOH (JT Baker) 4 M. A 1 mL de la solución anterior se le adiciona 1 mL de TBA (Acros Organics, Bélgica) al 0.7 % y se incubó a 90 °C durante 60 min. La reacción de color se midió espectrofotométricamente (532 nm) en la fase orgánica (1-butanol). Se utilizó al tetrametoxipropano como estándar. La concentración de MDA (medida como sustancias reactivas al ácido tiobarbitúrico, TBAR) se expresó en µmol/L.

6.5.3. Marcadores de inflamación

Se midieron de manera rutinaria y por el laboratorio clínico (utilizando procedimientos automatizados) la proteína C reactiva, velocidad de sedimentación globular, así como la biometría hemática de donde fueron obtenidas las concentraciones de neutrófilos y linfocitos para calcular el índice neutrófilo linfocito.

6.5.3.1. Determinación de proteína IP-10

“Human IP-10” es una proteína inducida por interferón gamma, también conocida como CXCL10, es miembro de una familia de quimiocinas CXC (43).

Se empleó el kit “The invitrogen Human IP-10”, se trabajó por método de ELISA. En primer término, se realizó una incubación donde el antígeno de IP-10 se unió e inmovilizó al anticuerpo capturado en la microplaca y posteriormente el anticuerpo biotinilado se fijó a la IP-10 en fase de solución en un segundo sitio, finalmente se agregó la solución enzimática estreptavidina peroxidasa, para completar el sándwich. Posteriormente se realizó una segunda incubación, y fue leída en un lector de microplacas. El estándar contenía 5000 pg/mL, a partir de esa concentración se realizaron varias diluciones para crear una curva estándar. La concentración mínima detectable de Hu IP-10 fue < 2.0 pg/mL.

6.5.4. Obtención de la muestra

La Dra. Marisela Berenice Balderas Guerrero tomó la muestra de sangre por venopunción de una vena del brazo de los participantes del grupo control aparentemente sano y en aquellos pacientes que acudieron a toma de exámenes de control para el seguimiento por consulta externa de Reumatología, la muestra fue tomada en el laboratorio del HE CMN “Siglo XXI” por químicos especialistas.

Inmediatamente después de la colección de sangre, se mantuvo la muestra entre 4 - 8°C hasta su centrifugación y separación del suero o plasma el cual se conservó a - 20°C hasta su análisis bioquímico, el tiempo de procesamiento de la totalidad de la muestra se llevó a cabo en un lapso de aproximadamente 6 meses, con la ayuda del Dr. Juan Manuel Gallardo Montoya y la QFB. Patricia Valdez Caballero, en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas. Hospital de Especialidades, donde se determinaron los marcadores de oxidación, antioxidantes y niveles de proteína IP-10.

6.5.5. Análisis estadístico

6.5.5.1. Análisis descriptivo

Se llevó a cabo de acuerdo con la escala de medición de las variables, con el cálculo de medidas de tendencia central y de dispersión. Para las variables cuantitativas dado que fueron no paramétricas se realizaron medianas y rangos intercuartiles. Para el cálculo de proteína IP-10 y marcadores de estrés oxidativo se realizó un análisis exploratorio y dependiendo de si fueron normales o no se aplicó la prueba estadística paramétrica o no paramétrica.

6.5.5.2. Análisis inferencial

Para la comparación entre grupos: (aparentemente sanos, con actividad y sin actividad de LES), de los marcadores de estrés oxidativo se realizó un análisis de ANOVA, para buscar diferencias significativas, posteriormente se realizó un análisis post hoc, para detectar la diferencia específica entre grupos. Los valores de $p < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

Para la comparación entre grupos: aparentemente sanos, con actividad y sin actividad de LES, con los niveles de proteína IP 10 se determinó el valor de p con la prueba de Kruskal Wallis.

Los valores de $p < 0.05$ fueron considerados estadísticamente significativos.

Todos los cálculos estadísticos se realizaron utilizando el programa GraphPad Prism versión 8 (GraphPad Software, Inc., San Diego, USA).

6.6. Recursos

6.6.1. Humanos:

Dra. Marisela Berenice Balderas Guerrero, Médico Residente de Reumatología, del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional “Siglo XXI”. IMSS

Dr. Juan Manuel Gallardo Montoya, Investigador de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas del Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional “Siglo XXI”. IMSS, con 23 años de experiencia.

Dr. Miguel Ángel Vázquez Zaragoza, Médico reumatólogo, médico de base adscrito del Servicio de Reumatología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional “Siglo XXI”. IMSS, con más de 15 años de experiencia.

QFB Patricia Valdez Caballero, Química de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas del Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional “Siglo XXI”. IMSS, con 18 años de experiencia.

Dra. Ana Karen Cruz Rosales, médico de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas del Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional “Siglo XXI”. IMSS, con 5 años de experiencia.

6.6.2. Recursos materiales

6.6.2.1. Sustancias AOx medimos Vitamina C (Vit C), superóxido dismutasa (SOD), glutatión total (GSH).

6.6.2.2. Sustancias oxidantes medimos el óxido nítrico (NOx), los productos tardíos de la glucosilación (AGEs) y dienos conjugados, (DC), malondialdehído (MDA), productos tardíos de la oxidación de las proteínas (AOPP).

6.6.2.3. Otros marcadores

Proteína IP-10

En la Unidad de Investigación de Enfermedades Nefrológicas, del Hospital de Especialidades del CMN “Siglo XXI”, se contó con los marcadores para determinar antioxidantes en suero de los pacientes (Vitamina C, SOD, y glutatión total) y sustancias oxidantes en suero (NOx, MDA, DC, AGEs y AOPPs).

En la Unidad de Investigación de Enfermedades Nefrológicas, del Hospital de Especialidades del CMN “Siglo XXI”, se contó con el equipo para realizar la determinación de niveles de proteína IP-10.

Computadora portátil con programa de hoja de cálculo para la elaboración del protocolo.

Paquete estadístico GraphPad versión Prism versión 8 (GraphPad Software, Inc., San Diego, USA)

6.7. Consideraciones éticas

6.7.1. Riesgo de la investigación

Este estudio, de acuerdo con el artículo 17 del Reglamento de Investigación de la Ley General de Salud en materia de Investigación correspondió a un estudio con riesgo mayor que el mínimo, ya que se tomó sangre del paciente. La mayor parte de las muestras fueron tomadas al momento de toma de exámenes solicitados para evaluación en la consulta externa, y en el caso de los pacientes aparentemente sanos, se tomaron muestras de laboratorio que además de

determinar los parámetros para el estudio, sirvieron para valorar su estado general de salud.

Contribuciones y beneficios del estudio para los participantes y la sociedad en su conjunto

El presente estudio no tuvo beneficio directo para los participantes en el estudio. Sin embargo, al realizar estas determinaciones, fueron útiles para el estudio y la investigación de nuevos marcadores para evaluar la actividad de LES. Por lo que los resultados de este estudio podrán ayudar en el futuro a pacientes con LES.

En adultos, desconocemos el comportamiento de este marcador en las diferentes manifestaciones de afección de LES por lo que con la determinación de marcadores de antioxidación y oxidación , niveles de proteína IP-10 sérica, y su correlación con la manifestaciones de actividad (renal, hematológica, cutánea) , abre paso a estudios posteriores a mayor escala, y continuar la determinación del comportamiento de estos marcadores durante diferentes estadios de la enfermedad, lo que ayudará a obtener nuevas medidas de intervención tanto farmacológicas o higiénico dietéticas, que pudieran mejorar la calidad de vida de estos pacientes, y disminuir el riesgo de progresión de la enfermedad.

6.7.2. Confidencialidad

Una vez que los pacientes aceptaron participar en el estudio, toda la información generada del protocolo fue capturada en formatos previamente diseñados (Anexo 3), los cuales fueron independientes del expediente clínico de cada paciente. Solamente el grupo de investigadores involucrados tuvo acceso a esa información. Los formatos se mantuvieron bajo resguardo de los investigadores en lugares seguros. Los datos de las hojas de recolección de datos fueron vaciados en bases de datos electrónicas, las cuales no contenían los datos personales de cada paciente.

6.7.3. Condiciones en las cuales se solicitó el consentimiento

A todos los pacientes se les solicitó firma del consentimiento informado. La Dra. Marisela Berenice Balderas Guerrero (residente de reumatología matrícula 97362057) habló de manera personal con cada participante, en un lugar cómodo en presencia de los testigos. Se explicó en qué consistía el estudio, las muestras que se solicitaron y la entrega de los resultados de cada paciente al tener la información. Se entregó la carta de consentimiento informado (Anexo 1) para que fuera leída con detenimiento; se resolvieron las dudas por parte de la Dra. Balderas. Se informó que en todo momento se podría retirar del estudio si así lo deseaba, sin repercutir en su atención médica.

6.7.4. Forma de selección de los participantes

A partir de la aprobación del estudio, todos los pacientes que cumplieron con los criterios de selección fueron invitados a participar en el presente protocolo. La participación fue independiente de la religión, de la condición económica o nivel educativo de las familias.

6.8. Consideraciones de bioseguridad

El presente estudio se basó en el reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, así como en la NOM-087-ECOL-SSA1-2002, para la toma de muestras, transporte, almacenamiento y desecho de las mismas.

Se contó con los permisos y/o licencias oficiales que se requirieron para llevar a cabo el trabajo propuesto. Las instalaciones de los laboratorios involucrados se encontraban en estado satisfactorio de operación y fueron adecuadas para llevar a cabo el trabajo propuesto. El equipo a utilizar se encontraba en estado

satisfactorio de operación. Existieron dispositivos personales de protección que se encontraron en estado satisfactorio de operación. Los involucrados en el proyecto, recibieron la capacitación necesaria para trabajar con el material señalado anteriormente. Se mantuvieron las condiciones adecuadas de instalaciones, equipo y personal durante el desarrollo del proyecto.

La seguridad referente a la toma de muestra fue de quienes la realizaron, las transportaron y procesaron en el laboratorio, ya que cualquier muestra que no fuera manipulada de forma adecuada podría convertirse en una fuente de riesgo biológico para las personas que están en contacto o para el medio ambiente. Por lo que se utilizaron los elementos de protección personal necesarios para evitar exposición con riesgo biológico, de acuerdo a la Ley general de Salud en materia de investigación.

En cuanto al almacenamiento de las muestras, la biocustodia fue llevada a cabo a cargo del Dr. Juan Manuel Gallardo Montoya, en el laboratorio de la Unidad de Investigación de Enfermedades Nefrológicas, del Hospital de Especialidades, CMN Siglo XXI. Se mantuvieron en custodia durante el tiempo del estudio entre 3-9 meses, a menos 70 grados centígrados, posterior al estudio, los tubos fueron sumergidos a solución de hipoclorito de sodio al 5% y luego colocados en contenedores especiales para RPBI conforme a la NOM-087-ECOL-SSA1-2002.

En el anexo 3 se muestra la carta de implicaciones de bioseguridad.

7. RESULTADOS

Se reclutaron un total de 95 pacientes, de los cuales 78 fueron mujeres y 17 hombres. Se realizó el análisis de las mujeres, quienes se dividieron en 3 grupos: mujeres aparentemente sanas (n = 26), mujeres con LES inactivo (n = 21) y mujeres con LES activo (n = 31). Las características sociodemográficas y de laboratorio se presentan en el cuadro 5, las características bioquímicas en el cuadro 5.

Cuadro 5. Características demográficas y estudios de laboratorio generales de mujeres en los tres grupos: control aparentemente sanas, con lupus eritematoso sistémico inactivo y activo.

Parámetro	Aparentemente sanas (n = 26) a	Inactivas (X ± DS) (n = 21) b	Activas (X ± DS) (n = 31) C	Valor de P
Edad (años)	34.1 ± 7.25	35.6 ± 10.9	32.4 ± 13.1	NS
Peso (kg)	62.4 ± 7.74	63.3 ± 14.9	64.5 ± 9.57	NS
Talla (m)	1.61 ± 0.05	1.58 ± 0.06	1.60 ± 0.06	NS
IMC (kg/m ²)	24.0 ± 2.53	25.4 ± 5.35	26.3 ± 6.94	NS
PAS (mmHg)	107 ± 7.23	110 ± 13.5	120 ± 16.2	0.0024 a vs b 0.02 b vs c
PAD (mmHg)	70.3 ± 4.8	70.8 ± 10.3	77.7 ± 12.3	0.01 a vs c 0.01 b vs c
PAM (mmHg)	81.8 ± 6.5	84.0 ± 10.6	91.6 ± 12.8	0.0017 a vs c 0.01 b vs c

P de P (mmHg)	37.1 ± 6.4	39.6 ± 9.4	41.9 ± 10.4	NS
FC (Lat/min)	79.2 ± 6.15	82.9 ± 10.1	85.7 ± 11.8	0.046 a vs c
FR (Resp/min)	17.7 ± 1.55	18.7 ± 1.38	18.6 ± 1.59	NS
Temperatura (°C)	36.4 ± 0.16	36.4 ± 0.19	36.5 ± 0.23	NS

X, promedio; DS, desviación estándar; IMC, índice de masa corporal; PAS, presión arterial sistólica, presión arterial diastólica; PAM, presión arterial media; P de P, presión de pulso; kg, kilogramos; m, metros; kg/m², kilogramos/metros cuadrados de superficie corporal; mmHg, milímetros de mercurio; mg/dL, miligramos /decilitro; FC, frecuencia cardíaca; FR, frecuencia respiratoria; °C, grados Celsius. Los resultados se muestran en valor promedio ± 1 desviación estándar. Se consideró p como estadísticamente significativa si < 0.05.

Se encontraron diferencias en las cifras de presión arterial sistólica, diastólica y media, así como en la frecuencia cardíaca en los diferentes grupos.

El grupo aparentemente sano presentó cifras tensionales más bajas con respecto al grupo con LES activo (PAS 107 ± 7.23 en el grupo AS vs 120 ± 16.2 en grupo LES activo (p = 0.0024) y PAS en grupo LES inactivo 110 ± 13.5 (p = 0.02 al comparar PAS en AS vs LES inactivo)

La cifra de frecuencia cardíaca fue menor en el grupo AS (79.2 ± 6.15) en comparación con el grupo de LES activo (85.7 ± 11.8) con diferencia estadísticamente significativa, p = 0.046.

Cuadro 6. Características bioquímicas de las pacientes aparentemente sanas, con lupus eritematoso sistémico inactivo y activo.

Parámetro	Aparentemente sanas ($X \pm DS$) (n = 26) a	Inactivas ($X \pm DS$) (n = 21) B	Activas ($X \pm DS$) (n = 29) c	Valor de P
Glucosa (mg/dL)	88.88 $\pm$ 11.50	87.09 $\pm$ 6.61	97.26 $\pm$ 22.12	NS
Creatinina (mg/dL)	0.76 $\pm$ 0.11	0.88 $\pm$ 0.36	0.95 $\pm$ 0.73	NS
Urea (mg/dL)	26.5 $\pm$ 5.58	37.1 $\pm$ 19.8	44.7 $\pm$ 24.6	0.0024 a vs c
Ác. Úrico (mg/dL)	4.63 $\pm$ 0.85	5.69 $\pm$ 1.94	5.97 $\pm$ 2.85	NS
Albúmina (mg/dL)	4.45 $\pm$ 0.21	4.24 $\pm$ 0.32	3.47 $\pm$ 0.75	<0.0001 a vs c <0.0001 b vs c
Proteínas (mg/dL)	7.03 $\pm$ 0.55	6.52 $\pm$ 0.64	5.97 $\pm$ 1.05	<0.0001 a vs c 0.01 b vs c
Bilirrubina total (mg/dL)	0.66 $\pm$ 0.23	0.53 $\pm$ 0.24	0.48 $\pm$ 0.28	0.034 a vs c
Bilirrubina directa (mg/dL)	0.22 $\pm$ 0.08	0.16 $\pm$ 0.07	0.15 $\pm$ 0.10	0.013 a vs c
Bilirrubina indirecta (mg/dL)	0.43 $\pm$ 0.16	0.36 $\pm$ 0.18	0.32 $\pm$ 0.19	NS
DHL (mg/dL)	175 $\pm$ 30.4	211 $\pm$ 74.8	232 $\pm$ 55.3	0.0009 a vs c
Colesterol (mg/dL)	180 $\pm$ 34.23	164.36 $\pm$ 40.42	183. 68 $\pm$ 55.80	NS
Triglicéridos (mg/dL)	108 $\pm$ 48.25	133 $\pm$ 76.5	156 $\pm$ 56.11	0.0157 a vs c

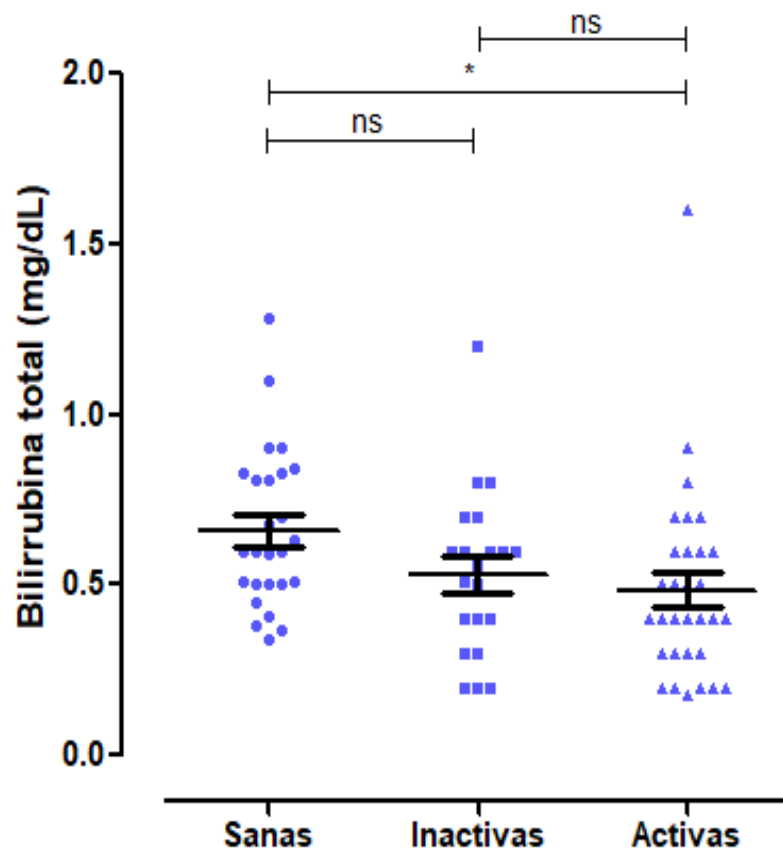
X, promedio; DS, desviación estándar; IMC, índice de masa corporal; PAS, presión arterial sistólica, presión arterial diastólica; PAM, presión arterial media; P de P, presión de pulso; kg, kilogramos; m, metros; kg/m², kilogramos/metros cuadrados de superficie corporal; mmHg, milímetros de mercurio; mg/dL, miligramos/decilitro.

En el perfil de lípidos, se encontraron mayores niveles de triglicéridos en el grupo de LES activo vs AS (156 ± 56.11 mg/dL vs 108 ± 48.25 mg/dL, $p = 0.0157$, respectivamente).

Se puede observar albúmina en grupo AS de 4.63 ± 0.85 y en grupo LES activo 3.47 ± 0.75 , con $p < 0.0001$, y al comparar los grupos de LES, las cifras de albúmina fueron menores en LES activo vs LES inactivo (3.47 ± 0.75 mg/dL vs 4.24 ± 0.32 mg/dL, $p < 0.0001$, respectivamente).

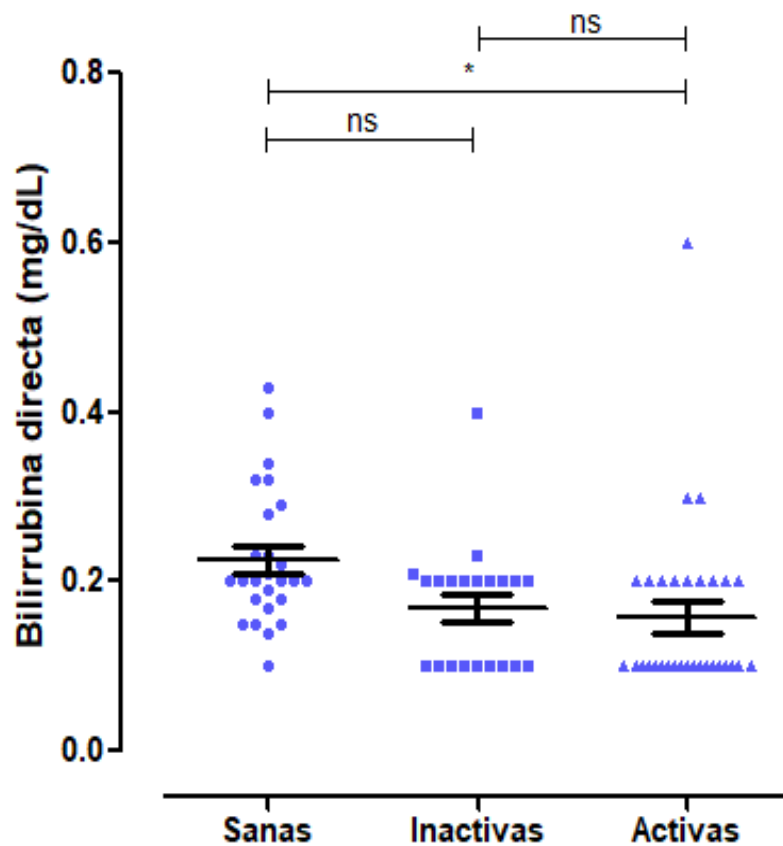
Se encontraron diferencias en las cifras de proteínas totales, y bilirrubina total y directa al comparar el grupo AS vs lupus activo, siendo menores las cifras en el grupo activo, con diferencias estadísticamente significativas.

Se encontraron mayores niveles de bilirrubina total (0.66 ± 0.23 mg/ dL) en el grupo aparentemente sano en comparación con individuos con lupus activo (0.48 ± 0.28 mg/dL), con diferencia estadísticamente significativa $p < 0.05$, no se encontró diferencia al comparar el grupo sano con lupus inactivo, ni al comparar grupo de lupus inactivo versus lupus activo (Gráfica 1).



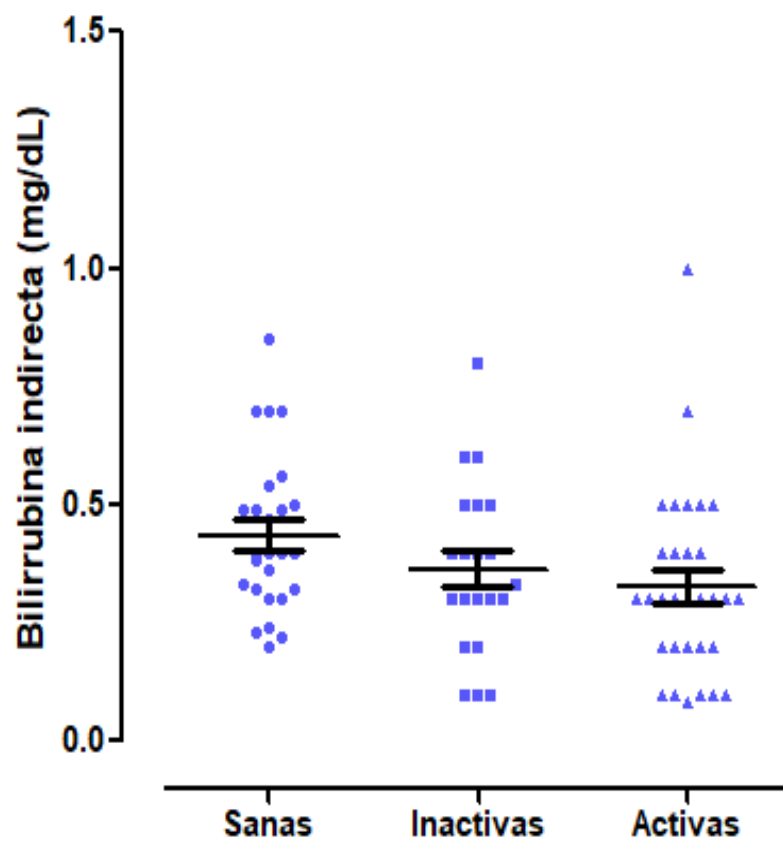
Gráfica 1. Comparación de los niveles de bilirrubina total. Se muestran los valores promedios así como la desviación estándar.

Se encontraron mayores niveles de bilirrubina directa (0.22 ± 0.08 mg/ dL) en el grupo aparentemente sano en comparación con el grupo lupus activo (0.15 ± 0.10 mg/l) con p de 0.013 con significancia estadística, de igual manera tampoco se encontró diferencia al comparar el grupo sano con lupus inactivo, ni al comparar grupo de lupus inactivo versus activo (Gráfica 2).



Gráfica 2. Comparación de los niveles de Bilirrubina directa. Se muestran los valores promedios así como la desviación estándar.

De igual forma se encontraron mayores niveles de bilirrubina indirecta (0.43 ± 0.16 mg/dL) en el grupo aparentemente sano en comparación con el grupo lupus activo (0.32 ± 0.10 mg/L), sin embargo sin significancia estadística al realizar el análisis en los 3 grupos. (Gráfica 3).



Gráfica 3. Comparación de los niveles de Bilirrubina indirecta. Se muestran los valores promedios así como la desviación estándar. Sin significancia estadística

Cuadro 7. Estudios de laboratorio en la biometría hemática de las pacientes aparentemente sanas, con lupus eritematoso sistémico inactiva y activa.

Parámetro	Aparentemente sanas (n= 26)	Inactivas (X ± DS) (n=21)	Activas (X ± DS) (n=29)	Valor de P
Hemoglobina (mg/dL)	14.69 ± 0.87	13.09 ± 3.14	12.19 ± 2.55	0.0008 *vs***
Hematocrito (%)	44.60 ± 2.10	42.00 ± 5.47	37.54 ± 7.54	<0.0001*vs*** 0.01**vs***
Plaquetas (10 ³ /μL)	268 ± 72.4	265 ± 62.3	240 ± 97.4	NS
Leucocitos (10 ³ /μL)	5.92 ± 1.59	6.25 ± 1.78	5.97 ± 2.89	NS
Neutrófilos (10 ³ /μL)	3.30 ± 1.21	4.10 ± 1.40	4.36 ± 2.66	NS
Linfocitos (10 ³ /μL)	2.0 ± 0.51	1.48 ± 0.57	1.07 ± 0.64	0.001*vs** <0.0001*vs*** 0.01**vs***

X, promedio; DS, desviación estándar; mg/dL, miligramo/decilitro; %, porcentaje; μL: microlitro.

Como se describe en la literatura, las cifras de leucocitos fueron menores en el grupo de LES tanto inactivo como activo, al compararlos con el grupo aparentemente sano, con diferencias estadísticas significativas (p= 0.001 al comparar el grupo AS y LES inactivo ($2.0 \pm 0.51 \times 10^3/\mu\text{L}$ vs $1.48 \pm 0.57 \times 10^3/\mu\text{L}$, p= 0.001) y al comparar el grupo AS y LES activo ($2.0 \pm 0.51 \times 10^3/\mu\text{L}$ vs $1.07 \pm 0.64 \times 10^3/\mu\text{L}$, p= <0.0001, respectivamente).

En los estudios de laboratorio e inmunológicos, las pacientes de LES activo tuvieron cifras más bajas de complemento al compararlas con el grupo de lupus

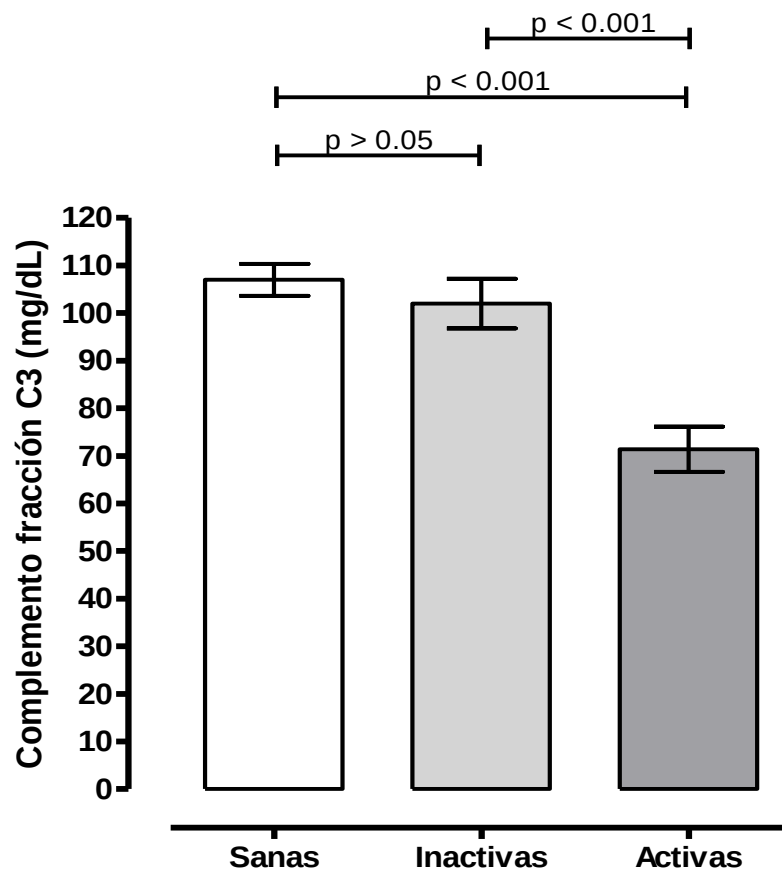
inactivo, con diferencia estadísticamente significativa ($p < 0.0001$), así mismo los niveles de DNAdc fueron mayores en el grupo de LES activo al compararlo con el grupo LES inactivo, y el grupo aparentemente sano ($p < 0.0001$). Al analizar los reactantes de fase aguda: proteína C reactiva y niveles de velocidad de sedimentación globular, se observó que los pacientes con LES activo, tenían mayores cifras de PCR y VSG en el grupo con LES activo vs aparentemente sano, como se observa en el cuadro 8.

Cuadro 8. Estudios de laboratorio inmunológicos y reactantes de inflamación en las pacientes aparentemente sanas, con lupus eritematoso sistémico inactivo y activo.

Parámetro	Aparentemente sanas (n= 26)	Inactivas (X $\pm$ DS) (n=21)	Activas (X $\pm$ DS) (n=29)	Valor de P
C3 (mg/dL)	107 $\pm$ 17.1	102 $\pm$ 23.9	71.4 $\pm$ 25.5	<0.0001 * vs *** <0.0001 ** vs ***
C4 (mg/dL)	19.8 $\pm$ 5.56	17.5 $\pm$ 7.97	9.88 $\pm$ 7.05	<0.0001 * vs *** <0.0001 ** vs ***
Anti DNAdc (U/L)	36.1 $\pm$ 14.4	120 $\pm$ 121	393 $\pm$ 252	<0.0001 * vs *** <0.0001 ** vs ***
PCR (mg/dL)	0.33 $\pm$ 0.05	0.40 $\pm$ 0.27	0.73 $\pm$ 0.76	0.001 *vs***
VSG (mm/h)	20.06 $\pm$ 13.7	23.01 $\pm$ 12.1	34.03 $\pm$ 10.24	NS * vs ** 0.0002 * vs *** 0.002 ** vs ***

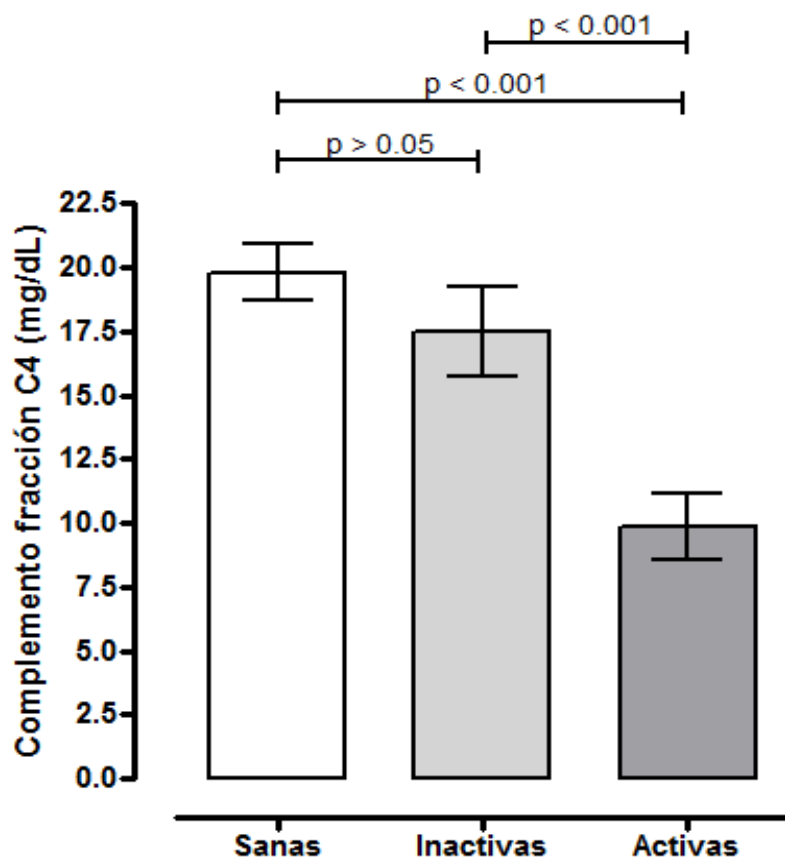
X, promedio; DS, desviación estándar; mg/dL, miligramo/decilitro; U/L, unidades/litro; mm/h, milímetros/hora; PCR, proteína C reactiva; VSG, velocidad de sedimentación globular

Los niveles de C3 fueron significativamente menores en el grupo de LES activo (71.4 ± 25.5 mg/dL) al compararlos con el grupo de LES inactivo (102 ± 23.9 mg/dL) con $p < 0.0001$ y el grupo aparentemente sano (107 ± 17.1 mg/dL) $p < 0.001$, como se muestra en la gráfica 4



Gráfica 4. Comparación de los niveles de fracción de complemento C3. Se muestran los valores promedios así como la desviación estándar. NS: P no significativa, (*): P significativa

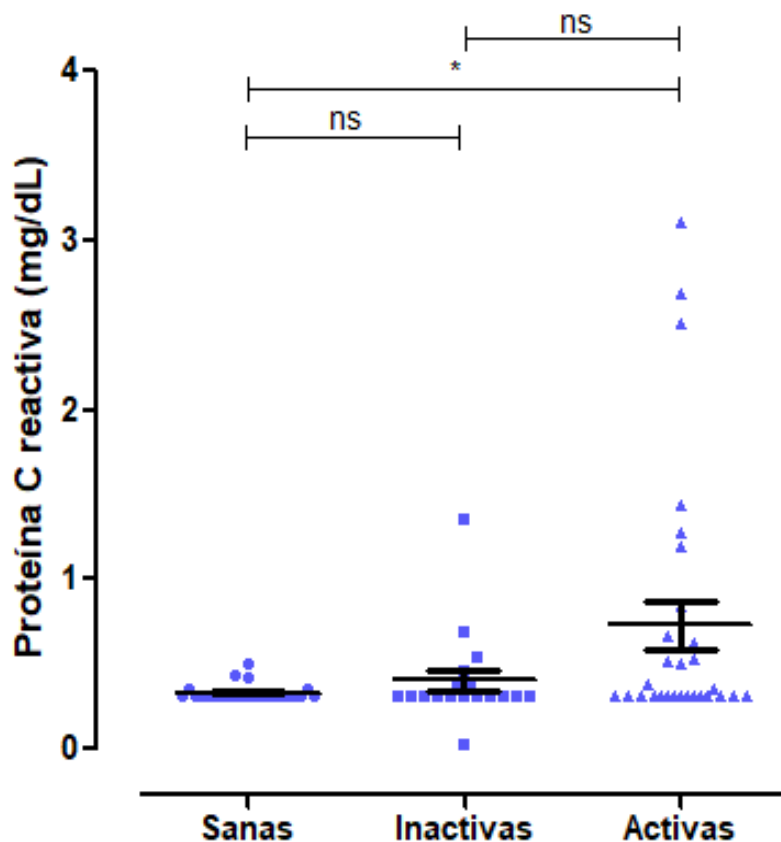
Los niveles de C4 fueron significativamente menores en el grupo de LES activo (9.88 ± 7.05 mg/dL) al compararlos con el grupo de LES inactivo (17.5 ± 7.97 mg/dL) con $p < 0.0001$ y el grupo aparentemente sano (19.8 ± 5.56 mg/dL) $p < 0.001$, como se muestra en la gráfica 5



Gráfica 5. Comparación de los niveles de fracción de complemento C4. Se muestran los valores promedios así como la desviación estándar. NS: P no significativa, (*): P significativa

Al analizar el reactante de inflamación: proteína C reactiva, se observó que los pacientes con LES activo, tenían mayores cifras de PCR (0.73 ± 0.76 mg/dL) al

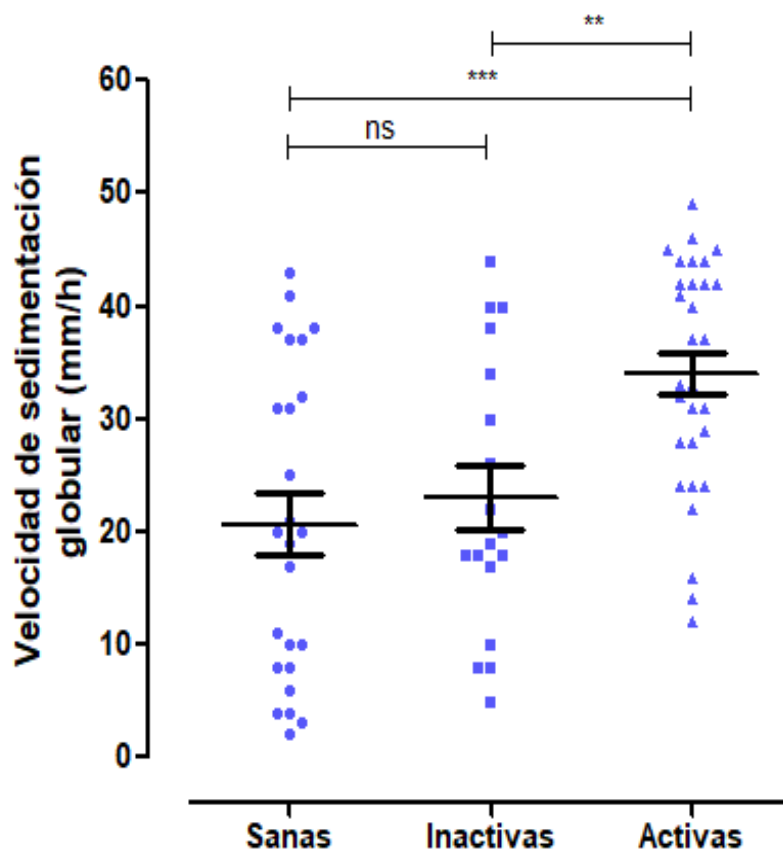
comparar con el grupo aparentemente sano (0.33 ± 0.05 mg/dL) con $p = 0.001$, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas al comparar niveles de PCR en el grupo de LES inactivo vs activo ni al comparar el grupo aparentemente sano vs lupus inactivo (Gráfica 6).



Gráfica 6. Comparación de niveles séricos de PCR. Se muestran los valores promedio así como la desviación estándar. Se consideró $p < 0.05$ como estadísticamente significativa. NS: P no significativa, (*): P significativa

Al analizar los niveles de velocidad de sedimentación globular, se observó que los pacientes con LES activo, tenían mayores cifras de VSG (34.03 ± 10.24 mm/h) al

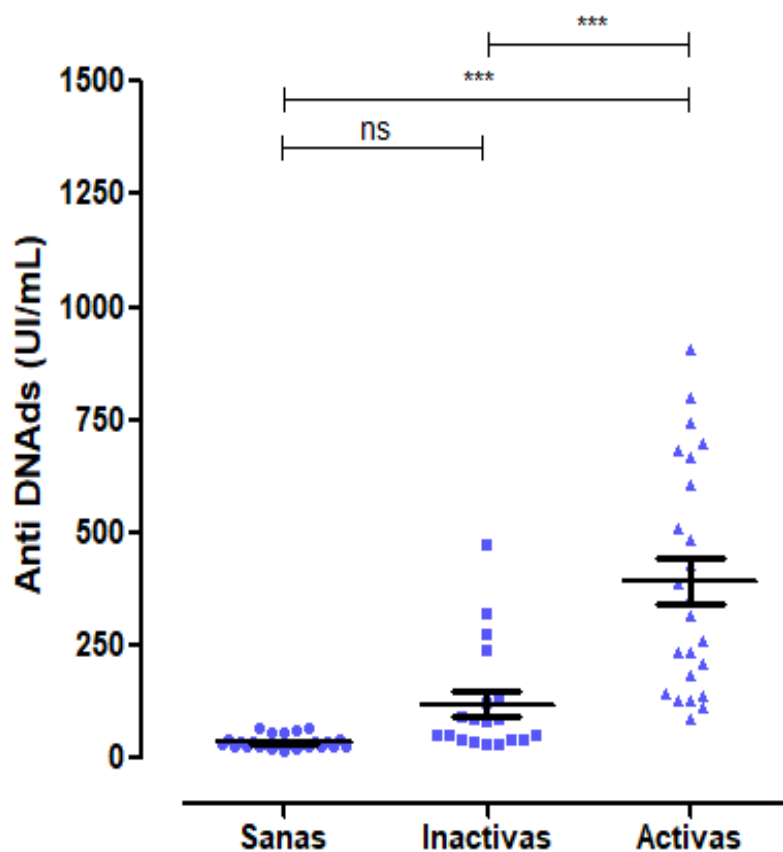
compararlos con el grupo aparentemente sano (20.06 ± 13.7 mg/dL) $p=0.0002$ y lupus inactivo (23.01 ± 12.1) $p = 0.002$, no se encontró diferencia estadísticamente significativa al comparar niveles de VSG en grupo aparentemente sano vs lupus inactivo. (Gráfica 7)



Gráfica 7. Comparación de los niveles de velocidad de sedimentación globular. Se muestran los valores promedios así como la desviación estándar. NS: p no significativa, **, ***: significativo $p < 0.05$

Con respecto a los niveles de anti DNAdc, un marcador importante en la actividad de lupus eritematoso sistémico, se encontraron niveles más altos en el grupo de

lupus activo (393 ± 252 U/L) al compararlos con el grupo de lupus inactivo (120 ± 121 U/L) y control aparentemente sano (36.1 ± 14.4 U/L) con $p < 0.0001$. (Gráfica 8)



Gráfica 8. Comparación de los niveles de anti DNAdc. Se muestran los valores promedios así como la desviación estándar. NS: P no significativa, (***) P significativa

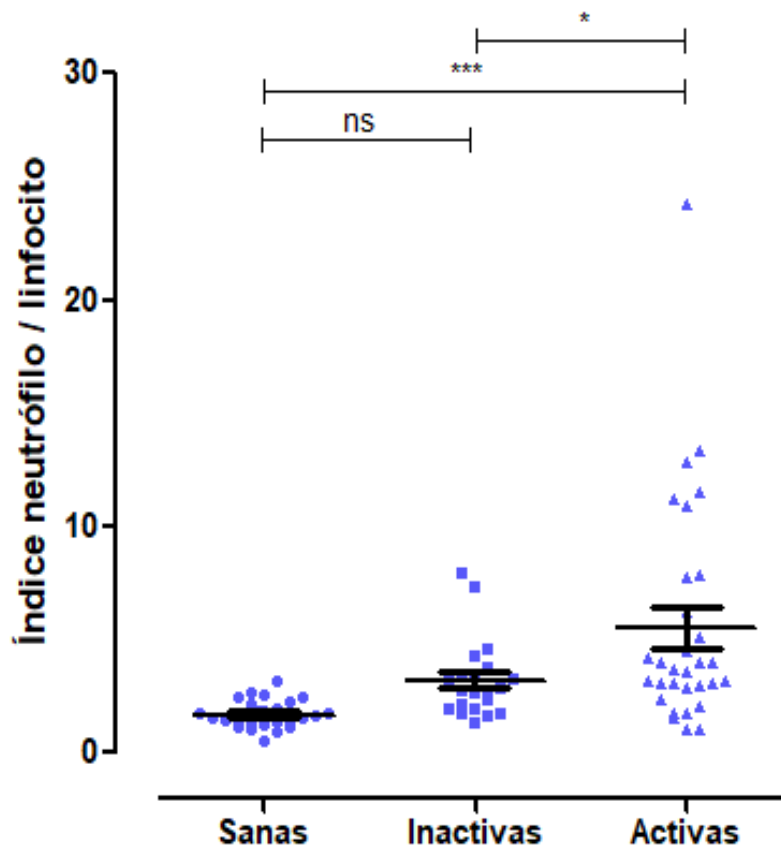
En el cuadro 9 se muestran los niveles de índice neutrófilo/linfocito y plaqueta linfocito.

Cuadro 9. Diferencias en los índices neutrófilo/linfocito y plaqueta/linfocito de las pacientes aparentemente sanas, con lupus eritematoso sistémico inactiva y activa.

Parámetro	Aparentemente sanas (n=26)	Inactivos (X $\pm$ DS) (n=21)	Activos (X $\pm$ DS) (n=29)	Valor de P
Índice neutrófilo/linfocito	1.69 $\pm$ 0.61	3.20 $\pm$ 1.72	5.54 $\pm$ 4.96	0.0001 * vs *** 0.01 ** vs ***
Índice plaqueta/linfocito	132 $\pm$ 30.7	208 $\pm$ 97.0	324 $\pm$ 220	<0.0001 * vs *** 0.01 ** vs ***

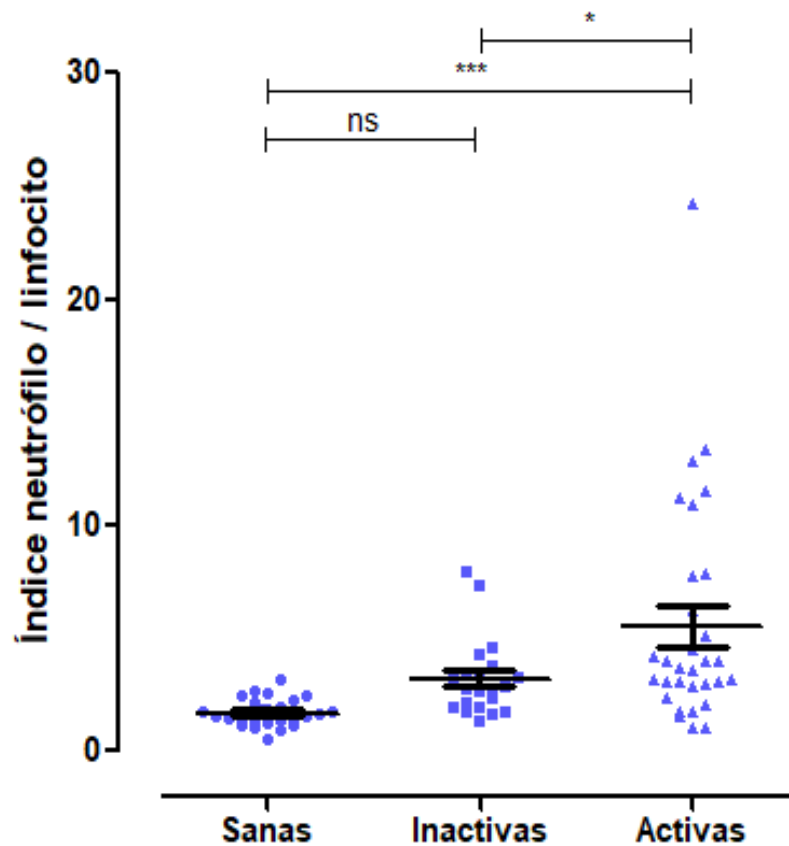
X, promedio; DS, desviación estándar.

El índice neutrófilo/linfocito se encontró mayor en el grupo LES activo (5.54 $\pm$ 4.96) vs aparentemente sano (1.69 $\pm$ 0.61) con diferencia estadísticamente significativa ($p = 0.0001$), así mismo al comparar los grupos de LES activo vs inactivo (208 $\pm$ 97) también la diferencia entre ambos grupos fue estadísticamente significativa ($p = 0.01$). No se encontró diferencia estadísticamente significativa al comparar los valores de índice neutrófilo/linfocito entre los grupos aparentemente sanos y lupus inactivo. (Gráfica 9)



Gráfica 9. Comparación de los niveles de índice neutrófilo/linfocito. Se muestran los valores promedios así como la desviación estándar. NS: P no significativa; * y *** (p estadísticamente significativas)

El índice plaqueta/linfocito, también se encontró con mayores niveles en el grupo de LES activo (324 ± 220) al compararlo con LES inactivo (208 ± 97.0) y el control sano (132 ± 30.7) con diferencias significativas ($p < 0.0001$ y $p < 0.01$ respectivamente). (Gráfica 10)



Gráfica 10. Comparación de los niveles de índice plaqueta /linfocito. Se muestran los valores promedios así como la desviación estándar. NS: no significativo, *: significativo $p < 0.05$, ***: significativo $p < 0.001$.

Los marcadores de estrés oxidativo de tipo oxidantes, se muestran en el cuadro 10, así como su comparación en cada uno de los grupos.

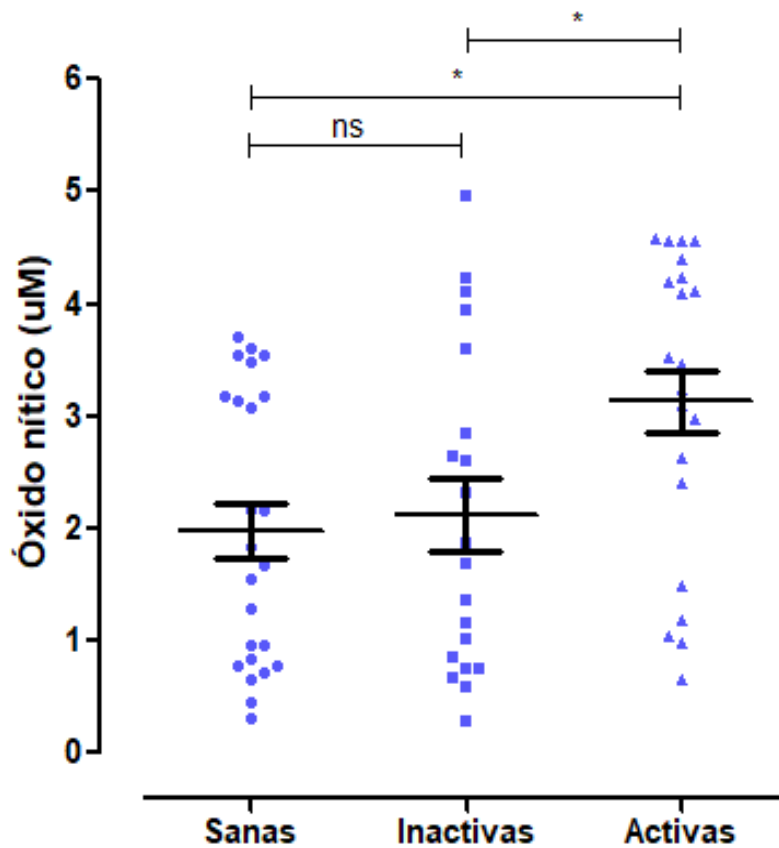
Cuadro 10. Diferencias en los marcadores oxidantes de las pacientes aparentemente sanas, con lupus eritematoso sistémico inactivo y activo.

Parámetro	AS N=26	Inactivos ** N=21	Activos *** N=29	P
NOX (uM)	1.98 ± 1.21	2.12 ± 1.44	3.13 ± 1.32	0.01 * vs *** 0.01 ** vs ***
MDA (uM)	8.34 ± 4.87	7.18 ± 5.14	7.46 ± 4.24	NS
AGEs (UAF)	2.33 ± 1.07	2.93 ± 1.59	2.92 ± 1.57	NS
AOPPs (uM)	33.6 ± 12.2	53.5 ± 12	58.3 ± 16.2	<0.0001 * vs ** <0.0001 * vs *** NS ** vs ***

AS, sujetos aparentemente sanos; N, número de participantes; NOX, óxido nítrico; MDA, malondialdehído; AGEs, productos tardíos de la glucosilación ; UAF, unidades arbitrarias de fluorescencia; AOPP, productos de oxidación avanzada de proteínas ;X, promedio; DS, desviación estándar.

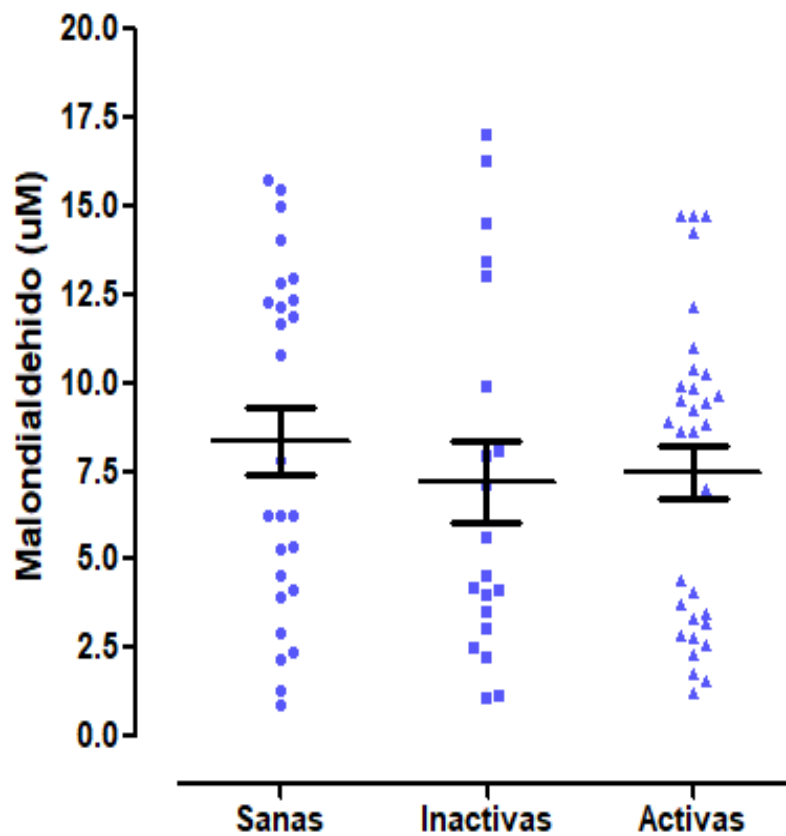
No se encontró diferencia significativa al comparar malondialdehído ni AGEs. Sin embargo, se encontró diferencia significativa al comparar NOX.

En relación a los niveles de NOx, el grupo de pacientes con lupus activo contó con valores más elevados de este oxidante. Grupo de LES activo 3.13 ± 1.32 uM, el grupo aparentemente sano: 1.98 ± 1.21uM y el grupo de LES inactivo tuvo valores de 2.12 ± 1.44 uM, teniendo diferencias significativas al comparar el grupo AS y LES activo (p = 0.01) y al comparar LES inactivo vs LES activo (p = 0.01). (Gráfica 11)



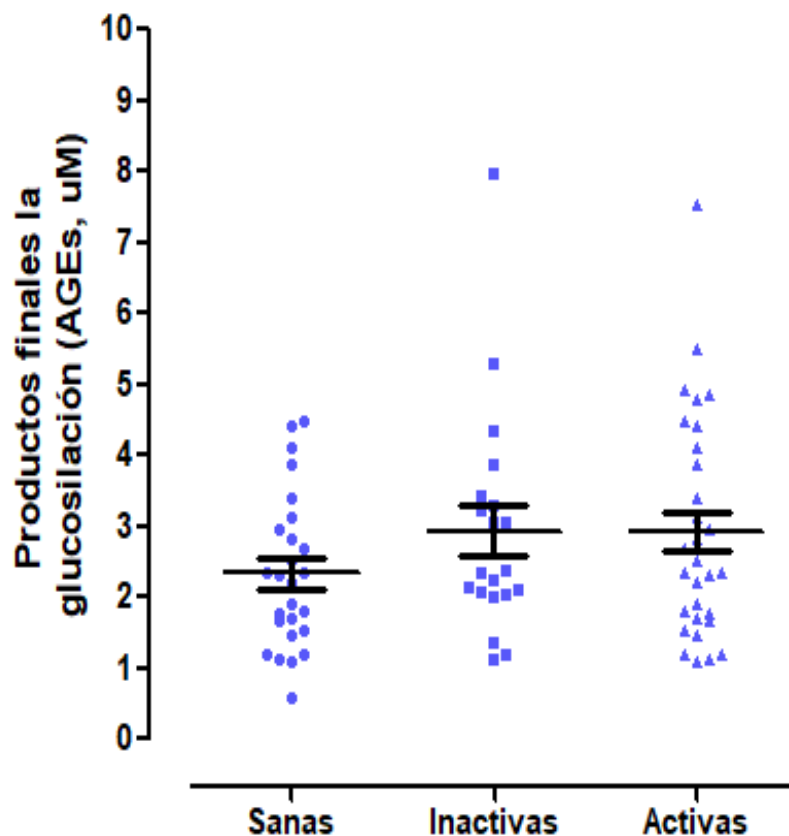
Gráfica 11. Comparación de los niveles de óxido nítrico. Se muestran los valores promedios así como la desviación estándar. NS: p no significativa, (*): p significativa

Los niveles de malondialdehído en el grupo aparentemente sano fueron de 8.34 ± 4.87 uM, en grupo de lupus inactivo de 7.18 ± 5.14 uM y en grupo de lupus activo fue de 7.46 ± 4.24 , sin diferencias estadísticamente significativas al comparar los tres grupos. (Gráfica 12)



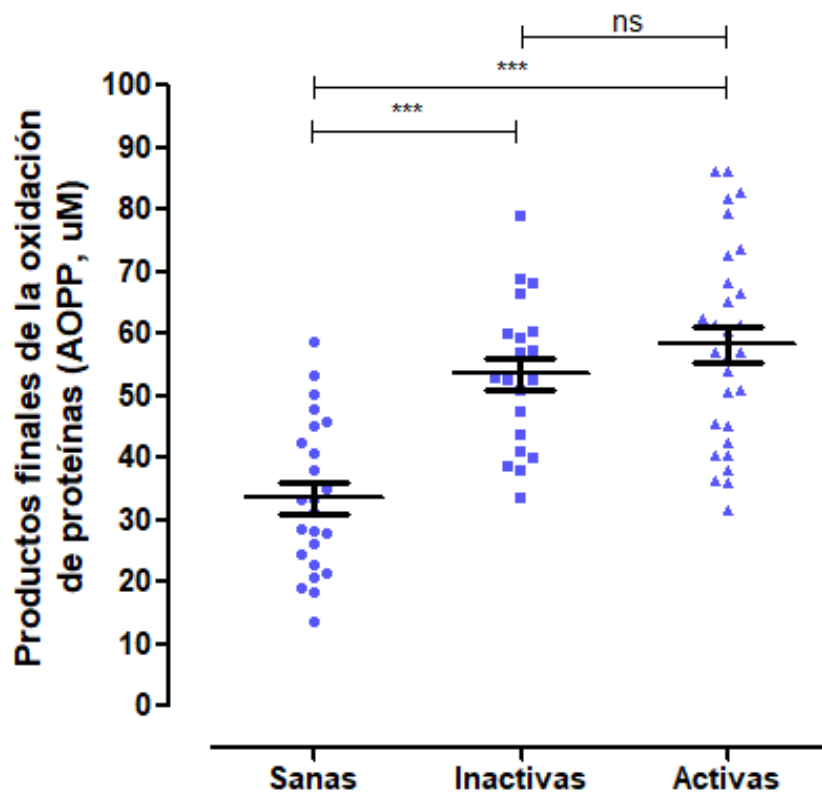
Gráfica 12 . Comparación de los niveles de Malondialdehído. Se muestran los valores promedios así como la desviación estándar.

Los niveles de productos tardíos de la glucosilación en el grupo aparentemente sano fue de 2.33 ± 1.07 UAF, en grupo de lupus inactivo de 2.93 ± 1.59 UAF y en grupo de lupus activo fue de 2.92 ± 1.57 , sin diferencias estadísticamente significativas al comparar los tres grupos. (Gráfica 13)



Gráfica 13. Comparación de los productos finales de glucosilación. Se muestran los valores promedios así como la desviación estándar.

Los niveles de productos tardíos de la oxidación de proteínas fueron mayores en el grupo de LES activo, reportándose una cifra de 58.3 ± 16.2 uM , en el grupo aparentemente sano fue de 33.6 ± 12.2 uM y el grupo de LES inactivo de 53.5 ± 12 uM, estos valores presentaron diferencias estadísticamente significativas al comparar el grupo aparentemente sano vs inactivo ($p < 0.0001$), y al comparar grupo aparentemente sano vs lupus activo ($p < 0.0001$), sin presentar diferencias estadísticamente significativas al comparar el grupo de lupus inactivo vs activo. (Gráfica 14)



Gráfica 14. Comparación de los productos finales de la oxidación de proteínas. Se muestran los valores promedios así como la desviación estándar.

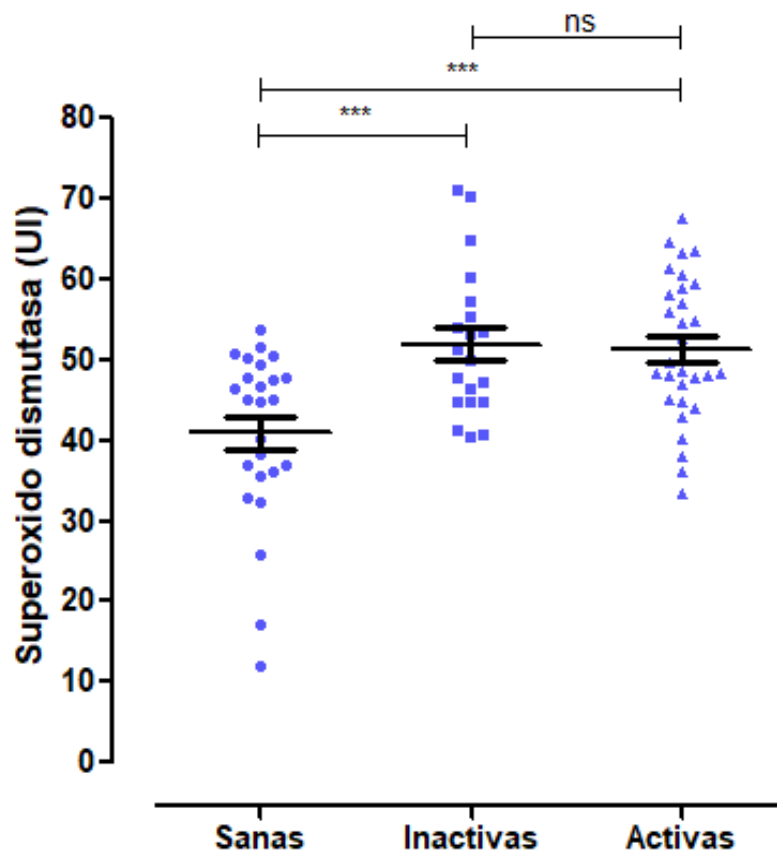
El análisis de los antioxidantes en estrés oxidativo, se muestra en el cuadro 11.

Cuadro 11. Diferencias en los marcadores antioxidantes de las pacientes aparentemente sanas, con lupus eritematoso sistémico inactiva y activa.

Parámetro	AS (*) N = 26	Inactivos (**) N = 21	Activos (***) N = 29	P
SOD (%IDP)	40.9 ± 10.7	52.0 ± 9.15	51.4 ± 8.79	<0.0001 * vs ** <0.0001 * vs *** NS ** vs ***
VITAMINA C (mM)	2.62 ± 0.82	3.26 ± 0.79	2.80 ± 0.64	0.015 * vs ** NS * vs *** NS ** vs ***
GSH (uM)	4.07 ± 0.64	4.37 ± 0.60	4.74 ± 0.70	0.0015 * vs *** NS * vs ** NS ** vs ***

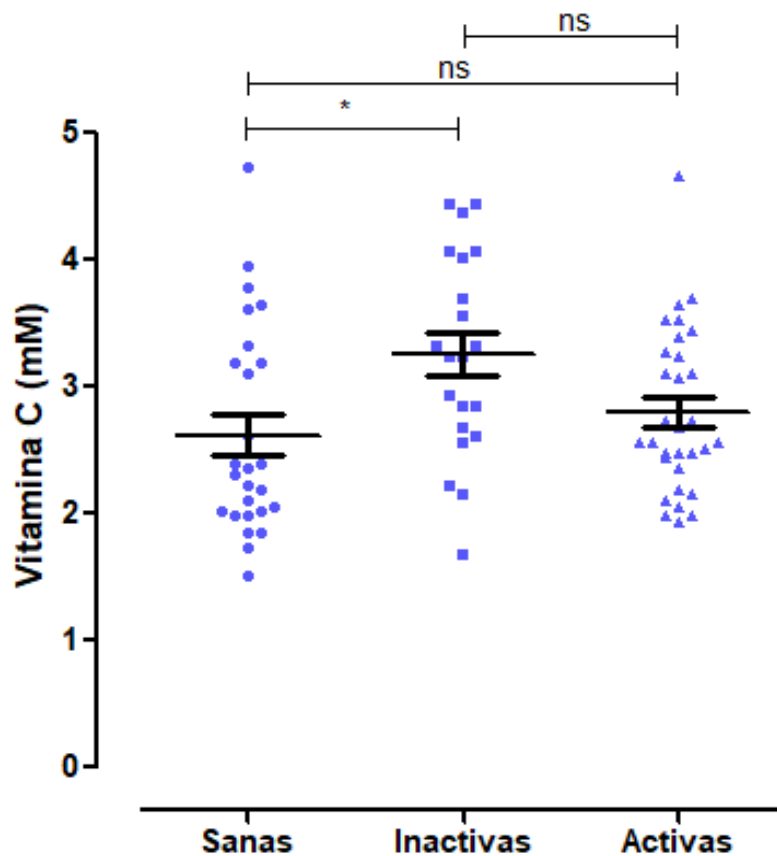
AS: Sujetos aparentemente sanos; N:Número de participantes; SOD, superóxido dismutasa; GSH, glutatión; IDP: Inhibición de pirogalol; X, promedio; DS, desviación estándar.

Los niveles de SOD presentaron diferencia en su análisis, al comparar el grupo aparentemente sano vs activos (40.9 ± 10.7 % IDP vs 51.4 ± 8.79 % IDP, respectivamente), con diferencia en estos grupos significativa (p < 0.0001), al igual al comparar el grupo aparentemente sano vs LES inactivo, éste último con valores de SOD de 52.0 ± 9.15 % IDP, con p < 0.0001. No se encontró diferencia estadísticamente significativa al comparar niveles de SOD en grupo de LES inactivo vs LES activo. (Gráfica 15)



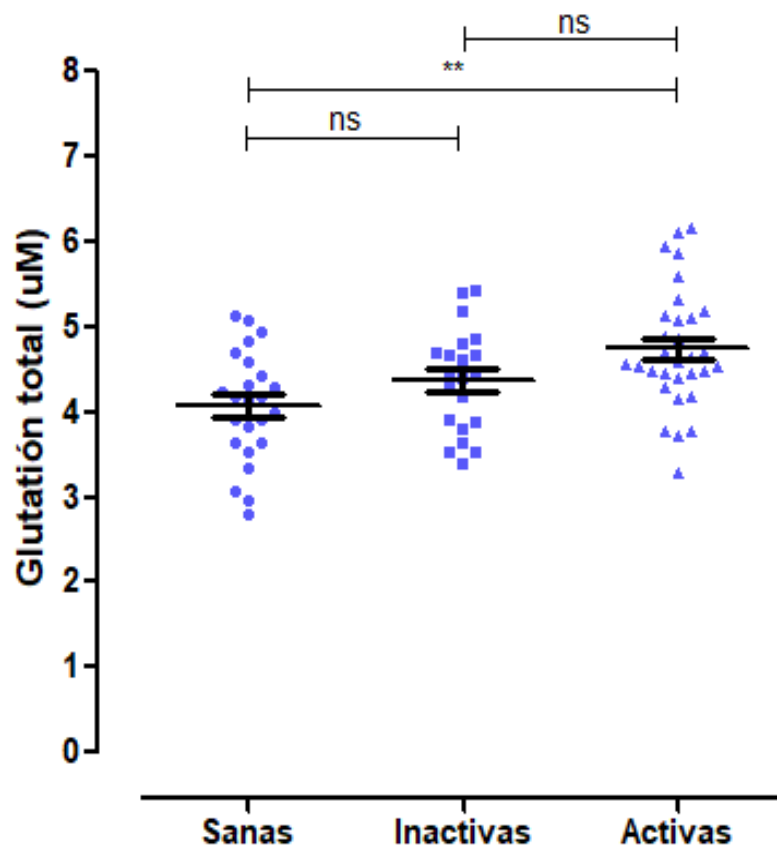
Gráfica 15. Comparación de los niveles de superóxido dismutasa. Se muestran los valores promedios así como la desviación estándar. NS, no significativo; ***, $p < 0.05$ (significativa).

En el análisis de niveles de vitamina C, se encontraron mayores niveles en el grupo de LES inactivo (3.26 ± 0.79), al comparar con el grupo aparentemente sano (2.62 ± 0.82) $p = 0.015$, sin diferencia estadísticamente significativas al comparar con los demás grupos. (Gráfica 16)



Gráfica 16. Comparación de los niveles de vitamina C. Se muestran los valores promedios así como la desviación estándar. NS, no significativo; *, $p < 0.05$ (significativa)

En los niveles de glutatión, estos fueron mayores en el grupo de LES activo (4.74 ± 0.70), en el grupo aparentemente sano sus niveles fueron de 4.07 ± 0.64 uM y en grupo lupus inactivo fueron de 4.37 ± 0.60 uM, se encontró diferencia estadísticamente significativa al comparar el grupo aparentemente sano vs LES activo ($p = 0.0015$). (Gráfica 17)



Gráfica 17. Comparación de los niveles de glutatión total. Se muestran los valores promedios así como la desviación estándar. NS, no significativo; **, $p < 0.05$ (significativa).

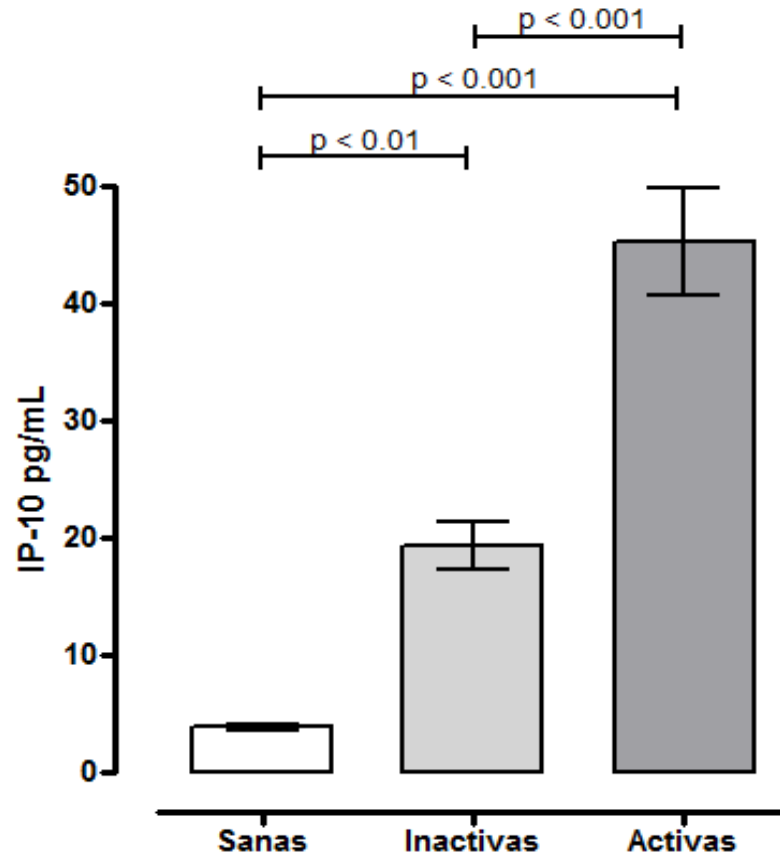
Los niveles de proteína IP-10 sérica fueron mayores en el grupo de LES activo que reportó una concentración de 45.36 ± 24.7 pg/mL, en el grupo aparentemente sano sus niveles fueron de 3.87 ± 1.11 pg/mL y en grupo lupus inactivo fueron de 19.37 ± 9.15 pg/mL, se encontró diferencia estadísticamente significativa al comparar el grupo aparentemente sano vs LES activo ($p = 0.0015$). (Cuadro 12 y Gráfica 18)

Cuadro 12. Diferencias en las concentraciones séricas de proteína IP-10 de las pacientes aparentemente sanas, con lupus eritematoso sistémico inactivo y activo.

Parámetro	AS (*) N = 26	Inactivo (**) N = 21	Activo (***) N = 29	P
Proteína IP-10 pg/mL	3.87 ± 1.11	19.37 ± 9.15	45.36 ± 24.7	<0.01 * vs ** <0.001 * vs *** <0.001 ** vs ***

AS: Sujetos aparentemente sanos; N:Número de participantes; pg/mL:

picogramo/mililitro; DS, desviación estándar.



Gráfica 18. Comparación de los niveles séricos de proteína IP-10. Se muestran los valores promedios así como la desviación estándar. $p < 0.05$ (significativa).

8. DISCUSIÓN

Lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune, multisistémica, crónica, causada por la producción de autoanticuerpos, activación de complemento y depósito de complejos inmunes, de curso y gravedad variable, con diversas formas de presentación clínica, se caracteriza por cursar con períodos de actividad de la enfermedad y de remisión (1).

Durante estos períodos de actividad, el estrés oxidativo se encuentra incrementado (19).

El objetivo general de este estudio fue establecer si existe correlación entre los niveles séricos de antioxidantes y oxidantes, índice neutrófilo linfocito y proteína IP-10, con el grado de actividad de la enfermedad en pacientes con LES.

En este trabajo se demostró que los niveles de oxidantes NOX y AOPPs se encontraron en mayores cantidades en el grupo de LES activo comparado con LES inactivo, y a su vez en el grupo de LES inactivo los niveles de NOX y AOPPs se encontraron en mayor cantidad comparado con el grupo aparentemente sano, lo que corresponde con lo descrito en trabajos como el de Hend Fouad y colaboradores (56), Jafari y colaboradores (19), Bona y colaboradores (57) y en el análisis de Jay Pravda (58), en el que los niveles de oxidantes se encuentran elevados en pacientes con LES. Sin embargo, al analizar los oxidantes MDA, no hubo diferencia en cuanto a los distintos grupos, lo que contrasta con lo reportado en los estudios de Hardt y colaboradores, en la que pacientes con LES activo tenían cifras elevadas de MDA (59).

Tampoco se encontró diferencia en la medición de AGES en los distintos grupos.

Los niveles de antioxidantes SOD se encontraron aumentados en el grupo de LES tanto inactivo como activo, los niveles de Vitamina C se encontraron en mayor

cantidad en el grupo del LES inactivo comparado con el grupo aparentemente sano, y los niveles de glutatión se encontraron en mayor cantidad en el grupo LES activo, lo que contrasta con lo reportado en la literatura, en la que pacientes con LES activo cursan con disminución en la cantidad de marcadores antioxidantes y aumento de los oxidantes. De acuerdo a lo reportado por Bellua y colaboradores en su meta análisis, los niveles de antioxidantes GSH y SOD en plasma de pacientes con LES se encuentran disminuidos, en comparación con el grupo de control sano. Estos hallazgos sugieren que los antioxidantes (SOD, GSH, catalasa (CAT), glutatión peroxidasa (GPx) pueden tener un papel regulador en la patogénesis de LES y han sido parámetros importantes en el análisis de estrés oxidativo (15). Este hecho documentado en nuestro trabajo, en el que tanto los niveles de oxidantes como de antioxidantes se encuentran aumentados, pudiese ser explicado como un mecanismo compensatorio, otra posibilidad puede ser debido a la dieta, o el comportamiento en raza mestiza, lo que podría analizarse en otros trabajos que evalúen específicamente estas posibilidades.

Substancias como alfa-tocoferol, beta caroteno, retinol y bilirrubinas, actúan como antioxidantes para evitar consecuencias deletéreas del estrés oxidativo y aterogénesis acelerada (60).

En este estudio se observó que pacientes con LES activo presentaron niveles más bajos de albúmina, bilirrubina directa y bilirrubina total, con diferencia estadísticamente significativa comparado con el grupo LES inactivo y aparentemente sano; así como bilirrubina indirecta más baja en LES activo, al compararlo con los otros dos grupos, sin embargo éste último sin diferencia estadística significativa; estos resultados son similares a los reportado por Dos Santos y colaboradores, quienes determinan una correlación indirecta en los niveles de bilirrubina con la actividad en LES, y hacen énfasis en la bilirrubina no solo como el producto final del metabolismo del grupo hemo, sino como una sustancia con acción potente citoprotectora, por su acción antioxidante, antiinflamatoria e inmunosupresora (11).

Los niveles séricos de proteína IP-10, tuvieron una correlación directamente proporcional a la actividad de LES, como lo reportado por El-Gohary y cols (41), y previamente por Abujam y cols (42), y Kong y cols (43) por lo que consideramos que la determinación sérica de esta citocina puede ser útil como marcador de actividad en LES en pacientes mexicanos.

9. CONCLUSIÓN

Lo expuesto anteriormente permite concluir que existe correlación directa de los niveles séricos de antioxidantes: óxido nítrico y productos de oxidación avanzada de proteínas con el grado de actividad en LES de acuerdo a la escala de SLEDAI, es decir, a mayor actividad de LES mayores niveles de NOX y AOPPs. No se encontró correlación directa de los niveles de malondialdehído ni productos tardíos de glucosilación con el grado de actividad de LES.

Existe correlación directa en los valores de antioxidantes y el grado de actividad de LES, a mayor actividad de LES mayor cantidad de SOD y GSH, niveles de Vitamina C no presentaron correlación con actividad de LES, siendo estos más altos en pacientes con lupus inactivo, pero más bajos en pacientes del grupo aparentemente sano.

Existe correlación directa entre los índices neutrófilo/linfocito y plaqueta/linfocito con el grado de actividad de LES, presentando mayores índices los pacientes con LES activo.

Los niveles de proteína IP-10 presentaron correlación directa con el grado de actividad de la enfermedad en pacientes con LES.

Lo más importante de establecer las concentraciones de estrés oxidativo, de los índices: neutrófilo/linfocito y plaqueta/linfocito, así como de las concentraciones de la proteína IP-10, fue estudiar su comportamiento en un estado inflamatorio sistémico e investigar su papel como marcador de actividad en esta importante enfermedad.

Lo que más ayudó a establecer las concentraciones de estrés oxidativo, y proteína IP-10 fue la preparación adecuada del suero y plasma de los pacientes que

participaron en el estudio, los índices neutrófilo/linfocito y plaqueta/linfocito fueron obtenidos mediante una sencilla ecuación de acuerdo a los parámetros de la biometría hemática.

Lo más difícil fue establecer los niveles de proteína IP-10, por el procesamiento que implica su medición.

10. REFERENCIAS

1. Rivas-Larrauri F, Yamazaki-Nakashimada MA. Lupus eritematoso sistémico: ¿es una sola enfermedad? *Reumatol Clin*. 2016;12(5):274-81.
2. Tsokos GC. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*. 2011; 365(22):2110-21.
3. Carter EE, Barr SG, Clarke AE. The global burden of SLE: Prevalence, health disparities and socioeconomic impact. *Nat Rev Rheumatol*. 2016;12(10):605-20.
4. Cervera R, Pallarés L. Epidemiología y clasificación del lupus eritematoso sistémico. En: Cervera R, Jiménez-Alonso J. *Avances en lupus eritematoso sistémico*. 1º Edición. Barcelona: Marge Médica Books; 2008: p 9-22.
5. Sánchez-Díaz MR, Nucamendi-Cervantes GC. ¿Qué es el Lupus eritematoso? *Boletín Epidemiológico del sistema Nacional de Vigilancia, Sistema único Informativo*. México: 2013;1-28.
6. Huggins JL, Holland MJ, Brunner HI. Organ involvement other than lupus nephritis in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2016;25(8):857-63.
7. Ahearn JM, Liu CC, Kao AH, Manzi S. Biomarkers for systemic lupus erythematosus. *Transl Res*. 2012;159(4):326-42.
8. Illei GG, Tackey E, Lapteva L, Lipsky PE. Biomarkers in systemic lupus erythematosus. I. General overview of biomarkers and their applicability. *Arthritis Rheum* 2004; 50(6):1709-20.
9. Illei GG, Tackey E, Lapteva L, Lipsky PE. Biomarkers in systemic lupus erythematosus. II. Markers of disease activity. *Arthritis Rheum* 2004; 50(7):2048-65.
10. Jacob N, Stohl W. Cytokine disturbances in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Res Ther*. 2011;13(4):1-11.
11. Dos Santos BH, Almeida CM de R, Skare TL. Systemic lupus erythematosus activity and serum bilirubins. *Acta Reumatol Port*. 2013;38(4):242-6.
12. Perl A. Oxidative stress in the pathology and treatment of systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Rheumatol*. 2013;9(11):674-86.

13. Bhatnagar A, Aggarwal A. Oxidative stress-a major player in the pathophysiology of systemic lupus erythematosus. En: Laher I. Systems Biology of Free Radicals and Antioxidants, Berlin, Germany; Springer; 2014. p.2539-59.
14. Fujii J, Kurahashi T, Konno T, Homma T, Luchi Y. Oxidative stress as a potential causal factor for autoimmune hemolytic anemia and systemic lupus erythematosus. *World J Nephrol.* 2015;4(2):213-22.
15. Sam NB, Li BZ, Leng RX, Pan HF, Ye DQ. Circulating antioxidant levels in systemic lupus erythematosus patients: A systematic review and meta-Analysis. *Biomark Med.* 2019;13(13):1137-52.
16. Shah D, Kiran R, Wanchu A, Bhatnagar A. Oxidative stress in systemic lupus erythematosus: Relationship to Th1 cytokine and disease activity. *Immunol Lett.* 2010;129(1):7-12.
17. Shah D, Mahajan N, Sah S, Nath SK, Paudyal B. Oxidative stress and its biomarkers in systemic lupus erythematosus. *J Biomed Sci.* 2014;21(1):1-13.
18. Lightfoot YL, Blanco LP, Kaplan MJ. Metabolic abnormalities and oxidative stress in lupus. *Curr Opin Rheumatol.* 2017;29(5):442-9.
19. Jafari SM, Salimi S, Nakhaee A, Kalani H, Tavallaie S, Farajian-Mashhadi F, et al. Prooxidant-Antioxidant Balance in Patients with Systemic Lupus Erythematosus and Its Relationship with Clinical and Laboratory Findings. *Autoimmune Dis.* 2016;1-5.
20. Oztürk S, Erdem A, Ozlü MF, Ayhan S, Erdem K, Ozyasar M, et al. Assessment of the neutrophil to lymphocyte ratio in young patients with acute coronary syndromes. *Turk Kardiyol Dern Ars.* 2013;41(4):284-9.
21. Yuksel M, Yildiz A, Oylumlu M, Turkcu FM, Bilik MZ, Ekinci A, et al. Novel markers of endothelial dysfunction and inflammation in Behçet's disease patients with ocular involvement: epicardial fat thickness, carotid intima media thickness, serum ADMA level, an neutrophil-to-lymphocyte ratio. *Clin Rheumatol.* 2016;35(3):701-8.
22. Ma L, Zeng A, Chen B, Chen Y, Zhou R. Neutrophil to lymphocyte ratio and platelet to lymphocyte ratio in patients with systemic lupus erythematosus and their correlation with activity: A meta-analysis. *Int Immunopharmacol.* 2019;76:105949.

23. Goodnow CC. Multistep pathogenesis of autoimmune disease, *Cell*. 2007;130(1):25-35.
24. Sunbul M, Gerin F, Durmus E, Kivrak T, Sari I, Tigen K, et al. Neutrophil to lymphocyte and platelet to lymphocyte ratio in patients with dipper versus non-dipper hypertension, *Clin. Exp. Hypertens*. 2014;36 (4): 217-21.
25. S. Uthamalingam S, Patvardhan EA, Subramanian S, Ahmed W, Martin W, Daley M, et al. Utility of the neutrophil to lymphocyte ratio in predicting long-term outcomes in acute decompensated heart failure., *Am. J. Cardiol*. 2011;107(3):433-8.
26. Tamhane UU, Aneja S, Montgomery D, Rogers EK, Eagle KA, Gurm HS. Association Between Admission Neutrophil to Lymphocyte Ratio and Outcomes in Patients With Acute Coronary Syndrome. *Am J Cardiol*. 2008;102(6):653-7.
27. Guasti L, Dentali F, Castiglioni L, Maroni L, Marino F, Squizzato A, et al. Neutrophils and clinical outcomes in patients with acute coronary syndromes and / or cardiac revascularization. A systematic review on more than 34,000 subjects, *Thromb. Haemost*. 2011;106 (4):591-99.
28. Afsar B. The relationship between neutrophil lymphocyte ratio with urinary protein and albumin excretion in newly diagnosed patients with type 2 diabetes. *Am. J. Med. Sci*. 2014;347(3):217-20.
29. Wu Y, Chen Y, Yang X, Chen L, Yang Y. Neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and platelet-to-lymphocyte ratio were associated with disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Int Immunopharmacol*. 2016;36:94-9.
30. Hagberg N, Rönneblom L. The Interferon System in Lupus Erythematosus. *Systemic Lupus Erythematosus: Basic, Applied and Clinical Aspects*. Elsevier; 2016. 153-8.
31. Fu SM, Sung SJ, Wang H. Pathogenesis of lupus nephritis, En: Wallace D, Hannahs H. *Dubois' Lupus erythematosus and related syndromes*. 9th edition. Elsevier. 2019; 269-89.
32. Neville LF, Mathiak G, Bagasra O The immunobiology of interferon-gamma inducible protein 10 kD (IP-10): a novel, pleiotropic member of the C-X-C chemokine superfamily. *Cytokine Growth Factor Rev*;1997;8(3):207-19.

33. Zhang C, Cai L, Shao K, Wu J, Zhou W, Cao L, et al. Serum IP-10 is useful for identifying renal and overall disease activity in pediatric systemic lupus erythematosus. *Pediatr Nephro*. 2018;33(5):837-45.
34. Luster AD, Unkeless JC, Ravetch J V. γ -Interferon transcriptionally regulates an early-response gene containing homology to platelet proteins. *Nature*. 1985;315(6021):672-6.
35. Padovan E, Spagnoli GC, Ferrantini M, Heberer M. IFN- α 2a induces IP-10/CXCL10 and MIG/CXCL9 production in monocyte-derived dendritic cells and enhances their capacity to attract and stimulate CD8⁺ effector T cells. *J Leukoc Biol*. 2002; 71(4):669-76.
36. Christen U, Von Herrath MG. IP-10 and type 1 diabetes: a question of time and location. *Autoimmunity*. 2004;37(5):273-82.
37. Hanaoka R, Kasama T, Muramatsu M, Yajima N, Shiozawa F, Miwa Y, et al. A novel mechanism for the regulation of IFN- γ inducible protein-10 expression in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2003;5(2):74-81.
38. Azzurri A, Sow OY, Amedei A, Bah B, Diallo S, Peri G, et al. IFN- γ -inducible protein 10 and pentraxin 3 plasma levels are tools for monitoring inflammation and disease activity in *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Microbes Infect*. 2005;7(1):1-8.
39. Romero AI, Lagging M, Westin J, Dhillon AP, Dustin LB, Pawlotsky JM et al. Interferon (IFN)- γ -inducible protein-10: association with histological results, viral kinetics, and outcome during treatment with pegylated IFN- α 2a and ribavirin for chronic hepatitis C virus infection. *J Infect Dis*. 2006;194(7):895-903.
40. Crisan D, Grigorescu M, Radu C, Suci A. Interferon- γ -inducible protein-10 in chronic hepatitis C: Correlations with insulin resistance, histological features & sustained virological response. *Indian J Med Res*. 2017;145(4):543-550.
41. El-Gohary A, Hegazy A, Abbas M, Kamel N, Nasef SI. Serum and Urinary Interferon-Gamma-Inducible Protein 10 in Lupus Nephritis. *J Clin Lab Anal*. 2016;30(6):1135-8.
42. Abujam B, Cheekatla SS, Aggarwal A. Urinary CXCL-10/IP-10 and MCP-1 as markers to assess activity of lupus nephritis. *Lupus*. 2013;22(6):614-23.

43. Kong KO, Tan AW, Thong BYH, Lian TY, Cheng YK, Teh CL, et al. Enhanced expression of interferon-inducible protein-10 correlates with disease activity and clinical manifestations in systemic lupus erythematosus. *Clin Exp Immunol*. 2009;156(1):134-40.
44. Tsokos GC, Lo MS, Costa Reis P, Sullivan KE. New insights into the immunopathogenesis of systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Rheumatol*:2016; 12(2):716-30.
45. Tam LS, Li EK, Leung VY, Griffith JF, Benzie IF, Lim PL, Whitney B et al. Effects of vitamins C and E on oxidative stress markers and endothelial function in patients with systemic lupus erythematosus: A double blind, placebo controlled pilot study. *J Rheumatol*. 2005;32(2):275-82.
46. Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C. Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18(7):1272-80.
47. Li J, Huang M , Shen X. The association of oxidative stress and pro-inflammatory cytokines in diabetic patients with hyperglycemic crisis. *J Diabetes Complications*. 2014; 28(5):662-6.
48. Steven S, Frenis K, Oelze M, Kalinovic S, Kuntic M, Jimenez MTB, et al. Vascular inflammation and oxidative stress: Major triggers for cardiovascular disease. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;1-26.
49. Valavanidis A, Vlachogianni T, Fiotakis K, Loridas S. Pulmonary oxidative stress, inflammation and cancer: Respirable particulate matter, fibrous dusts and ozone as major causes of lung carcinogenesis through reactive oxygen species mechanisms. *Int J Environ Res Public Health*. 2013;10(9):3886–907.
50. Prieto P, Pineda M, Aguilar M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem*. 1999;269(2):337-41.
51. Marklund S, Marklund G. Involvement of the Superoxide Anion Radical in the Autoxidation of Pyrogallol and a Convenient Assay for Superoxide Dismutase. *Eur J Biochem*. 1974; 47(3): 469–74.

52. Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 61: 882-8.
53. Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrite, nitrate and [15N] nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 1982; 126(1) 131–8.
54. Gallardo-Montoya JM. Evaluación del sistema antioxidante en el semen normal. *Rev Invest Clin*. 2007;59(1):42-7.
55. Wade CR, van Rij AM. Plasma thiobarbituric acid reactivity: Reaction conditions and the role of iron, antioxidants and lipid peroxy radicals on the quantitation of plasma lipid peroxides. *Life Sci* 1988; 43:1085–93.
56. Fouad H, Yahia S, Elsaid A, Hammad A, Wahba Y, El-Gilany AH, et al. Oxidative stress and vitamin D receptor Bsm1 gene polymorphism in Egyptian children with systemic lupus erythematosus: a single center study. *Lupus*. 2019;28(6):771–7.
57. Bona N, Pezzarini E, Balbi B, Daniele SM, Rossi MF, Monje AL, et al. Oxidative stress, inflammation and disease activity biomarkers in lupus nephropathy. *Lupus*. 2020;29(3):311–23.
58. Pravda J. Systemic Lupus Erythematosus: Pathogenesis at the Functional Limit of Redox Homeostasis. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;1-11.
59. Hardt U, Larsson A, Gunnarsson I, Clancy RM, Petri M, Buyon JP, et al. Autoimmune reactivity to malondialdehyde adducts in systemic lupus erythematosus is associated with disease activity and nephritis. *Arthritis Res Ther*. 2018;20(1):1-12.
60. Yang Z, Liang Y, Li C, Xi W, Zhong R. Bilirubin levels in patients with systemic lupus erythematosus: Increased or decreased? *Rheumatol Int*. 2012;32(8):2423-30

ANEXOS

ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO

ANEXO 2. CARTA DE BIOSEGURIDAD

ANEXO 3. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ANEXO 4. FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

ANEXO 5. ÍNDICE DE ACTIVIDAD DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO
(SLEDAI)

ANEXO 1. CONSENTIMIENTO INFORMADO



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

COMPARACIÓN DE LOS MARCADORES DE ANTIOXIDACIÓN, OXIDACIÓN Y PROTEÍNA IP-10, CON EL GRADO DE ACTIVIDAD DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

Marisela Berenice Balderas Guerrero (1) Juan Manuel Gallardo Montoya (2),
Miguel Ángel Vázquez Zaragoza (1), Patricia Valdez Caballero (2)
Servicio de Reumatología (1), Unidad de Investigación Médica en Enfermedades
Nefrológicas (2) del Hospital de Especialidades “Dr. Bernardo Sepúlveda”. Centro
Médico Nacional “Siglo XXI”. IMSS
Número de Registro: R-2019-3601-166

A usted se le está invitando a participar en este estudio de investigación médica, antes de decidir si participa o no, debe conocer y comprender cada uno de los apartados señalados en esta carta de consentimiento informado. Usted puede sentirse con la absoluta libertad de preguntar sobre cualquier aspecto que le ayude a comprender o aclarar sus dudas al respecto.

Justificación del estudio

El lupus eritematoso sistémico es una enfermedad crónica autoinmune, caracterizada por afección multisistémica, con un amplio rango de presentaciones clínicas y manifestaciones. Es necesario encontrar marcadores con mayor nivel de sensibilidad y especificidad que puedan detectarse de forma más fácil, y que puedan estimar el grado de actividad de la enfermedad, para poder brindar un tratamiento más óptimo, evitando así complicaciones y daño irreversible de los órganos afectados, principalmente riñón.

Objetivo del estudio

Se trata de un estudio de investigación médica que tiene como objetivos comparar los niveles de marcadores de antioxidación - oxidación, índice neutrófilo-linfocito y una proteína en sangre, llamada IP-10, con el estado de actividad de Lupus eritematoso sistémico, obteniendo datos tanto clínicos como bioquímicos, que permitirá establecer el grado de afección de la enfermedad.

Esto permitirá evaluar si existe una correlación entre el grado de control de la enfermedad y si es directamente proporcional al grado de nivel de proteína IP-10 en sangre.

Procedimientos

Si reúne las condiciones para participar en este protocolo y de aceptar participar en él, se le realizarán las siguientes pruebas y procedimientos:

Se le solicitará que responda un cuestionario sobre la salud de usted y para conocer sus antecedentes familiares y personales, así como una evaluación clínica.

Se le tomará una muestra de 4-6 (cuatro-seis) mL de sangre de una vena del antebrazo. Para ello, es necesario que se presente en ayuno de 8 horas, sin haber ingerido bebidas alcohólicas 24 horas antes.

Su muestra de sangre se usará para medir la concentración de proteína IP-10 y marcadores de inflamación y/o será almacenado en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas. Los datos serán codificados de acuerdo al número que se le asigne en el estudio. Por ello, quien tenga acceso a su muestra de sangre, sus resultados o a sus análisis, no tendrá acceso a su nombre.

Las muestras de material biológico obtenidas en este proyecto formarán parte de un reservorio de muestras biológicas que podrán ser utilizadas en proyectos médicos futuros, incluyendo pero no limitándose a análisis bioquímicos. De igual manera, la información generada de este proyecto podrá ser utilizada para el desarrollo de investigaciones futuras.

Posibles riesgos y molestias

Las molestias o riesgos asociados con los procedimientos de evaluación clínica (medición de peso, talla, etc.). Se trata de estudios clínicos no invasivos que no ocasionan dolor, incomodidad o riesgo alguno.

Durante el procedimiento para obtener la muestra de sangre de una vena del brazo, puede sentir alguna molestia o dolor ligero. En algunas personas se puede presentar un moretón de dimensiones variables (hematoma) que desaparecerá en algunos días.

Posibles beneficios que recibirá al participar en el estudio

Este estudio ayudará en la búsqueda de nuevos marcadores para evaluar el grado de actividad de la enfermedad. En su momento, esta información puede ser usada para respaldar la toma de decisiones tanto al nivel individual como al nivel del sistema de salud. En lo personal los exámenes de laboratorio son sin costo para usted y los resultados obtenidos serán proporcionados a usted y serán para que los médicos conozcan más sobre su enfermedad así como poder proporcionarle un mejor manejo.

Información sobre resultados y alternativas de tratamiento

Tanto la información correspondiente a usted como la del resto de la participantes de este estudio serán mantenidas con absoluta confidencialidad, los resultados

que obtengamos serán utilizados para la difusión de las conclusiones del estudio, en ningún momento se hará mención de su persona ni de la condición actual de su estado de salud.

Debido a que el estudio no le proporcionará ningún tipo de medicamentos o de procedimientos quirúrgicos, no es posible darle alternativas de tratamiento, su tratamiento será como su médico le esté atendiendo.

Participación o retiro

Su participación en este estudio es completamente voluntaria. En caso de que participe o no, la atención médica que recibe en esta institución no se verá afectada de ninguna manera.

Si decide participar en el estudio, y después decide abandonarlo, podrá hacerlo en el momento que así usted lo considere conveniente.

No recibirá pago alguno por su participación.

Para efectos de este protocolo, ni usted ni su familia tendrán que realizar pago alguno.

Durante el curso del desarrollo de este proyecto, usted puede solicitar información actualizada o los resultados de sus muestras.

Usted puede acudir en cualquier momento a las comisiones de Investigación y Ética del Hospital de Especialidades o de la Coordinación de Investigación Médica en caso de que tenga dudas sobre sus derechos como participante.

Privacidad y confidencialidad

La información obtenida de este estudio utilizada para la identificación de cada paciente, será mantenida con estricta confidencialidad por el grupo de investigadores médicos. Usted conservará una copia de este documento.

Beneficios al término del estudio

Este estudio ayudará a comparar marcadores para evaluar el daño del lupus eritematoso sistémico. En su turno esta información puede ser usada para respaldar la toma de decisiones tanto al nivel individual como al nivel del sistema de salud. En lo personal los exámenes de laboratorio son sin costo para usted y los resultados obtenidos serán proporcionados a los médicos que le darán el seguimiento (en el caso de pacientes que son captados a través de Instituciones de Salud) o de manera personal a los participantes.

Personal de contacto para dudas y aclaraciones sobre el estudio

Si tiene preguntas o requiere de mayor información sobre este estudio de investigación puede comunicarse de 9:00 a 14:00 h, de lunes a viernes con el Dr. Juan Manuel Gallardo, co investigador médico del estudio, al teléfono (01 55) 5627 6900 ext. 21371 en la Unidad de Investigación en Enfermedades Nefrológicas ubicada en la planta baja del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional “Siglo XXI” del IMSS, o al Dr. Miguel Ángel Vázquez Zaragoza, a los teléfonos: (01 55) 5627 6900 ext.21554 en el Servicio de Reumatología del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional “Siglo XXI” del IMSS localizado en la Av. Cuauhtémoc 330. Col. Doctores. Delegación Cuauhtémoc, Ciudad de México.

En caso de presentarse una emergencia derivada del estudio, usted puede dirigirse a su clínica de adscripción y/o acudir al Centro Médico Nacional “Siglo XXI” del IMSS.

Personal de contacto para dudas sobre sus derechos como participante en un estudio de investigación

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque “B” de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, Correo electrónico: comision.etica@imss.gob.mx.

Yo, _____ he leído y comprendo totalmente este documento de autorización. Estoy satisfecho con las explicaciones del médico al contestar a todas mis preguntas.

☐ Si autorizo que se tome la muestra para este estudio y estudios futuros.

☐ Si autorizo que se tome la muestra para este estudio pero no para estudios futuros.

☐ No deseo participar en este estudio, ni en estudios futuros.

EN CONSECUENCIA, DOY MI CONSENTIMIENTO PARA QUE MIS MUESTRAS SEAN UTILIZADAS PARA ESTE Y FUTUROS ESTUDIOS DE INVESTIGACIÓN MÉDICA, ENTIENDO QUE PUEDO REVOCAR EN CUALQUIER MOMENTO

Nombre del participante _____

Firma del participante _____

Lugar _____

Nombre del testigo 1 _____

Firma del testigo 1 _____

Lugar _____

Dirección _____

Relación con el participante _____

Le he explicado el estudio de investigación al participante y he contestado todas sus preguntas. Considero que comprendió la información descrita en este documento y libremente da su consentimiento a participar en este estudio de investigación.

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento informado

ANEXO 2. CARTA DE BIOSEGURIDAD



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

CARTA DE BIOSEGURIDAD

COMPARACIÓN DE LOS MARCADORES DE ANTIOXIDACIÓN, OXIDACIÓN Y PROTEÍNA IP-10, CON EL GRADO DE ACTIVIDAD DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

Marisela Berenice Balderas Guerrero (1) Juan Manuel Gallardo Montoya (2),
Miguel Ángel Vázquez Zaragoza (1), Patricia Valdez Caballero (2)

Servicio de Reumatología (1), Unidad de Investigación Médica en Enfermedades
Nefrológicas (2) del Hospital de Especialidades “Dr. Bernardo Sepúlveda”. Centro
Médico Nacional “Siglo XXI”. IMSS

Quien suscribe Dr. Juan Manuel Gallardo Montoya, Médico adscrito al servicio de Investigación, con número de matrícula 10229264, adscrito(a) al Instituto Mexicano del Seguro Social, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Hospital de Especialidades CMN Siglo XXI, hace constar que el presente protocolo, del cual es responsable, TIENE IMPLICACIONES DE BIOSEGURIDAD debido a que se trabajará con:

[X] Material biológico infecto-contagioso: Muestras de sangre.

Asimismo, declara que conoce, ha leído y cumplirá las normas, reglamentos y manuales de bioseguridad que apliquen al proyecto:

- a. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud
- b. NOM-087-ECOL-SSA1-2002

También manifiesta que existe evidencia documental auditable de que:

- a. Se cuenta con los permisos y/o licencias oficiales que se requieran para llevar a cabo el trabajo propuesto.

- b. Las instalaciones de los laboratorios involucrados se encuentran en estado satisfactorio de operación y son adecuadas para llevar a cabo el trabajo propuesto.
- c. El equipo a utilizar se encuentra en estado satisfactorio de operación.
- d. Existen dispositivos personales de protección que se encuentran en estado satisfactorio de operación.
- e. Los involucrados en el proyecto, incluyendo a los estudiantes que participan en el mismo, han recibido la capacitación necesaria para trabajar con el material señalado anteriormente.
- f. Se mantendrán las condiciones adecuadas de instalaciones, equipo y personal durante el desarrollo del proyecto y que el protocolo se suspenderá en caso de haber alguna irregularidad.

Dr. Juan Manuel Gallardo Montoya
UIM Enfermedades Nefrológicas.

ANEXO 3. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

COMPARACIÓN DE LOS MARCADORES DE ANTIOXIDACIÓN, OXIDACIÓN Y PROTEÍNA IP-10, CON EL GRADO DE ACTIVIDAD DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO

Marisela Berenice Balderas Guerrero (1) Juan Manuel Gallardo Montoya (2),
Miguel Ángel Vázquez Zaragoza (1), Patricia Valdez Caballero (2).

Servicio de Reumatología (1), Unidad de Investigación Médica en Enfermedades
Nefrológicas (2) del Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional “Siglo
XXI”. IMSS.

Actividad	1 TM	2 TM	3 TM	4 TM	5 TM	6 TM
Búsqueda y estudio de la bibliografía	XXX	XXX	XXX	XXX	XXX	XXX
Estandarización de técnicas	XXX	XXX	XXX			
Reclutamiento y toma de muestras		XXX	XXX	XXX		
Procesamiento de las muestras en el laboratorio			XXX	XXX	XXX	
Análisis estadístico				XXX	XXX	
Redacción del artículo y tesis					XXX	
Examen de grado						XXX

ANEXO 4. FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
SEGURIDAD Y SOLIDARIDAD SOCIAL

FORMATO DE RECOLECCIÓN DE DATOS

COMPARACIÓN DE LOS MARCADORES DE ANTIOXIDACIÓN, OXIDACIÓN Y
PROTEÍNA IP-10, CON EL GRADO DE ACTIVIDAD DEL LUPUS ERITEMATOSO
SISTÉMICO

Marisela Berenice Balderas Guerrero (1) Juan Manuel Gallardo Montoya (2),
Miguel Ángel Vázquez Zaragoza (1), Patricia Valdez Caballero (2).
Servicio de Reumatología (1), Unidad de Investigación Médica en Enfermedades
Nefrológicas (2) del Hospital de Especialidades. Centro Médico Nacional "Siglo
XXI". IMSS.

Página 1 de 8 ----- Código (Proy - No. - Iniciales - muestra) _____

Ciudad de México Fecha (día/mes/año) _____

Nombres _____

Apellido paterno _____

Apellido materno _____

No. Teléfono _____

Domicilio (Calle y No. Colonia, Ciudad, Código postal) _____

No. Seg. Social _____

Sexo ☐ 0. Mujer ☐ 1. Hombre

Edad (años cumplidos) _____

Fecha de Nacimiento (día/ mes/año) _____

Datos demográficos

Grupo ☐ 1. Control (Ap. sano) ☐ 2. LES activo ☐ 3. LES inactivo Actividad ☐ 0. Sin actividad ☐ 1. Articular ☐ 2. Mucocutánea ☐ 3. Renal ☐ 4. Neurológica ☐ 5. Hematológica Lugar de Nacimiento _____ ☐ 1. Urbana ☐ 2. Rural	Nacionalidad ☐ 1. Mexicana ☐ 2. Otra Lugar de Residencia _____ ☐ 1. Urbana ☐ 2. Rural Derechohabiente ☐ 0. No ☐ 1. Si ☐ 2. No sabe	Ocupación: ☐ 0. Desempleado ☐ 1. Obrero ☐ 2. Empleado ☐ 3. Negocio propio ☐ 4. Hogar ☐ 5. Estudiante ☐ 6. Jub/Pensionado Escolaridad ☐ 0. Ninguna ☐ 1. Primaria ☐ 2. Secundaria ☐ 3. Preparatoria ☐ 4. Técnica ☐ 5. Profesional ☐ 6. Posgraduado
---	--	---

Socioeconómicos

Ingreso mensual familiar ☐ 1. Menor de 5000 MX ☐ 2. 5001 a 10000 ☐ 3. 10001 a 15000 ☐ 4. 15001 a 20000 ☐ 5. + de 20001	Actividad física ☐ 0. Ninguna Sedentario ☐ 1. 1 vez / semana ☐ 2. 2 veces/semana ☐ 3. 3 veces /semana ☐ 4. 4 veces/semana ☐ 5. 5 veces/semana	Fumador ☐ Si ☐ No ☐ exfumador No. cigarros/día _____ Edad de inicio _____ Años fumando _____ Bebedor ☐ Si ☐ No ☐ exbebedor No. bebidas/día _____ Edad de inicio _____ Años bebiendo _____
---	--	---

Antecedentes heredofamiliares

Sus padres han padecido de 1. Enf. cardiacas ☐ 0. No ☐ 1. Si 2. Hipertensión arterial ☐ 0. No ☐ 1. Si 3. Diabetes mellitus ☐ 0. No ☐ 1. Si 4. Enf. pulmonares ☐ 0. No ☐ 1. Si 5. Enf. renales ☐ 0. No ☐ 1. Si 6. Tumores o cáncer ☐ 0. No ☐ 1. Si 7. Enf. mentales ☐ 0. No ☐ 1. Si 8. Enf. nerviosas ☐ 0. No ☐ 1. Si 9. Enf. reumatológicas ☐ 0. No ☐ 1. Si Especifique _____ 10. Enf. autoinmunes ☐ 0. No ☐ 1. Si Especifique : _____	Sus hermanas(os) han padecido de 1. Enf. cardiacas ☐ 0. No ☐ 1. Si 2. Hipertensión arterial ☐ 0. No ☐ 1. Si 3. Diabetes mellitus ☐ 0. No ☐ 1. Si 4. Enf. pulmonares ☐ 0. No ☐ 1. Si 5. Enf. renales ☐ 0. No ☐ 1. Si 6. Tumores o cáncer ☐ 0. No ☐ 1. Si 7. Enf. mentales ☐ 0. No ☐ 1. Si 8. Enf. nerviosas ☐ 0. No ☐ 1. Si 9. Enf. reumatológicas ☐ 0. No ☐ 1. Si Especifique _____ 10. Enf. autoinmunes ☐ 0. No ☐ 1. Si Especifique : _____
---	---

Medicamentos en el último mes (Dosis y frecuencia)

Diagnóstico de ingreso al estudio: _____

Diagnóstico de egreso al estudio: _____

Antecedentes patológicos personales

1. Enf. renal [] 0. No [] 1. Si	11. Alt. Auditivas [] 0. No [] 1. Si
2. Insufic. Cardíaca [] 0. No [] 1. Si	12. Cirugías [] 0. No [] 1. Si
3. A Vascular Cerebral [] 0. No [] 1. Si	13. Enf hepática [] 0. No [] 1. Si
4. Cardio Isquémico [] 0. No [] 1. Si	14. Otra enf. autoinm [] 0. No [] 1. Si
5. Enf. Pulmonar [] 0. No [] 1. Si	
6. Fibrosis pulmonar [] 0. No [] 1. Si	Transfusiones [] 0. No [] 1. Si
7. Tumor o Cáncer [] 0. No [] 1. Si	[] 2. No sabe
8. Depresión [] 0. No [] 1. Si	
9. Alt Osteomusculares [] 0. No [] 1. Si	Fecha de la última (día/mes/año)
10. Alt. Visuales [] 0. No [] 1. Si	_____

En caso de mujeres:

FUM (día/mes/año) _____	Método de planificación familiar
Embarazos [] 0. No [] 1. Si. Núm. ____	[] 0. Ninguno
Abortos [] 0. No [] 1. Si	[] 1. DIU
[] 2. Espontáneo [] 3. Inducido	[] 2. Implante
Núm. _____	[] 3. Anticonceptivos orales
Sem gestación: _____	[] 4. Condón femenino
	[] 5. Condón masculino

Antecedentes patológicos personales

Diabetes mellitus	HTA	Enfermedad Renal
[] 0. No [] 1. Si	[] 0. No [] 1. Si	[] 0. No [] 1. Si
[] 2. No sabe	[] 2. No sabe	[] 2. No sabe
Tx de DM	Tx de HTA	Tiempo de evolución
[] 0. Ninguno	[] 0. Ninguno	desde el Dx por un
[] 1. Si, tx oral	[] 1. Hipotensores orales	médico (años) _____
[] 2. Si, tx insulina	Tiempo de evolución	Estadificación KDIGO
Tiempo de evolución	desde el Dx por un	[] 1. I
desde el Dx por un	médico (años) _____	[] 2. II
médico (años) _____	Hipertrigliceridemia	[] 3. III
	[] 0. No [] 1. Si	[] 4. IV
	[] 2. No sabe	[] 5. V
	Tx	Tx
	[] 0. ninguno	[] 0. Conservador
	[] 1. con tratamiento	[] 1. DP
		[] 2. HD
		[] 3. Trasplante

Exploración física

Estatura (cm) _____	SLEDAI	Alteración visual
Peso (kg) _____	Alopecia	[] 0. No [] 1. Si
IMC (kg/m2) _____	[] 0. No [] 1. Si	Neuropatía
Temp axilar (°C) _____	Úlceras en mucosa	[] 0. No [] 1. Si
F card (lat/min) _____	[] 0. No [] 1. Si	Cefalea lúpica
F resp (Resp/min) _____	Derrame pleural	[] 0. No [] 1. Si
P A S (mmHg) _____	[] 0. No [] 1. Si	EVC
P A D (mmHg) _____	Derrame pericárdico	[] 0. No [] 1. Si
	[] 0. No [] 1. Si	Vasculitis
	Convulsiones	[] 0. No [] 1. Si
	[] 0. No [] 1. Si	Artritis
	Psicosis	[] 0. No [] 1. Si
	[] 0. No [] 1. Si	Miositis
	Síndrome cerebral	[] 0. No [] 1. Si
	orgánico	Nuevo Rash
	[] 0. No [] 1. Si	[] 0. No [] 1. Si

Datos de laboratorio

Hemoglobina g/dL _____	Potasio mEq/L _____
Glucosa sérica mg/dL _____	Hematocrito % _____
Urea mg/dL _____	Plaquetas $10^3/\mu\text{L}$ _____
Creatinina mg/dL _____	Leucocitos $10^3/\mu\text{L}$ _____
Colesterol mg/dL _____	Neutrófilos $10^3/\mu\text{L}$ _____
Triglicéridos mg/dL _____	Linfocitos $10^3/\mu\text{L}$ _____
Proteínas totales mg/dL _____	Basófilos $10^3/\mu\text{L}$ _____
Albúmina mg/dL _____	Monocito 10 _____
Bilirrubina total mg/dL _____	AGEs UAF _____
Bilirrubina directa mg/dL _____	MDA μM _____
Bilirrubina indirecta mg/dL _____	NOx μM _____
T oxalacética (AST, TGO) u/L _____	AOPP μM _____
T pirúvica (ALT, TGP) u/L _____	H ₂ O ₂ μM _____
Deshidrogenasa láctica u/L _____	Carbonilos μM _____
Fosfatasa Alca u/L _____	DC $\mu\text{M/L}$ _____
CPK u/L _____	GSH mM _____
PCR mg/dL _____	Vit C mg/dL _____
VSG mm/h _____	Ac. Úrico mg/dL _____
Sodio mEq/L _____	SOD UL _____

Datos de laboratorio

Examen general de orina	Otros estudios
Depuración de creatinina en orina 24 h mL/min _____	IP-10 pg/mL _____
Proteínas urin mg/dL _____	C3 mg/dL _____
Albúmina urin mg/dL _____	C4 mg/dL _____
Prot Urin 24 h mg/dL _____	Anti-DNA ds UI/mL _____
Creatinina urin mg/dL _____	Biopsia renal [] 0. No [] 1. Si
Volumen urin Vol/min. _____	Tiempo de evolución desde el Dx a la toma de biopsia (meses o años) _____
Dep Creat mg/dL _____	Año de la toma de biopsia: _____
Glucosa urin mg/dL _____	Nefropatía lúpica clase
Ac. Úrico urin mg/dL _____	[] 1. I
Esterasa leucocitaria mg/dL _____	[] 2. II
Osmolaridad urin mOsm/Kg _____	[] 3. III
Cilindros sedi x campo _____	[] 4. IV
Eritrocitos sedim x campo _____	[] 5. V
Leucocitos sedim x campo _____	[] 6. VI

Nombre, y firma de quien llena este formulario	
--	--

ANEXO 5 . ÍNDICE DE ACTIVIDAD DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO (SLEDAI)

ÍNDICE DE ACTIVIDAD DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO (SLEDAI)

Puntuación	SLEDAI	Descriptor	Definición
8		Convulsiones	De comienzo reciente. Excluir causas infecciosas, metabólicas y fármacos.
8		Psicosis	Habilidad alterada para la función diaria debido a alteración grave en la percepción de la realidad. Incluye alucinaciones, incoherencia, asociaciones ilógicas, contenido mental escaso, pensamiento ilógico, raro, desorganizado y comportamiento catatónico. Excluir I. renal y fármacos.
8		Sdme orgánico-cerebral	Función mental alterada con falta de orientación, memoria, u otras funciones intelectuales, de comienzo rápido y manifestaciones clínicas fluctuantes. Incluye disminución del nivel de conciencia con capacidad reducida para focalizar, e inhabilidad para mantener la atención en el medio, más, al menos dos de los siguientes: alteración de la percepción, lenguaje incoherente, insomnio o mareo matutino, o actividad psicomotora aumentada o disminuida. Excluir causas infecciosas, metabólicas y fármacos..
8		Alteraciones visuales	Retinopatía lúpica. Incluye cuerpos citoides, hemorragias retinianas, exudados serosos y hemorragias en la coroides, o neuritis óptica. Excluir HTA, infección o fármacos.
8		Alt. Pares craneales	De reciente comienzo, motor o sensitivo.
8		Cefalea lúpica	Grave, persistente; puede ser migrañosa pero no responde a analgésicos narcóticos.
8		AVC	De reciente comienzo. Excluir arteriosclerosis.
8		Vasculitis	Ulceración, gangrena, nódulos dolorosos sensibles, infartos periungueales, hemorragias en astilla o biopsia o angiografía que confirme la vasculitis.
4		Miositis	Debilidad proximal/dolor asociado a elevación de las CPK/aldolasa o EMG sugestivo o miositis comprobada por biopsia.
4		Artritis	Más de dos articulaciones dolorosas y con signos inflamatorios.
4		Cilindros urinarios	Cilindros hemáticos o granulados.
4		Hematuria	>5 hematies/c. Excluir litiasis, infección u otras causas.
4		Proteinuria	> 5 g/24 h. De reciente comienzo o aumento de la proteinuria ya conocida en más de 0.5 g/24 h.
4		Piuria	> 5 leucocitos/c. Excluir infección.
2		Exantema nuevo	Comienzo reciente o recurrente. Exantema inflamatorio.
2		Alopecia	De comienzo reciente o recurrente. Pérdida difusa o en placas.
2		Úlceras bucales	De comienzo reciente o recurrente. Úlceras bucales o nasales.
2		Pleuritis	Dolor pleurítico con roce o derrame, o engrosamiento pleural.
2		Pericarditis	Dolor pericárdico con al menos uno de los siguientes: roce, derrame, cambios electrocardiográficos o confirmación ecocardiográfica.
2		Complemento	Descenso de CH50, C3, C4 por debajo del límite inferior del laboratorio.
2		Anti DNA	> 25%. Técnica de Farr o por encima del valor habitual del laboratorio.
1		Fiebre	> 38°C. Excluir infección.
1		Trombopenia	< 100.000 plaquetas/mm3.
1		Leucopenia	< 3.000 células/mm3. Excluir fármacos.

Puntaje total _____