



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA**  
**DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHÁVEZ**

**“ASOCIACIÓN DE NIVELES PLASMÁTICOS DE MIRNAS 21 Y 155  
CON ACTIVIDAD RENAL Y EXTRARRENAL EN PACIENTES CON  
LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO”**

**TESIS**

QUE PARA OBTENER EL:  
TÍTULO DE ESPECIALISTA

EN:  
**NEFROLOGÍA**

PRESENTA:  
**DR. JOSÉ DANIEL JUÁREZ VILLA**

TUTORES:  
**DR. FRANCISO EUGENIO RODRIGUEZ CASTELLANOS**

**DR. FAUSTO SANCHEZ MUÑOZ**



CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO, AGOSTO 2023



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



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

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

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

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

---

Dr. Carlos Rafael Sierra Fernández  
Director de Enseñanza  
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez



Dirección de Enseñanza

---

Dra. Magdalena Madero Rovalo  
Profesor Titular de Nefrología  
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez

---

Dr. Francisco Eugenio Rodríguez Castellanos  
Tutor de Tesis  
Médico Adscrito al Servicio de Nefrología  
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez

---

José Daniel Juárez Villa  
Residente de Nefrología  
Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez

# ÍNDICE DE CONTENIDOS

<b><u>Resumen .....</u></b>	<b><u>4</u></b>
<b><u>Abreviaturas .....</u></b>	<b><u>6</u></b>
<b><u>Introducción.....</u></b>	<b><u>7</u></b>
<b><u>Pregunta de Investigación.....</u></b>	<b><u>10</u></b>
<b><u>Planteamiento del problema .....</u></b>	<b><u>10</u></b>
<b><u>Justificación .....</u></b>	<b><u>10</u></b>
<b><u>Objetivos .....</u></b>	<b><u>11</u></b>
<b><u>Metodología .....</u></b>	<b><u>12</u></b>
<b><u>Hipotesis .....</u></b>	<b><u>12</u></b>
<b><u>Diseño .....</u></b>	<b><u>12</u></b>
<b><u>Material y metodo .....</u></b>	<b><u>12</u></b>
<b><u>Tamaño de muestra y muestreo .....</u></b>	<b><u>12</u></b>
<b><u>Criterios de inclusión .....</u></b>	<b><u>13</u></b>
<b><u>Criterios de exclusión .....</u></b>	<b><u>13</u></b>
<b><u>Criterios de eliminación .....</u></b>	<b><u>13</u></b>
<b><u>Definición operacional de las variables.....</u></b>	<b><u>13</u></b>
<b><u>Procedimiento General.....</u></b>	<b><u>18</u></b>
<b><u>Análisis estadístico .....</u></b>	<b><u>21</u></b>
<b><u>Resultados.....</u></b>	<b><u>22</u></b>
<b><u>Discusión .....</u></b>	<b><u>25</u></b>
<b><u>Conclusión.....</u></b>	<b><u>26</u></b>
<b><u>Consideraciones éticas .....</u></b>	<b><u>26</u></b>
<b><u>Referencias bibliográficas.....</u></b>	<b><u>27</u></b>
<b><u>Anexos .....</u></b>	<b><u>30</u></b>
<b><u>Consentimiento informado .....</u></b>	<b><u>30</u></b>
<b><u>Cronograma de actividades.....</u></b>	<b><u>32</u></b>

## RESUMEN

Título: Asociación de niveles plasmáticos de miRNA 21 y 155 con actividad renal y extrarrenal en pacientes con lupus eritematoso sistémico

**Francisco Eugenio Rodríguez Castellanos \***, **Fausto Sánchez-Muñoz \*\***, **José Daniel Juárez Villa \*\*\***

\* Médico nefrólogo del Instituto nacional de cardiología Ignacio Chávez. \*\* Investigador en ciencias médicas del departamento de inmunología del Instituto nacional de cardiología Ignacio Chávez. \*\*\*Residente de tercer año del curso de nefrología del Instituto nacional de cardiología Ignacio Chávez.

**Antecedentes:** La nefritis lúpica ocurre aproximadamente en el 50% de los pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES). El estándar de oro para el diagnóstico, es la biopsia renal, sin embargo, es un procedimiento invasivo que puede generar complicaciones hasta en 1% de las biopsias realizadas. Se han explorado los miRNAs como biomarcador en pacientes con LES con y sin nefritis lúpica, sin embargo, poco se ha informado de la asociación entre niveles plasmáticos de miRNAs y el tipo de respuesta clínica al tratamiento de inducción inicial a lo largo de la evolución, así como otras variables clínicas.

**Material y métodos:** Un total de 30 pacientes con LES con actividad y sin actividad renal con antecedentes de nefritis lúpica y 15 pacientes sanos, fueron sometidos al estudio, realizándose cuantificación de miRNA en suero por PCR. Se estudió un total de 3 miRNA, así como su correlación con actividad renal y extrarrenal.

**Resultados:** Se evaluó los niveles de miRNA del 16, 21 y 155 entre casos y controles. Encontrándose una diferencia entre ambos grupos solo en el miRNA 155 con  $0.69 \pm 0.28$  para los controles y  $1.08 \pm 0.85$  para los casos (P valor 0.041). Se muestra el resto de los resultados en la **tabla 1 y figura 1**. Sin embargo, no se encontró diferencias al clasificarlos por controles, nefritis lúpica con actividad clínica y nefritis lúpica sin actividad clínica.

**Conclusión:** En nuestro estudio el miRNA 155 tuvo correlaciones y diferencias entre grupos, por lo cual puede ser posible su medición en diferentes escenarios.

**Palabras clave:** miRNA; nefritis lúpica; inflamación microvascular.

<b>Datos de Alumno:</b>	
Apellido paterno:	Juárez
Apellido Materno:	Villa
Nombre:	José Daniel
Teléfono:	83110 44 047
Correo:	<a href="mailto:daniel_00_5@hotmail.com">daniel_00_5@hotmail.com</a>
Área de trabajo:	Servicio de Nefrología, Instituto nacional de cardiología Ignacio Chávez
Universidad:	Universidad Nacional Autónoma de México
Facultad:	Medicina
Número de cuenta:	517228346
<b>Datos de Tutores</b>	
Apellido paterno:	Rodriguez
Apellido materno:	Castellanos
Nombre(s):	Francisco Eugenio
Teléfono:	55 54 36 2300
Correo:	<a href="mailto:eugencast@gmail.com">eugencast@gmail.com</a>
Adscripción:	Instituto nacional de cardiología Ignacio Chávez
Área de trabajo:	Servicio de Nefrología
Apellido paterno:	Sánchez
Apellido materno:	Muñoz
Nombre(s):	Fausto
Teléfono:	5523328417
Correo:	<a href="mailto:fausto22@yahoo.com">fausto22@yahoo.com</a>
Adscripción:	Instituto nacional de cardiología Ignacio Chávez
Área de trabajo:	Servicio de Inmunología

## **ABREVIATURAS**

<b>LES</b>	Lupus eritematoso sistémico
<b>NL</b>	Nefritis Lupica
<b>ERC</b>	Enfermedad renal crónica
<b>HD</b>	Hemodiálisis
<b>DP</b>	Dialisis peritoneal
<b>TRR</b>	Terapia de reemplazo renal
<b>ARN</b>	Acido Ribonucleico

## INTRODUCCIÓN

La nefritis lúpica ocurre aproximadamente en el 50% de los pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES). Los pacientes de raza negra e hispánica suelen tener una evolución más agresiva en comparación con personas de raza blanca. En pacientes con LES la mortalidad es 5 a 25% más alta en aquellos con nefritis lúpica cuando se les compara con pacientes sin nefritis lúpica.

El estándar de oro para el diagnóstico, toma de decisiones terapéuticas y pronóstico es la biopsia renal, sin embargo, se requiere una captura en tiempo real del estado de la enfermedad para determinar la mejor decisión terapéutica, lo cual requiere biopsias renales seriadas, un procedimiento invasivo que puede generar complicaciones hasta en 1% de las biopsias realizadas. Por lo tanto, se han buscado biomarcadores no invasivos que puedan reflejar en tiempo real el estado de la nefritis lúpica.

Existen biomarcadores clásicos (proteinuria, anticuerpos anti DNA doble cadena, niveles séricos de complemento y creatinina sérica) que pueden estar disociados con los datos histopatológicos en la biopsia renal, es decir tener actividad histológica de la enfermedad con marcadores bioquímicos sin actividad o viceversa, a lo cual se le ha llamado disociación clínico-patológica.

Dentro de la búsqueda de biomarcadores se ha explorado el mecanismo de la epigenética como regulador de la expresión genética, como es el caso del ARN no codificante como regulador de la expresión del ARN mensajero (ARNm) en el nivel transcripcional.

Los microRNA (miRNAs) afectan notablemente el sistema inmunitario y tienen papeles cruciales en la patogenia del LES. Se ha reportado que la expresión aberrante de miRNAs en células mononucleares de sangre periférica está involucrada en la patogénesis del LES y en la progresión de la nefropatía lúpica. Los microRNA (miRNA) son una clase de pequeños ARN no codificantes capaces de regular la expresión génica a nivel postranscripcional e implicados en la respuesta inmune.



Los microRNA tiene funciones pluripotenciales, su supresión en las células T y B podría mejorar el daño a múltiples órganos asociado con LES. Además, se ha encontrado que la sobreexpresión de miR-21, puede estar relacionado con la expresión de proteínas proinflamatorias 4 (PDCD4)/IL-10 y actuar como regulador de moléculas co-estimuladoras. Una regulación alterada de miR-155 se ha observado en linfocitos T y B, células dendríticas y macrófagos en pacientes con LES. La sobreexpresión de miR-155 se ha asociado con producción de anticuerpos y diferenciación aberrante de células T.

De acuerdo con publicaciones de Nakhjavani y Khoshmirsafa, algunos miRNAs, como el 21 y 155, han sido encontrados en mayor concentración en sujetos con nefritis lúpica en comparación con sujetos sanos o con LES sin nefritis lúpica y en aquellos con actividad de la enfermedad. Otros miRNA, como el 22, se han encontrado con menor expresión en pacientes con nefritis lúpica en comparación con sujetos sanos.

Por otra parte, los diferentes tratamientos inmunosupresores pueden bloquear vías de señalización y/o transcripción en las que los miRNAs se encuentren participando, sin embargo, al momento actual, no se ha demostrado claramente que los inmunosupresores modifiquen la concentración de miRNAs en humanos, si bien se ha observado en modelos murinos que los miRNA-149-3p, miR-125b-5p, miR-199a-5p, miR-106b-3p and miR-124-3p se pueden regular a la baja con el uso de rituximab, calcitriol, hidroxicloroquina y prednisona.

Se ha descrito asociación de la concentración de miRNAs con diferentes marcadores de actividad en sujetos sanos o en pacientes con LES con y sin nefritis lúpica (Navarro-Quiroz y Xiao H), sin embargo, poco se ha informado de la asociación entre niveles plasmáticos de miRNAs y el tipo de respuesta clínica al tratamiento de inducción inicial a lo largo de la evolución.

## **MICRO RNAS Y ANTICUERPOS ABZYMAS**

En pacientes con LES y otro tipo de enfermedades autoinmunes, se ha descrito la presencia de anticuerpos Abzymas, así como su asociación con hidrólisis de miRNAs, sin embargo, no se ha informado asociación entre la presencia de dichos anticuerpos y el grado de actividad de la enfermedad.

Asimismo, en pacientes con LES, los anticuerpos Abzymas pueden alterar la diferenciación de células hematopoyéticas y favorecer la proliferación linfocitaria. Cabe comentar que trabajos que han investigado la asociación entre miRNAs y nefritis lúpica no han considerado el papel de la hidrólisis por anticuerpos abzymas (Wengen, Navarro, Xiao H), sin embargo, en dichos estudios, los niveles plasmáticos de miRNAs se han encontrado diferentes entre pacientes con LES con y sin actividad de la enfermedad, así como al compararse con controles sanos.

## **MICROANGIOPATÍA TROMBÓTICA Y ASOCIACIÓN CON NEFRITIS LÚPICA**

La microangiopatía trombótica, es una entidad caracterizada por trombocitopenia, anemia hemolítica microangiopática y lesión en varios órganos, incluyendo riñón. Puede considerarse primaria asociada a defectos genéticos en la regulación de la vía del complemento o secundaria cuando se relaciona con otra enfermedad como LES.

Se ha documentado que en pacientes que desarrollan microangiopatía trombótica sistémica pos trasplante renal, algunos miRNAs (miR-146a , miR-150 , miR-155 y miR-223 ) se encuentran significativamente elevados en comparación con valores pre trasplante (Rigler A.). Asimismo, se ha descrito que pacientes con microangiopatía trombótica asociada a SAAF, expresan niveles mayores de miR-155 en comparación con controles sanos, siendo incluso mayores dichos niveles en casos con antecedente de pérdidas fetales o eventos trombóticos (Pérez-Sánchez). Lo anterior deberá considerarse al analizar casos con nefritis lúpica y SAAF.

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

En pacientes con lupus eritematoso sistémico, ¿Existe asociación entre los niveles plasmáticos de miRNAs 21 y 155 con actividad renal y extrarrenal?

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.**

La biopsia renal es el procedimiento de elección para evaluar la magnitud y tipo de daño en pacientes con lupus eritematoso sistémico y actividad renal, sin embargo, es un procedimiento invasivo y no exento de complicaciones. Es por ello que se ha buscado contar con nuevos biomarcadores que puedan de manera rápida, precisa, económica y no invasiva ayudar a monitorear la evolución de la enfermedad, así como identificar a pacientes con riesgo de recaída o con pobre respuesta inicial al tratamiento, considerando, además, la disociación entre marcadores clásicos de actividad de la enfermedad y los hallazgos en la biopsia renal.

## **JUSTIFICACIÓN.**

La enfermedad renal crónica es una de las enfermedades con mayor impacto en la morbimortalidad de la población a nivel mundial, con un número creciente de personas afectadas como resultado de una mayor incidencia de enfermedades crónico degenerativas, tales como diabetes mellitus, hipertensión arterial y enfermedades auto inmunes.

En los pacientes con LES el 50% desarrollará nefritis lúpica, de ellos sólo el 60% presentará respuesta completa al tratamiento y aproximadamente 20% desarrollará enfermedad renal crónica terminal a los 15 años de evolución de la enfermedad.

El diagnóstico de nefritis lúpica se lleva a cabo mediante biopsia renal, además de algunos estudios de laboratorio, sin embargo, el seguimiento y la evaluación de la respuesta al tratamiento hasta el momento continúa siendo con biopsia renal y marcadores bioquímicos clásicos, los cuales han mostrado pobre asociación. Es por ello que existe la necesidad de contar con marcadores que puedan de manera rápida, precisa, económica y no invasiva identificar a pacientes que podrían tener una recaída o pobre respuesta al tratamiento.

Los miRNAs son un elemento clave como reguladores de la homeostasis y su disregulación ha sido demostrada en varias patologías, incluyendo la enfermedad renal. Debido a su estabilidad en el plasma y la orina, se han convertido en biomarcadores atractivos. Existen algunos miRNAs que se han asociado con daño microvascular, como es el caso en pacientes con nefritis lúpica. El presente trabajo tiene como finalidad evaluar si la concentración plasmática de dos miRNAs, se asocia con actividad renal y actividad extrarrenal en pacientes con lupus eritematoso sistémico.

## **OBJETIVOS.**

### **PRINCIPAL:**

Cuantificar y evaluar la asociación de los micro RNAs 21 y 155 en plasma con la actividad renal y extrarrenal en pacientes con lupus eritematoso sistémico.

### **SECUNDARIO:**

1.-Evaluar si existe asociación con la actividad renal por lupus eritematoso sistémico, evaluada mediante marcadores como proteinuria, hematuria, títulos de anticuerpos anti-DNA doble cadena y niveles séricos de complemento, con la concentración plasmática de los miRNAs 21 y 155.

2.-Evaluar si existe asociación con la actividad extrarrenal categorizada según el sistema alterado, con la concentración plasmática de los miRNAs 21 y 155.

3.- Comparar las concentraciones plasmáticas de los miRNAs 21 y 155 entre clases histológicas de nefritis lúpica según la clasificación ISR/RPS.

4.- Evaluar si existe asociación entre el nivel de función renal medida con depuración de creatinina con la concentración plasmática de los miRNAs 21 y 155.

5.- Evaluar la posible diferencia en la concentración plasmática de miRNAs 21 y 155, según marcadores histológicos de actividad de nefritis lúpica según la ISR/RPS (proliferación endo y extra capilar y necrosis fibrinoide).

6.- Comparar las concentraciones plasmáticas de los micro RNAs 21 y 155 en pacientes con nefritis lúpica proliferativa documentada con biopsia, según diferentes perfiles de respuesta clínica temprana al tratamiento de inducción inicial.

## **METODOLOGÍA.**

### **HIPÓTESIS.**

Nula: La concentración plasmática de los miRNAs 21 y 155, no se asocia con la actividad renal y extrarrenal en pacientes con lupus eritematoso sistémico.

Alternativa: La concentración plasmática de los miRNAs 21 y 155, se asocia con la actividad renal y extrarrenal en pacientes con lupus eritematoso sistémico.

### **DISEÑO.**

10.1. Manipulación por el investigador

a) Observacional

10.2. Grupo de comparación

a) Comparativo

10.3. Seguimiento

a) Transversal

### **MATERIALES Y MÉTODO.**

11.1. Universo de estudio. Pacientes con diagnóstico de lupus eritematoso sistémico con antecedente de nefritis lúpica proliferativa (clases III o IV  $\pm$  clase V según la clasificación ISN/RPS) documentada por biopsia que hayan recibido algún tratamiento de inducción a la remisión inmediatamente después de confirmado el diagnóstico de nefritis lúpica, con seguimiento posterior por parte del departamento de Nefrología del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez.

11.2. Tamaño de la muestra.

El cálculo del tamaño de la muestra se realizó por diferencia de medias con el programa open epi en <http://www.openepi.com/SampleSize/SSMean.htm> alfa 0.05, beta 0.20, S 0.5 con medias 1 y 0.575, obteniendo un resultado con 22 pacientes aproximadamente por cada grupo.

#### **Muestreo.**

a) No probabilístico  
Consecutivo

## **Criterios de Selección:**

### **Criterios de Inclusión.**

- Pacientes de ambos sexos con edad mayor o igual a 17 años al momento del diagnóstico inicial de nefritis lúpica.

-Pacientes con diagnóstico de LES con involucro renal con primera biopsia clasificada como clase III o IV  $\pm$  clase V según ISN/RPS, con o sin presencia de lesiones vasculares y/o túbulointersticiales, que hayan recibido algún tratamiento de inducción a la remisión reconocido por guías internacionales, inmediatamente después de confirmado el diagnóstico de nefritis lúpica, con un seguimiento posterior a dicho tratamiento por parte del departamento de Nefrología del Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez, con cualquier nivel de función renal al momento del diagnóstico de nefritis lúpica y que cuenten en su seguimiento y hasta el momento del muestreo para cuantificación plasmática de miRNAs, con determinaciones seriadas de función renal, cuantificación urinaria de proteínas, examen general de orina y marcadores serológicos asociados a actividad inmunológica.

### **Criterios de exclusión.**

- Neoplasia activa con o sin tratamiento oncológico al momento del muestreo para fines de cuantificación de miRNAs.

- Infección activa al momento del muestreo para fines de cuantificación de miRNAs.

### **Criterios de eliminación.**

- Glomerulopatía no lúpica agregada a la nefritis lúpica documentada por biopsia.

-Nefritis lúpica clases I, II, V o VI según ISN/RPS.

-Podocitopatía lúpica pura documentada por biopsia.

-Pacientes que cuenten con expediente o información incompleta.

### **Definición de variables**

Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Tipo de variable	Escala de medición
<b>Peso</b>	Fuerza con que la Tierra atrae a un cuerpo, por acción de la gravedad. Se ajusta con la talla de la persona y se relaciona	Con la persona usando la menor cantidad de ropa posible y en ayuno, se mide usando un estadímetro calibrado.	Cuantitativa continua	Kilogramos (Kg)

	con incremento del riesgo cardiovascular.			
<b>Talla</b>	La distancia entre el plano de sustentación y el vértex craneal. Se usa para ajustar el peso del individuo	Con la persona estando sin calzado, se mide usando un estadímetro calibrado.	Cuantitativa continua	Metros (m)
<b>Edad</b>	Tiempo transcurrido a partir del nacimiento de un individuo	Se comprobará la edad del paciente mediante la presentación de una credencial oficial	Cuantitativa discreta	Años
<b>Sexo</b>	El sexo es un proceso de combinación y mezcla de rasgos genéticos a menudo dando por resultado la especialización de organismos en variedades femenina y masculina (conocidas como sexos)	Se clasificará de acuerdo a las características fenotípicas del sujeto	Cualitativa dicotómica	Masculino/ Femenino
<b>Creatinina sérica</b>	Concentración total de creatinina en una muestra de sangre.	Normal: < 1 mg/dl	Cuantitativa continua	mg/dl
<b>Proteínas totales en orina en 24 horas</b>	Concentración total de proteínas en una muestra de orina recolectada en 24 horas.	Normal: <140 mg/día	Cuantitativa continua	Mg en 24 horas
<b>Albumina en orina en 24 horas</b>	Concentración total de albumina en una muestra de orina recolectada en 24 horas.	Normal: <30 mg/día	Cuantitativa continua	Mg en 24 horas
<b>Anticuerpos anti Doble Cadena DNA</b>	Concentración total de anticuerpos DNA doble cadena en una muestra de sangre.	Normal: 9.8 - 27 UI/ml	Cuantitativa continua	UI/ml
<b>Complemento C3</b>	Concentración total de la fracción C3 del complemento en una muestra de sangre.	Normal: 90 - 180 mg/dl	Cuantitativa continua	mg/dl
<b>Complemento C4</b>	Concentración total de la fracción C4 del complemento en una muestra de sangre.	Normal: 10 - 40 mg/dl	Cuantitativa continua	mg/dl
<b>Inducción a la remisión</b>	Tratamiento médico con fármacos	Se determinada basado en las guías	Cualitativa politómica	1=Esteroides 2=Esteroides/

	inmunosupresores que se administra al diagnóstico de nefritis lúpica para remitir la actividad de la enfermedad	internacionales KDIGO 2021		micofenolato 3=Esteroides/ ciclofosfamida 4=Esteroides/ Tacrolimus 5=Esteroides/ Tacrolimus/ Micofenolato 6=Esteroides/ belimumab
<b>Respuesta clínica completa</b>	Tipo de respuesta clínica nefritis lúpica, 2 meses posterior al tratamiento de inducción valorada por marcadores clínicos.	Disminución de proteinuria <0.5 g/día o una mejoría de la función renal de 10 a 15%	Cualitativa dicotómica	Presente/ ausente
<b>Respuesta clínica incompleta</b>	Tipo de respuesta clínica nefritis lúpica, 2 meses posterior al tratamiento de inducción valorada por marcadores clínicos.	Disminución del 50% de proteinuria o <3 g/día y una mejoría de la función renal del 10 a 15%	Cualitativa dicotómica	Presente/ ausente
<b>Sin respuesta clínica</b>	Tipo de respuesta clínica de nefritis lúpica, 2 meses posterior al tratamiento de inducción valorada por marcadores clínicos.	Sin disminución del 50% de proteinuria o >3 g/día y sin mejoría de la función renal del 10 a 15%	Cualitativa dicotómica	Presente/ ausente
<b>Recaída</b>	Reaparición de la actividad de la enfermedad de nefritis lúpica, valorado por marcadores clínicos.	Presencia de sedimento activo, pérdida de función renal >20% en TFG o aumento de proteinuria >500 mg/día, si la proteinuria estuvo previamente <500 mg/día o >1000 mg/día si la proteinuria estuvo entre 500 a 1000 mg/día	Cualitativa dicotómica	Presente/ ausente
<b>Micro RNA</b>	Concentración total del micro RNA 21 y 155 del complemento en una muestra de sangre.	Se medirá por reacción en cadena de la polimerasa	Cuantitativa continua	
<b>Tipo de clase lúpica</b>	Clasificación de la nefritis lúpica basado en los hallazgos en la biopsia renal según la	Clase I mesangial mínima, Clase II mesangial proliferativa, clase III proliferativa	Cualitativa politómica	Clases III, IV o III+ V o IV + V



	clasificación ISN/RPS	focal con afección de <50% de glomérulos, clase IV proliferativa difusa con afección de 50% de los glomérulos, clase V membranosa		
<b>Índice de cronicidad</b>	Escala para determinar el nivel de cronicidad de nefritis lúpica proliferativa en biopsia renal	Necrosis fibrinoide 6 puntos Media luna celular 6 puntos Proliferación celular 3 puntos Trombo hialino 3 puntos Infiltración leucocitaria 3 puntos Infiltrado mononuclear tubular 3 puntos	Cuantitativa Discreta	0 a 12 puntos
<b>Índice de actividad</b>	Escala para determinar el nivel de actividad de nefritis lúpica proliferativa en biopsia renal	Esclerosis 3 puntos Media luna fibrosa 3 puntos Fibrosis intersticial 3 puntos Atrofia tubular 3 puntos	Cuantitativa discreta	0 a 24 puntos
<b>Fibrosis intersticial</b>	Nivel de inflamación en la zona tubular a nivel renal secundario a un proceso inflamatorio	Ausente Grado 1 $\leq 20\%$ Grado 2 20 a 50% Grado 3 $\geq 50\%$	Cualitativa politómica	Ausente/ grado I/ grado II/ grado III
<b>Proliferación endocapilar</b>	Depositos de complejos inmunes a nivel del mesangio y/o luces capilares	Evaluada mediante la biopsia renal inicial	Cualitativa dicotómica	Presente/ ausente
<b>Necrosis fibrinoide</b>	Patrón morfológico de necrosis caracterizado por la presencia de un material eosinófilo amorfo que recuerda a la fibrina en el área de la muerte celular	Evaluada mediante la biopsia renal inicial	Cualitativa dicotómica	Presente/ ausente
<b>Síndrome anticuerpos antifosfolípidos</b>	Trastorno autoinmunitario que se manifiesta de diversas formas clínicas por la formación de anticuerpos contra proteínas de unión a fosfolípidos	Presencia de la enfermedad diagnosticada por los criterios de Sidney 2006	Cualitativa dicotómica	Presente/ ausente
<b>Microangio</b>	Trastorno	Presencia de	Cualitativa	Presente/

<b>patía trombótica</b>	caracterizado por la formación de micro trombos a nivel microvascular a nivel renal	microangiopatía trombótica a nivel renal comprobado por una biopsia renal	dicotómica	ausente
<b>Leucocitos</b>	Número de leucocitos totales circulantes en sangre periférica	Leucopenia: <4000 leucocitos totales. Leucocitos Normales: 4000 a 9 999 Leucocitos totales. Leucocitosis: >10 000 Leucocitos totales.	Cuantitativa continua	Leucopenia/ Leucocitos Normales / Leucocitosis
<b>Actividad extrarrenal</b>	Tipo de actividad que involucra otros órganos como a nivel neurológico, hematológico, articular	Actividad determinada en la última evaluación por reumatología, previo a la toma de micro RNA	Cualitativa politómica	0. Ausente 1. Articular 2. Hematológica 3. Neurológica 4. Dermatológica 5. Hematológica y articular
<b>SLEDAI 2k</b>	Cuestionario realizado para determinar actividad sistémica de lupus eritematoso sistémico, comprende 24 preguntas, esta estandarizado a nivel internacional	Puntaje obtenido en la última evaluación por reumatología	Cuantitativa discreta	Puntaje 0 a 105 puntos
<b>Hematuria</b>	Presencia de sangre en la orina	Eritrocitos en la orina >5 x campo de alto poder	Cualitativa dicotómica	Presente/ ausente
<b>Sedimento de orina activo</b>	Presencia de hematuria dismórfica la cual se define por $\geq 25\%$ eritros con dismorfia por campo de alto poder o $\geq 5\%$ acantocito por campo del alto poder con o sin leucocituria, la cual se define por $\geq 5$ de leucos por campo de alto poder o $\geq 1$ cilindro eritrocitario por campo de alto poder	Presencia de sedimento de orina activo	Cualitativa dicotómica	Presente/ ausente

<b>Actividad renal</b>	Actividad renal por lupus eritematoso sistémico demostrado por marcadores bioquímicos	Índice proteinuria/creatinuria $\geq 0.5$ g/g o aumento del 25% a su proteinuria previa o aumento de creatinina $\geq 0.3$ mg/dl o aumento del 25% a su creatinina previa o sedimento activo $\pm$ disminución de complemento C3 o C4 $\pm$ anticuerpos anti DNA doble cadena	Cualitativa dicotómica	Presente/ausente
------------------------	---	---	------------------------	------------------

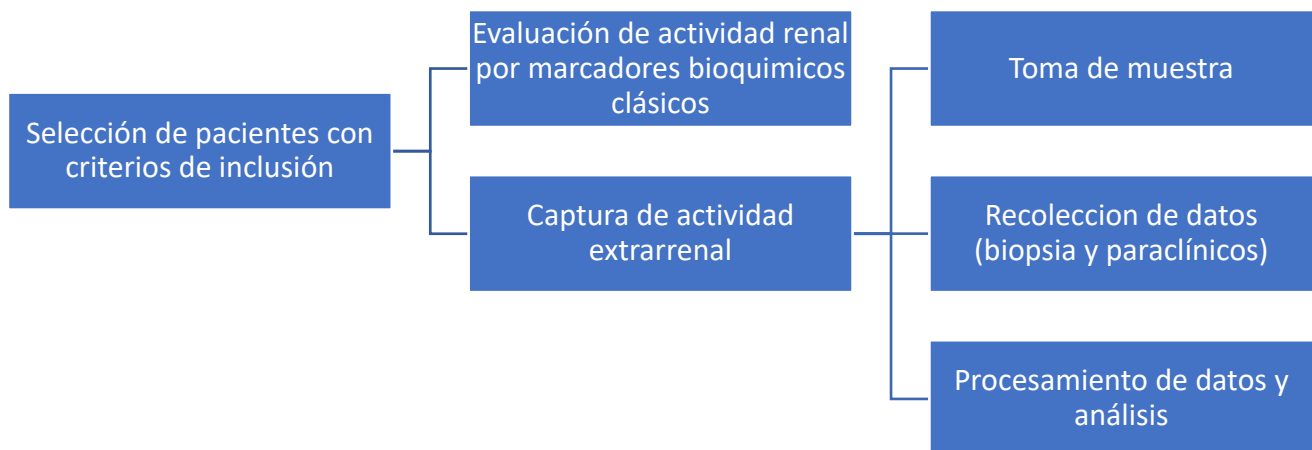
### PROCEDIMIENTO GENERAL.

1. Selección, reclutamiento de pacientes y firma de consentimiento informado.
1. Cita con ayuno de 8 horas para la toma de muestra única de sangre con tubo vacutainer BD color morado con EDTA, la cual se llevará al departamento de inmunología para su almacenamiento.
2. Captura de información de estudios para clínicos en forma seriada, con periodicidad variable, desde el momento del diagnóstico de la nefritis lúpica y hasta el momento del muestreo sanguíneo para la cuantificación de los micro RNA (creatinina sérica, tasa de filtración glomerular calculada, proteinuria, albuminuria, niveles séricos de C3 y C4, anticuerpos anti DNA doble cadena, sedimento urinario), Asimismo, se recabará y codificará el reporte completo de la biopsia renal efectuada al momento de detección de involucro renal por LES por primera vez. Se capturará la información de actividad extrarrenal según la última evaluación por reumatología.
3. La cuantificación de los microRNA se realizará de la siguiente manera: se utilizarán 200  $\mu$ L de plasma y sangre total para la detección de miRNAs, miR-21 y miR-155-5p del EBV (ebv-miR-bhr1-1, ebv-miR-bart4) utilizando reactivos y protocolos para el TaqMan MicroRNA Reverse Transcription Kit y el TaqMan MicroRNA Assay (Applied Biosystems). Las reacciones de RT-PCR se realizarán con cebadores de bucle de tallo personalizados (Applied Biosystems) específicos para la secuencia madura correspondiente obtenida de miRBase (disponible en: <http://www.miRBase.org> [consultado el 3 de junio de 2013]) [ 34 ]. La amplificación de reacciones de cationes se realizará utilizando el sistema de PCR en tiempo real CFX96 (BIORAD). Los datos de la RT-PCR cuantitativa se analizarán utilizando el método del ciclo de umbral comparativo ( $C_t$ ), con hsa-miR-16 o U6 como las referencias endógenas para plasma y sangre total, respectivamente. La cantidad de

miARN será dada por la fórmula aritmética  $2^{\Delta C_t}$ , donde el  $C_t$  es el punto en el que la fluorescencia de la reacción del ensayo TaqMan supera el límite del umbral.  $\Delta C_t$  es la diferencia en los valores de  $C_t$  entre el miARN diana y el control hsa-miR-16 y U6 para plasma y sangre completa, respectivamente;  $\Delta C_t$  se da como el  $C_t$  de hsa-miR-16 o U6 menos el  $C_t$  de cada miARN. Se debe tener en cuenta que los niveles de expresión relativos (es decir, normalizados a los niveles de hsa-miR-16 en la misma muestra) son por definición valores sin unidades.

4. El análisis estadístico se efectuará con el paquete SPSS versión 26 para Windows.

### Diagrama de flujo



### Hoja de captura de datos.

Se anexa a este documento hoja de Excel para recolección de datos.

### Calendario.

- a) Revisión bibliográfica: 2 meses
- b) Elaboración del protocolo: 2 meses
- c) Obtención de la información. 3 meses

- d) Procesamiento y análisis de los datos. 4 meses
- e) Elaboración del informe técnico final. 2 meses
- f) Divulgación de los resultados. 4 meses

Fecha de inicio: 01 Agosto del 2022.

Fecha de terminación: 1 Marzo del 2023

	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Agos	Sept	Oct	Nov	Dic	Ene
Revisión bibliográfica	X	X									
Elaboración del protocolo			X	X	X						
Obtención de la información						X	X				
Procesamiento y análisis de los datos								X	X		
Elaboración del informe técnico final									X	X	
Divulgación de los resultados											X

### Recursos.

#### 11.10. 1. Recursos Humanos.

Investigador: Dr. Francisco Eugenio Rodríguez Castellanos

Médico adscrito al servicio de Nefrología del Instituto Nacional de Cardiología “Ignacio Chávez”

Actividad: Revisión, planeación y publicación del protocolo

Investigador: Fausto Sánchez Muñoz

Actividad: Revisión, planeación y publicación del protocolo

Investigador en ciencias médicas del departamento de Inmunología

Investigador: José Daniel Juárez Villa

Actividad: protocolo, obtención de muestras y base de datos

Residente de nefrología

#### 11.10.2. Recursos materiales.

Computadoras, hojas, lapiceros, kit de extracción de sangre, tubos vacutainer BD color morado con EDTA, kit para cuantificar miRNAs

#### 11.10.3. Recursos financieros.

Por parte del departamento de inmunología que ya cuentan con el equipo y recursos necesarios para realizar la cuantificación de los microRNAs.

## **ANALISIS ESTADISTICO.**

a) Estadística descriptiva: medidas de tendencia central y dispersión: rango, media, mediana, moda, desviación estándar, proporciones y rango intercuartílico.

b) Estadística inferencial:

Pare el (los) parámetro(s) principal(es):

b.1) Prueba de Chi cuadrada para comparación de proporciones.

b.2) Prueba T de Student o ANOVA de una vía para comparación de medias.

b.3) Alternativas no paramétricas según la distribución de las variables.

b.4) Pruebas de correlación con coeficiente de Pearson.

El nivel de significancia para rechazar la hipótesis nula ( $H_0$ ) será de  $p < 0.05$ .

## **RESULTADOS**

Se incluyeron 15 controles con una edad de  $32 \pm 1.92$  años y 30 casos con una edad de  $37.73 \pm 11.31$ , de los 30 casos con lupus eritematoso sistémico con actividad renal, 14 (46.7%) de los pacientes presentaban actividad clínica y 16 (53.3%) pacientes sin actividad clínica.

De los 30 casos con lupus eritematoso sistémico con nefritis lúpica, se encontró en la población una edad de  $37.73 \pm 11.31$  años, 29 (96.7%) pacientes fueron mujeres. La clase de nefritis lúpica al diagnóstico inicial, la más frecuente fue la III + V con 13 (43.3%) pacientes, seguida de la clase IV + V con 9 (30%) pacientes. 25 (83.3%) pacientes al diagnóstico de nefritis lúpica tenían actividad extrarrenal de la cual la más frecuente fue la combinada por actividad articular + hematológica y cutánea con 10 (40%) pacientes. Solo 5 (16.7%) pacientes tenían el diagnóstico de síndrome de anticuerpos antifosfolípidos y 4 (13.3%) con microangiopatía trombótica asociada, solo 5 pacientes requirieron terapia de remplazo renal. La respuesta clínica al tratamiento de inducción medida a los 2 meses fue completa solo en 8 (26.7%) pacientes. Durante su seguimiento solo 17 (56.7%) presentaron al menos una recaída, sin embargo, el promedio de recaída en la población fue de  $1.29 \pm 0.75$ . El tiempo medio en que se presentó una recaída fue de 21 (11-34) meses.

**Tabla 1.** Comparación de miRNA entre grupos por casos, controles y por actividad clínica.

Variable	Población total	Controles N=15	Casos N=30	P valor	Controles N=15	NL Activa N=14	NL Inactiva N=16	P valor
Edad (años)	35.82 ±9.64	32 ±1.92	37.73 ±11.31	0.082	32 ±1.92	35.71 ±14.06	39.50 ±8.29	0.013
MiRNA 21	1.53 ±0.74	1.61 ±1.84	1.49 ±1.72	0.258	1.61 ±1.84	1.90 ±2.21	1.13 ±1.08	0.511
MiRNA 155	0.95 ±0.73	0.69 ±0.28	1.08 ±0.85	0.041	0.69 ±0.28	1.01 ±0.57	1.15 ± 1.06	0.122

En cuanto a las características histológicas al momento de la biopsia del diagnóstico. 19 (63.3%) tenían algún grado de atrofia tubular y 27 (80%) presentaban lesión vascular, encontrándose la más frecuente con un grado leve con 18 (60%) pacientes. De los 30 casos 14 (46.7%) presentaron algún porcentaje de semilunas, teniendo un promedio de porcentaje de semilunas sobre el número de glomérulos totales con 23.83 ±27.89 por ciento de semilunas, se presentó una fibrosis intersticial del 11.43 ±9.44. En cuanto a la actividad, se encontró un índice promedio de 13.29 ±4.23 y un índice de cronicidad 3.57 ±2.87. El resto de los resultados y características basales de los casos, se muestran en la **tabla 2**.

**Tabla 2.** Características basales de los casos

Variable	N=30
Edad (años)	37.73 ±11.31
Sexo (Femenino)	29 (96.7%)
Tipo de respuesta inicial	
Respuesta completa	8 (26.7%)
Respuesta parcial	10 (33.3%)
Sin respuesta	12 (40%)
Actividad Clínica al muestreo	14 (46.7%)
Clase nefritis lúpica	
Clase III	5 (16.7%)
Clase IV	3 (10%)
Clase III + V	13 (43.3%)
Clase IV + V	9 (30%)
Actividad extrarrenal en el diagnóstico de nefritis lúpica	25 (83.3%)
Tipo de actividad extrarrenal	
Articular + Hematológica + Cutánea	10 (40%)
Articular + Hematológica	8 (32%)
Hipertensión	3 (10%)
Microangiopatía Trombótica	4 (13.3%)
SAAF	5 (16.75%)
TRR al diagnóstico	5 (16.7%)
Tratamiento de inducción inicial	

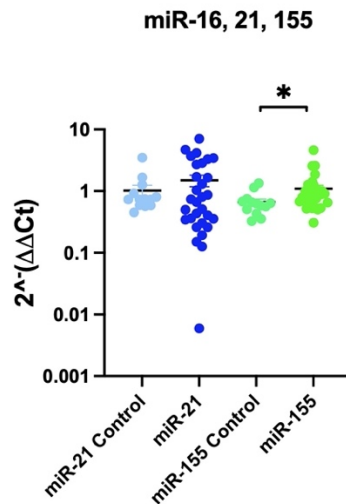
Esteroides + CYC	11 (36.7%)
Esteroides + MMF	10 (33.3%)
Esteroides solo	3 (10%)
Fx + MMF + Esteroides	2 (6.7%)
Otras combinaciones	4 (13.3%)
Recaída	17 (56.7%)
Tiempo a primera recaída (Meses)	21 (11-34)
Numero de recaídas	1.29 ±0.75
Atrofia tubular	19 (63.3%)
Lesión vascular	
Ausente	3 (10%)
Leve	18 (60%)
Moderado	7 (23.3%)
Grave	2 (6.7%)
Semilunas	14 (46.7%)
%Semilunas	23.83 ±27.89
Fibrosis intersticial (%)	11.43 ±9.44
Fibrosis Glomerular (%)	7.80 ±6.93
Índice Actividad	13.29 ±4.23
Índice Cronicidad	3.57 ±2.87
Tiempo LES a Muestro (Meses)	86 (83-126)
Tiempo NL a muestreo (meses)	82 (52.5-85.5)

SAAF; síndrome de anticuerpos antifosfolípido, MMF; micofenolato de mofetilo, CYC; ciclofosfamida, Fx; Tacrolimus, LES; lupus eritematosos sistémico, NL; nefritis lúpica

Se evaluó los niveles de miRNA del 21 y 155 entre casos y controles. Encontrándose una diferencia entre ambos grupos solo en el miRNA 155 con  $0.69 \pm 0.28$  para los controles y  $1.08 \pm 0.85$  para los casos (P valor 0.041). Se muestra el resto de los resultados en la **tabla 1 y figura 1**. Sin embargo, no se encontró diferencias al clasificarlos por controles, nefritis lúpica con actividad clínica y nefritis lúpica sin actividad clínica.



**Figura 1. Comparación de miRNA por grupos**



Al evaluar los miRNA con la clase de nefritis lúpica al momento del diagnóstico se encontró una diferencia solo el miRNA 155, observado una diferencia entre la clase IV versus la clase III + V (P valor 0.033) por la prueba de Bonferroni y una diferencia entre la clase IV versus la clase IV + V (P valor 0.041), los resultados se muestran en la **tabla 3**.

**Tabla 3.** Comparación de miRNA entre clase de nefritis lúpica al diagnóstico

	Población total	Clase III N=5	Clase IV N=3	Clase III + V N=13	Clase IV + V N=9	P valor
miRNA 21	1.53 ±1.74	0.84 ±0.62	0.35 ±0.18	1.89 ±2.16	1.66 ± 1.57	0.441
miRNA 155	0.95 ±0.73	1.47 ±1.0	2.30±2.02	0.84 0.37	0.82 ±0.31	<b>0.021</b>

Se realizaron correlaciones entre miRNA y las variables, encontrándose una correlación  $r$  0.373 (P valor 0.012) entre edad y el miRNA 21. Además, se encontró una correlación moderada  $r$  0.42 (P valor 0.021) entre la creatinina al muestreo y el miRNA 155, así mismo con una correlación negativa con la TFGe con  $r$ -0.368 (P valor 0.046) y el miRNA 155. Se realizaron delta en el diagnóstico de LES o NL con las variables al muestreo, encontrándose una correlación entre el delta de creatinina del diagnóstico de Les al muestreo con el miRNA 155 con  $r$  0.466 (P valor 0.011). El resto de las correlaciones se muestran en la **tabla 4**.

**Tabla 4.** Correlaciones bivaridas entre miRNA y variables de actividad renal e inmunológicas.

Variable	MiRNA 21*	P valor	MiRNA 155*	P valor
Edad	0.373	<b>0.012</b>	0.085	0.579
Creatinina al muestreo	-0.175	0.355	0.42	<b>0.021</b>
TFG al muestreo	0.026	0.891	-0.368	<b>0.046</b>
Proteinuria al muestreo	-0.142	0.454	-0.104	0.584
Proteinuria ajustada al muestreo	-0.061	0.751	-0.095	0.619

ANAs al muestreo	0.148	0.434	-0.017	0.928
DNA al muestreo	0.051	0.788	-0.136	0.474
C3 al muestreo	0.074	0.698	0.001	0.997
C4 al muestreo	-0.095	0.616	-0.05	0.792
SLEDAI al muestreo	-0.11	0.562	0.055	0.772
Delta Creatinina-LES	0.072	0.71	0.466	0.011
Delta Creatinina-NL	0.129	0.503	-0.062	0.749
Delta TFG-LES	0.032	0.871	-0.25	0.191
Delta TFG-NL	0.061	0.755	-0.002	0.991
Delta Proteinuria - LES	0.091	0.641	-0.009	0.963
Delta Proteinuria - NL	0.208	0.278	0.003	0.99
Delta C3 - LES	-0.138	0.476	0.236	0.217
Delta C3 - NL	-0.092	0.636	0.515	0.004
Delta C4 - LES	0.072	0.711	-0.1	0.608
Delta C4 - NL	0.072	0.711	0.326	0.085
Delta DNA - LES	-0.207	0.29	-0.119	0.546
Delta DNA - NL	-0.116	0.566	-0.151	0.451

TFG; Tasa de filtrado glomerular, DNAs; anticuerpos antidoble cadena, ANAs; anticuerpos antinucleares, C3; complemento 3, C4; complemento 4, SLEDAI; NL; nefritis lúpica, LES; lupus eritematoso sistémico.

\*Correlación pearson

## DISCUSIÓN

La población estudiada es una población joven, siendo mayormente mujeres como lo reportador a nivel mundial. Con una respuesta completa baja medida a los 2 meses con solo 8 pacientes (26.7%.) Presentando al menos una recaída en 17 pacientes (56.7%) con una mediana de 21 (11-34) meses. Presentándose la clase proliferativa Clase III + V como las más común en 13 pacientes (43.3%). Teniendo una presentación agresiva, ya que hasta 14 pacientes (46.7%) presentaron un grado de semilunas.

El papel de los miRNAs como reguladores epigenéticos clave en la nefritis lúpica se reconoce cada vez más. La evidencia disponible sugiere que los miRNAs están involucrados en la patogénesis de la nefritis lúpica no solo por la modulación de las células inmunes y las vías inflamatorias sistémicas, sino también por su actuación a nivel del tejido renal e incluso en el exosoma urinario. En nuestro estudio se observó una diferencia significativa entre los controles y caso en el miRNAs 155, como en el estudio de Navarro-Quiroz pero no en los otros miRNA. Sin embargo, no observamos diferencias cuando dividimos a los pacientes por nefritis lúpica con y sin actividad versus controles.

Al clasificar los pacientes por clase de nefritis lúpica al diagnóstico inicial se encontró una diferencia solo el miRNA 155, observado una diferencia entre la clase IV versus la clase III + V (P valor 0.033) y una diferencia entre la clase IV versus la clase IV + V (P valor 0.041).

Al realizar las correlaciones se encontraron que algunas fueron moderadas y estadísticamente significativas, pero solo en relación con el miRNA 155, una de ellas la creatinina al muestro con una  $r$  0.42 (P valor 0.021) y con el cambio de creatinina desde el diagnóstico de lupus eritematosos sistémico al muestreo con  $r$  0.466 (P valor 0.011)

Si bien los hallazgos no fueron diferentes entre aquellos con actividad y sin actividad. Así como tampoco con algunos marcadores clásicos en el muestreo, existen correlaciones entre los cambios a lo largo de la evolución. Estos hallazgos no descartan la posibilidad de los miRNA como biomarcadores, ya que se han realizado estudios evidenciado cambios al medirlos en orina. Así como la realización de paneles como potencial biomarcadores.

Nuestro estudio tiene varias limitaciones. Una de ellas es que solo es una medición en el tiempo, así como no hay una biopsia renal para comparar si realmente hay actividad o no, como el estándar de oro. Ya que las variables histológicas con las que contamos son al diagnóstico y el tiempo entre el muestro y el diagnóstico es prolongado.

## **CONCLUSIONES.**

Los miRNA participan en la regulación de la fisiopatología de la nefritis lúpica, se ha mostrado su posible beneficio como biomarcador, sin embargo, no se ha encontrado el momento exacto de su medición o si es en conjunto con otros miRNA para una interpretación en conjunto. En nuestro estudio el miRNA 155 tuvo correlaciones y diferencias entre grupos, por lo cual puede ser posible su medición en diferentes escenarios.

## **CONSIDERACIONES ÉTICAS**

"Todos los procedimientos estarán de acuerdo con lo estipulado en el Reglamento de la ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.

Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección I, investigación sin riesgo, no requiere consentimiento informado.

Título segundo, capítulo I, Artículo 17, Sección II, investigación con riesgo mínimo, se anexa hoja de consentimiento informado.

## **CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Se utilizará consentimiento informado para la obtención de muestras de sangre para cuantificación de miRNAs.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

Parikh SV, Almaani S, Brodsky S, Rovin BH. Update on Lupus Nephritis: Core Curriculum 2020. *Am J Kidney Dis.* 2020;76(2):265-281. doi:10.1053/j.ajkd.2019.10.017

Mejia-Vilet JM, Malvar A, Arazi A, Rovin BH. The lupus nephritis management renaissance. *Kidney Int.* 2022;101(2):242-255. doi:10.1016/j.kint.2021.09.012

So BYF, Yap DYH, Chan TM. MicroRNAs in Lupus Nephritis-Role in Disease Pathogenesis and Clinical Applications. *Int J Mol Sci.* 2021;22(19):10737. Published 2021 Oct 4. doi:10.3390/ijms221910737

Algaabou-Elfattah Tawfik, Omnia Ahmed El-Dydamoni, Sara Younes Abozaid et al. Serum miRNA-146a and miRNA-155 as Novel Biomarkers in Lupus Nephritis Activity with Systemic Lupus Erythematosus. *American Journal of Biochemistry.* 2019; 9(2): 21-34 doi:10.5923/j.ajb.20190902.0

Nakhjavani M, Etemadi J, Poulak T, Mirhosaini Z, Zununi Vahed S, Abediazar S. Plasma levels of miR-21, miR-150, miR-423 in patients with lupus nephritis. *Iran J Kidney Dis.* 2019;13(3):198-206.

Khoshmirsafa M, Kianmehr N, Falak R, et al. Elevated expression of miR-21 and miR-155 in peripheral blood mononuclear cells as potential biomarkers for lupus nephritis. *Int J Rheum Dis.* 2019;22(3):458-467. doi:10.1111/1756-185X.13410

Li W, Liu S, Chen Y, et al. Circulating Exosomal microRNAs as Biomarkers of Systemic Lupus Erythematosus. *Clinics (Sao Paulo).* 2020;75:e1528. doi:10.6061/clinics/2020/e1528

Zhang H, Huang X, Ye L, et al. B Cell-Related Circulating MicroRNAs With the Potential Value of Biomarkers in the Differential Diagnosis, and Distinguishment Between the Disease Activity and Lupus Nephritis for Systemic Lupus Erythematosus. *Front Immunol.* 2018; 9:1473. Published 2018 Jun 29. doi:10.3389/fimmu.2018.01473

Xiao H, Wei N, Su M, Xiong Z. Down-regulation of serum miR-151a-3p is associated with renal tissue activity in class IV lupus nephritis. *Clin Exp Rheumatol*. 2019;37(1):67-72.

Navarro-Quiroz E, Pacheco-Lugo L, Navarro-Quiroz R, et al. Profiling analysis of circulating microRNA in peripheral blood of patients with class IV lupus nephritis. *PLoS One*. 2017;12(11):e0187973. Published 2017 Nov 14. doi:10.1371/journal.pone.0187973

Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Glomerular Diseases Work Group. KDIGO 2021 Clinical Practice Guideline for the Management of Glomerular Diseases. *Kidney Int*. 2021;100(4S):S1-S276. doi:10.1016/j.kint.2021.05.021

Dall'Era M, Stone D, Levesque V, et al. Identification of biomarkers that predict response to treatment of lupus nephritis with mycophenolate mofetil or pulse cyclophosphamide. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2011;63(3):351-357. doi:10.1002/acr.20397

Ermakov EA, Kabirova EM, Sizikov AE, Buneva VN, Nevinsky GA. IgGs-Abzymes from the Sera of Patients with Systemic Lupus Erythematosus Hydrolyzed miRNAs. *J Inflamm Res*. 2020;13:681-699. Published 2020 Oct 8. doi:10.2147/JIR.S258558

Pradhan V, Pandit P, Surve P, et al. Catalytic antibodies in patients with systemic lupus erythematosus. *Eur J Rheumatol*. 2018;5(3):173-178. doi:10.5152/eurjrheum.2018.17194

Michelle F. Cavallo, Anna M. Kats, Ran Chen, James X. Hartmann, Mirjana Pavlovic, "A Novel Method for Real-Time, Continuous, Fluorescence-Based Analysis of Anti-DNA Abzyme Activity in Systemic Lupus", *Autoimmune Diseases*, vol. 2012, Article ID 814048, 10 pages, 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/814048>

Navarro-Quiroz E, Pacheco-Lugo L, Navarro-Quiroz R, et al. Profiling analysis of circulating microRNA in peripheral blood of patients with class IV lupus nephritis. *PLoS One*. 2017;12(11):e0187973. doi:10.1371/journal.pone.0187973

Brocklebank V, Wood KM, Kavanagh D. Thrombotic Microangiopathy and the Kidney. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2018;13(2):300-317. doi:10.2215/CJN.00620117

Aleš Rigler A, Večerić-Haler Ž, Arnol M, et al. Exploring the role of the complement system, endothelial injury, and microRNAs in thrombotic microangiopathy after kidney transplantation. *J Int Med Res*. 2020;48(12):300060520980530. doi:10.1177/0300060520980530

Pérez-Sánchez C, Arias-de la Rosa I, Aguirre MÁ, et al. Circulating microRNAs as biomarkers of disease and typification of the atherothrombotic status in antiphospholipid syndrome. *Haematologica*. 2018;103(5):908-918. doi:10.3324/haematol.2017.184416

Hoover PJ, Costenbader KH. Insights into the epidemiology and management of lupus nephritis from the US rheumatologist's perspective. *Kidney Int*. 2016;90(3):487-492. doi:10.1016/j.kint.2016.03.042

Abulaban, K.M., Fall, N., Nunna, R. *et al*. Relationship of cell-free urine MicroRNA with lupus nephritis in children. *Pediatr Rheumatol* **14**, 4 (2016). <https://doi.org/10.1186/s12969-016-0064-x>

Roointan, A., Gholaminejad, A., Shojaie, B. *et al*. Candidatos a biomarcadores de microARN en la nefritis lúpica: un metanálisis de estudios de perfiles en muestras de riñón, sangre y orina. *Mol Diagn Ther* **27** , 141–158 (2023). <https://doi.org/10.1007/s40291-022-00627-w>

# ANEXOS: CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO



**SALUD**  
SECRETARÍA DE SALUD



Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez

*Renacimiento de la excelencia*

DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN  
PROPUESTA DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO  
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA "IGNACIO CHAVEZ"  
SERVICIO DE NEFROLOGÍA  
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

## TÍTULO DEL ESTUDIO: "Asociación de niveles plasmáticos de micro RNAs 21 y 155 con actividad renal y extrarrenal en pacientes con lupus eritematoso sistémico".

**1.- Propósito del estudio:** El presente documento tiene como objetivo invitarle a participar en un estudio de investigación dirigido por el Dr. Francisco Eugenio Rodríguez Castellanos y el Dr. José Daniel Juárez Villa, médico del departamento de nefrología del Instituto Nacional de Cardiología, el cual incluye a la población de pacientes con daño renal por lupus eritematoso sistémico, del mismo hospital.

El estudio tiene como propósito conocer la cantidad en sangre de algunos marcadores no comunes del sistema de defensa en diferentes grupos de pacientes según la respuesta que hayan tenido con el primer tratamiento recibido para tratar de atenuar el daño renal que provoca la enfermedad llamada lupus eritematoso sistémico. Esta información podría llevar a desarrollar nuevas pruebas de laboratorio que permitan identificar la evolución de la enfermedad, así como su respuesta a diferentes tratamientos.

Le recordamos que su participación en este estudio es totalmente voluntaria y que no condiciona de ninguna manera el tratamiento que recibe actualmente ni a futuro. Así mismo, si en cualquier momento de la investigación decide retirar su consentimiento, puede hacerlo libremente.

El riesgo de participar en este protocolo es mínimo, únicamente es necesario extraer datos de su expediente clínico y electrónico y tomar una muestra de sangre.

### 2.- Procedimientos

Si acepta colaborar en este estudio, se realizarán los siguientes pasos:

**Recolección de datos:** Se tomarán datos de estudios de laboratorio y procedimientos previos (biopsia renal) de su expediente clínico.

**Muestra de sangre:** Posteriormente se obtendrá una muestra de aproximadamente 10ml de sangre para su análisis dentro del laboratorio de Inmunología de este hospital. Se determinará la concentración de algunos elementos de la sangre que se alteran en los pacientes con nefritis lúpica. Para obtener esta muestra es necesario que se presente con un período de ayuno de al menos 8 horas.

**Análisis de datos:** Una vez reunida la información, se procesarán los datos obtenidos en programas estadísticos para establecer la relación que existe entre las diferentes mediciones realizadas.

**3.- Posibles riesgos y molestias:** Al momento de realizar la flebotomía, es decir, la punción en la vena para obtener la muestra de sangre, la mayoría de personas sienten un ligero dolor al momento de introducir la aguja. También se puede experimentar algo de sensación pulsátil en el sitio después de extraer la sangre. Es inusual que se presenten eventos adversos o daño tras una toma de muestra de sangre, sin embargo, algunos de los riesgos son: hematomas (moretones), hemorragia (sangrado) leve, desmayo o lipotimia e infección del sitio puncionado.

**4.- Posibles beneficios que recibirá al participar:** El análisis de los resultados permitirá establecer si la expresión de estos marcadores medidos en sangre es diferente según la respuesta obtenida con el tratamiento inicial de la enfermedad y valorar su posible utilidad como prueba para monitorear la evolución de la enfermedad.

**5.- Participación o retiro:** Se reitera que su participación es completamente voluntaria y no condiciona de ninguna forma la atención que recibe ni la calidad de esta. Si decide participar deberá firmar el consentimiento informado de forma correspondiente. Si en algún momento durante el estudio decide dejar de participar, puede retirar sus datos sin que esto afecte la atención que recibe ni la calidad de esta.

**6.- Privacidad y confidencialidad:** La información que se recupere de su expediente y se recabe en las consultas será tratada confidencialmente, al igual que los resultados del análisis de sus pruebas. En caso de publicar los resultados de este estudio (en conferencias o en revistas de índole médico), no se usará información que revele su identidad. Esta se mantendrá oculta en todo momento. Al ingresar al estudio se le asignará un número de participante que será utilizado en nuestra base de datos para identificarlo y así resguardar su identidad.

**7.- Personal de contacto para dudas, aclaraciones o comentarios sobre el estudio:** Si tiene preguntas o comentarios sobre el estudio, puede comunicarse, de 9:00 a 14:00h de lunes a viernes, con el Dr. José Daniel Juárez Villa o el Dr. Francisco Eugenio Rodríguez Castellanos, investigadores responsables de este proyecto, al teléfono 5555732911 ext. 24410 o directamente en el servicio de Nefrología de este hospital.

Si usted tiene dudas o preguntas sobre sus derechos a participar en un estudio de investigación, puede comunicarse con los responsables de la Comisión de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Cardiología, a los Tel. 5555732911 ext. 24410, de 9:00 a 16:00h.





## ANEXO 2: CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

	Mar	Abr	May	Jun	Jul	Agos	Sept	Oct	Nov	Dic	Ene
Revisión bibliográfica	X	X									
Elaboración del protocolo		X	X								
Obtención de la información		X	X								
Procesamiento y análisis de los datos				X	X						
Elaboración del informe técnico final					X	X					
Divulgación de los resultados						X	X	X			

Realizado 

Pendiente 