

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune recurrente-remiteante caracterizada por la pérdida de tolerancia a los ácidos nucleicos y manifestaciones clínicas muy diversas. La heterogeneidad clínica, junto con la posible gravedad de estas manifestaciones, hacen que el tratamiento del LES sea un desafío distinto. A pesar de los avances recientes en los protocolos de tratamiento, varios estudios han señalado que los pacientes con LES todavía tienen un riesgo general de muerte de 2 a 3 veces mayor. Adicionalmente, existen grandes desafíos a nivel diagnóstico y la búsqueda de biomarcadores que permitan una rápida detección de afecciones como la renal.

El libro *Avances Investigativos en Nefritis Lúpica* compila conocimientos recientes sobre la base genética, molecular de la nefritis lúpica, nuevos biomarcadores diagnósticos, su potencial uso y el rol de las infecciones en esta enfermedad.

Escanee el código QR para conocer más títulos publicados por Ediciones Universidad Simón Bolívar



ISBN 978-958-53184-1-0



EDICIONES
UNIVERSIDAD
SIMÓN BOLÍVAR



UNIVERSIDAD
SIMÓN BOLÍVAR
BARRANQUILLA Y CÚCUTA - COLOMBIA | VIGILADA MINECUCACIÓN



Avances investigativos en NEFRITIS LÚPICA

Gustavo Aroca Martínez - Elkin Navarro Quiroz

Avances investigativos en

NEFRITIS LÚPICA

Editores:

Gustavo Aroca Martínez
Elkin Navarro Quiroz

Avances investigativos en
NEFRITIS LÚPICA

**AVANCES INVESTIGATIVOS EN NEFRITIS
LUPICA**

© Gustavo Aroca Martínez - Elkin Navarro Quiroz

Proceso de arbitraje doble ciego

Recepción: Junio de 2020

Evaluación de propuesta de obra: Julio de 2020

Evaluación de contenidos: Agosto de 2020

Correcciones de autor: Agosto de 2020

Aprobación: Septiembre de 2020

Avances investigativos en **NEFRITIS LÚPICA**

Editores:

Gustavo Aroca Martínez
Elkin Navarro Quiroz

Gustavo Aroca Martínez • María D. Vélez-Verbel
Henry J. González-Torres • Fernando De la Cruz
Roberto Navarro Quiroz • Elkin Navarro Quiroz
Lisandro Pacheco Lugo • Valentina Arrieta Bravo
Yirys Díaz Olmos • Lorena Gómez Escorcía
Antonio J. Acosta-Hoyos

Avances investigativos en nefritis lúpica / editores Gustavo Aroca Martínez, Elkin Navarro Quiroz -- Barranquilla: Ediciones Universidad Simón Bolívar, 2020.

158 páginas. ; 17 x 24 cm; tablas y figuras a color

ISBN: 978-958-53184-1-0 (PDF Versión Electrónica)

1. Nefrología – Investigaciones 2. Riñones – Enfermedades – Investigaciones 3. Lupus Eritematoso – Investigaciones 4. Insuficiencia renal crónica – Investigaciones I. Aroca Martínez, Gustavo, editor II. Navarro Quiroz, Elkin, editor III. Facultad. Grupo de Investigación IV. Título 616.612072 A946 2020 Sistema de Clasificación Decimal Dewey 22ª. edición

Universidad Simón Bolívar – Sistema de Bibliotecas

Producido en Barranquilla, Colombia. Depósito legal según el Decreto 460 de 1995. El Fondo Editorial Ediciones Universidad Simón Bolívar se adhiere a la filosofía del acceso abierto y permite libremente la consulta, descarga, reproducción o enlace para uso de sus contenidos, bajo una licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



©Ediciones Universidad Simón Bolívar

Carrera 54 No. 59-102

<http://publicaciones.unisimonbolivar.edu.co/edicionesUSB/>

dptopublicaciones@unisimonbolivar.edu.co

Barranquilla - Cúcuta

Producción Editorial

Editorial Mejoras

Calle 58 No. 70-30

info@editorialmejoras.co

www.editorialmejoras.co

Octubre de 2020

Barranquilla

Made in Colombia

Cómo citar este libro:

Aroca Martínez, G. y Navarro Quiroz, E. (Edit.) (2020). *Avance investigativos en nefritis lúpica*. Barranquilla: Ediciones Universidad Simón Bolívar.



Contenido

INTRODUCCIÓN..... 7

CAPÍTULO 1

NEFRITIS LÚPICA 9

Gustavo Aroca Martínez
María D. Vélez-Verbel
Henry J. González-Torres

CAPÍTULO 2

GENÉTICA NEFRITIS LÚPICA 47

Fernando De la Cruz
Roberto Navarro Quiroz
Elkin Navarro Quiroz

CAPÍTULO 3

**BIOMARCADORES URINARIOS
EN LA NEFRITIS LÚPICA Y SU
POTENCIAL APLICACIÓN CLÍNICA 95**

Lisandro Pacheco Lugo
Valentina Arrieta Bravo
Yirys Díaz Olmos



CAPÍTULO 4

MIRNAS CIRCULANTES

EN PLASMA COMO

BIOMARCADORES

DIAGNÓSTICOS DE LA NEFRITIS LÚPICA 115

Elkin Navarro-Quiroz

Lorena Gómez Escorcia

Roberto Navarro-Quiroz

Capítulo 5

EL ROL DE LAS INFECCIONES

EN LUPUS ERITEMATOSO

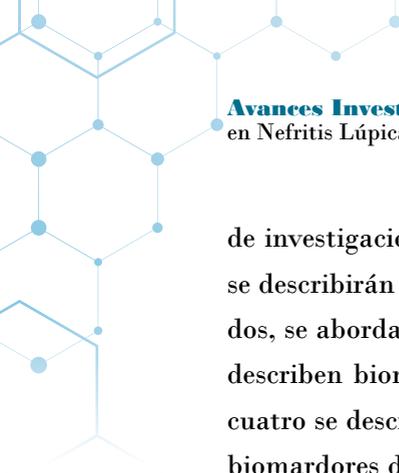
SISTÉMICO: MECANISMOS

MOLECULARES DE PATOGENICIDAD 145

Antonio J. Acosta-Hoyos

INTRODUCCIÓN

El lupus eritematoso sistémico (LES) se asocia con un amplio espectro de manifestaciones clínicas e inmunológicas, de las cuales la nefritis lúpica es la causa más común de morbilidad y mortalidad. El desarrollo de la nefritis en pacientes con LES implica múltiples vías patogénicas que incluyen apoptosis aberrante, producción de autoanticuerpos, deposición de complejos inmunes y activación del complemento. El sistema de clasificación de la Sociedad Internacional de Nefrología/Patología Renal (ISN/RPS) de 2003 para la nefritis lúpica fue ampliamente aceptado con una alta concordancia intra-observador e interobservador para guiar la estrategia terapéutica y proporcionar información pronóstica. Sin embargo, este sistema de clasificación no se basa en la fisiopatología de la enfermedad subyacente. Deben reconocerse algunas lesiones adicionales que contribuyen a la presentación de la enfermedad, incluidas las medias lunas glomerulares, la lesión por podocitos, las lesiones tubulointersticiales y la lesión vascular. Aunque los resultados para los pacientes con nefritis lúpica han mejorado en los últimos 30 años, el tratamiento de esta enfermedad sigue siendo desafiante y se aborda mejor en función de la patogénesis subyacente, que solo está parcialmente representada por los diversos fenotipos patológicos definidos por la clasificación ISN/RPS. Este nuevo libro está dedicado a los desarrollos



Avances Investigativos en Nefritis Lúpicas

de investigación de vanguardia en nefritis lúpica. En el capítulo uno se describirán aspectos relevantes de esta enfermedad; en el capítulo dos, se aborda la genética de la nefritis lúpica; en el capítulo tres, se describen biomarcadores urinarios para la nefritis y en el capítulo cuatro se describen avances del uso de microRNAs circulantes como biomarcadores diagnósticos de la nefritis lúpica y en el capítulo cinco se aborda el papel de las infecciones virales en el lupus.

Gustavo Aroca Martínez

Elkin Navarro Quiroz

NEFRITIS LÚPICA

Gustavo Aroca Martínez¹
María D. Vélez-Verbe²
Henry J. González-Torres³

DEFINICIÓN

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune caracterizada por la producción de autoanticuerpos dirigidos contra antígenos nucleares y citoplásmicos que conllevan a inflamación sistémica crónica que puede afectar múltiples órganos mayores; se caracteriza por un amplio espectro de manifestaciones determinadas por la interacción de factores ambientales y hereditarios (1). Un importante contribuyente a morbilidad y mortalidad en pacientes con LES es la afectación renal conocida como nefritis lúpica (NL) (2,3), que tiene un espectro amplio de presentaciones clínicas y patológicas llevando a diferentes pronósticos en estos pacientes (4). El curso característico de la NL son episodios de brotes o exacerbaciones de la enfermedad seguidos por un período de quiescencia (5). Para su diagnóstico es fundamental realizar biopsia renal, con el propósito de confirmarlo, establecer patrones histopatológicos,

-
- 1 Universidad Simón Bolívar, Barranquilla, Atlántico. Asociación Colombiana de Nefrología. Clínica de la Costa, Barranquilla, Atlántico.
 - 2 Universidad Libre Seccional Barranquilla.
 - 3 Universidad Simón Bolívar, Barranquilla, Atlántico. Asociación Colombiana de Nefrología. Clínica de la Costa, Barranquilla, Atlántico.

actividad y cronicidad de la injuria renal, determinar tratamiento y pronóstico (6).

EPIDEMIOLOGÍA

La nefritis lúpica afecta a 40-70% de los pacientes con LES con una incidencia exacta dependiente de factores como raza, edad y género (7). En términos generales afecta más a individuos de raza negra, latinos y asiáticos, con una relación mujer-hombre de 9:1 (8-10). En Estados Unidos aproximadamente 35 % de los adultos con LES tienen evidencia clínica de nefritis lúpica en el momento del diagnóstico y entre 50-60 % desarrollan nefritis durante los siguientes 10 años posteriores al diagnóstico (11); en la población asiática la incidencia de NL es de 55 %, en la africana 51 %, en hispanos 43 % y en caucásicos del 14 % (12). En Colombia, en un estudio realizado en Medellín (13) se encontró una incidencia de NL en el 53 % de los pacientes, durante el primer año de evolución del LES, y en la región Caribe se han encontrado cifras que oscilan entre 50 y 55 % en algún momento de la evolución de la enfermedad (14). En general, la supervivencia de pacientes con LES es de 95 % a 5 años después del diagnóstico y de 92 % a 10 años del diagnóstico, viéndose significativamente reducidas estas cifras una vez se instaura la NL llegando a 88 % a los 10 años e incluso más bajas en pacientes afroamericanos (15).

FISIOPATOLOGÍA

Los mecanismos fisiopatológicos que conllevan al desarrollo de nefritis lúpica se han dividido en extrarrenales e intrarrenales. Dentro del primer grupo se encuentran los siguientes:

- **Muerte celular y manejo de células muertas:** el LES se desarrolla por una pérdida de autotolerancia a antígenos

nucleares ubicuos como resultado de un proceso de inmunización. Esto implica que células plasmáticas, autorreactivas y de larga vida, junto con linfocitos T de memoria dirigen su actividad inmune contra los núcleos. Estas células no pueden ser eliminadas por las terapias de las que se dispone hoy día, por lo que se suprime la actividad de la enfermedad mas no se cura el LES. Por otro lado, los antígenos nucleares utilizados para la inmunización tienen que estar accesibles a las células presentadoras de antígenos, proceso que normalmente se evita por el mecanismo homeostático de “limpieza” de detritus celulares que se activa una vez muere la célula; sin embargo; en pacientes con LES se comprometen los mecanismos que normalmente aseguran bajos niveles de cromatina a nivel extracelular, particularmente: alteración a nivel de la apoptosis, opsonización de células muertas por parte del complemento o su eliminación por fagocitos. Por su parte, los neutrófilos se someten a netosis, liberando hacia el espacio extracelular nucleosomas.

- **Inducción de inmunidad antiviral:** el retraso en la eliminación de células muertas conduce a degeneración de sus componentes lo que compromete los elementos que normalmente distinguen los ácidos nucleicos propios de los virales, haciendo que en estos pacientes partículas nucleares sean reconocidas como virus.
- **Proliferación de linfocitos aberrantes:** las células dendríticas y las células B tienen la capacidad de procesar antígenos y presentarlos a las células T y pueden sustituirse entre sí para cumplir este propósito. Las células dendríticas tienen una vida útil limitada, pero su activación persistente por

los autoantígenos del lupus por TLR7 y TLR9 aumentan su supervivencia y las hace resistentes a la muerte inducida por glucocorticoides. La activación persistente de células presentadoras de antígeno cambia la interpretación de los autoantígenos conllevándolos a activación de linfocitos y proliferación de estos, que puede superar la falta de respuesta funcional o la anergia de las células B maduras autorreactivas.

- **Desencadenantes ambientales de actividad lúpica:** las infecciones virales inducen la liberación de IFN- α , lo que desencadena la inmunidad antiviral, así como exacerbación de la actividad lúpica. Por su parte las infecciones bacterianas tienen un efecto inmunoestimulador no específico, que implica una expansión transitoria de los clones de linfocitos autorreactivos. Además, los productos bacterianos estimulan las células inmunitarias intrarrenales y las células renales, pudiendo desencadenar una agravación transitoria de la proteinuria y el daño renal. Otro desencadenante ambiental de la actividad del LES es la luz ultravioleta, que induce un aumento en la carga de células muertas al causar la muerte de queratinocitos.

12

En cuanto a los mecanismos patogénicos intrarrenales para el desarrollo de nefritis lúpica se encuentran:

- **Patología renal mediada por inmunocomplejos:** la activación no específica de células B autorreactivas explica la respuesta policlonal de anticuerpos que conduce a la característica principal en el diagnóstico de NL: depósito de IgG y complemento; rara vez ocurre la instauración de NL en ausencia de inmunocomplejos (16). Sin embargo, en modelos animales

ratones deficientes en anticuerpos se ha encontrado que también desarrollan NL, dejando en evidencia que las células B tienen efectos patógenos más allá de la producción de anticuerpos, incluida la presentación de autoantígenos para activar las células T autorreactivas y los efectos proinflamatorios locales. Los inmunocomplejos se depositan en el mesangio o en los espacios subendotelial y subepitelial o en los capilares peritubulares dependiendo de la calidad de los autoanticuerpos, duración y severidad; dentro de estos autoanticuerpos los dirigidos contra el ácido desoxirribonucleico (ADN) de doble cadena (anti-dsDNA) y los antinucleosomas son los que se han visto mayormente asociados al desarrollo de NL (1,17). El concepto tradicional de que los complejos inmunes circulantes en el LES se depositan pasivamente en el riñón ha sido cuestionado; los complejos inmunes glomerulares se forman más bien *in situ* por la unión secundaria a los nucleosomas de las células renales; otra fuente intrarrenal potencial de nucleosomas son los neutrófilos en netosis, debido a la liberación de trampas extracelulares iniciadas por anticuerpos anti-LL37. Los anticuerpos anti-ADN activan las células endoteliales y mesangiales a través de diferentes mecanismos; se cree que los anticuerpos ingresan directamente a las células renales, involucrando reactividad cruzada con α -actina o anexina II en las células mesangiales, sin embargo, este concepto no ha sido demostrado. Además, los depósitos de complejos inmunes intrarrenales activan el complemento, demostrando su doble papel en el desarrollo de nefritis lúpica. La deficiencia de complemento afecta la opsonización y la eliminación de los autoantígenos del LES del espacio extracelular, mientras que los

factores del complemento también causan directamente inflamación renal relacionada con el sistema inmunitario. Los depósitos de inmunocomplejos subepiteliales conducen a glomerulonefritis membranosa secundaria y a síndrome nefrótico por daño de podocitos.

- **Activación intrarrenal de TLRs y señalización IFN:** el componente de ácido nucleico de los complejos inmunitarios también activa la inflamación intrarrenal por TLR en macrófagos intrarrenales y células dendríticas. Además, los ácidos nucleicos inmunoestimulantes activan el endotelio glomerular, células mesangiales y macrófagos para producir grandes cantidades de citoquinas proinflamatorias e IFN- α e IFN- β . La importancia funcional de esta señalización IFN intraglomerular es poco conocida, pero parece contribuir al daño renal en NL. La unión a TLR, los receptores de complemento y los receptores Fc activan las células renales para liberar citoquinas proinflamatorias y quimiocinas e induce la expresión luminal de selectinas y moléculas de adhesión dentro de la microvasculatura.
- **Reclutamiento de diferentes subconjuntos de leucocitos mediado por quimiocinas:** las células T citotóxicas, las células Th17 y las células B se infiltran en el riñón en la NL conllevando a la producción de quimiocinas y consecuentemente promoviendo un estado proinflamatorio. Por ejemplo, la quimiocina CCL2 recluta macrófagos proinflamatorios CCR2 $^{+}$ y células T en el glomérulo y en el túbulo-intersticio mientras que las células CCR1 $^{+}$ se reclutan solo en el compartimento intersticial y no en el glomérulo en NL. Los leucocitos que han infiltrado forman órganos linfoides

terciarios perivasculares dentro del riñón, que involucran una expansión clonal y la hipermutación somática en curso de las células B en la proximidad de los agregados de células T, dichas células B experimentan una proliferación y activación intrarrenal, lo que contribuye a la inflamación local, además de su papel para la producción sistémica e intrarrenal de autoanticuerpos. Los infiltrados de células T también contribuyen a la inmunopatología en NL, particularmente IL-17 produciendo células T CD3+/CD4+ o CD3 + CD4/8. Los macrófagos también contribuyen al daño renal, particularmente F4/80(hi)/ CD11c(int)Gr1(lo)/Ly6C(lo)/VLA4(lo)/MHCII (hi)/CD43(lo)/CD62L(lo).

- **La reparación maladaptativa del tejido contribuye a la progresión de la enfermedad renal crónica:** el daño a las células del parénquima renal desencadena respuestas de curación que contribuyen a la patología renal. La necrosis focal es seguida por una migración de células epiteliales parietales en el penacho glomerular, donde producen matriz extracelular que contribuye al paso de glomerulonefritis focal y segmentaria a global. Durante este proceso las células parietales mantienen su fenotipo epitelial polarizado y depositan la matriz extracelular en la parte superior de los podocitos, además, la formación de un patrón de media luna o crescéntico a nivel glomerular resulta de la activación de las células epiteliales parietales que llenan la cápsula de Bowman por una proliferación descoordinada, proceso que puede estar desencadenado por ruptura de la membrana basal glomerular que permite la fuga de plasma en el espacio de Bowman donde los componentes mitogénicos del plasma, como el fibrinógeno, desencadenan la hiperproliferación de

las células epiteliales parietales. En etapas posteriores, las células epiteliales parietales pierden su polaridad y producen matriz alrededor de sí mismas, lo que crea depósitos en panal en la cápsula de Bowman que convierte las formaciones crescénticas celulares en fibrocelulares con glomeruloesclerosis (17).

MANIFESTACIONES CLÍNICAS

Las manifestaciones clínicas son similares en hombres y mujeres, pero hay diferencias entre la severidad de estas según raza y distribución geográfica. Las manifestaciones típicas son aquellas que denotan enfermedad glomerular, sin embargo, la enfermedad puede estar silente, o presentarse con alteraciones en el sedimento, síndrome nefrótico o nefrítico incluso con rápida progresión a insuficiencia renal. De tal forma que las principales manifestaciones son:

16

- Proteinuria, casi en el 100 % de los casos.
- Síndrome nefrótico en 45 a 65 % de los afectados.
- Microhematuria, 80 % de los pacientes durante la enfermedad.
- Hematuria macroscópica, poco frecuente.
- Hipertensión arterial, en particular frecuente en pacientes con nefritis severa.

Reducción en la tasa de filtración glomerular hasta en 50 % de los casos (1).

EVALUACIÓN Y DIAGNÓSTICO DEL PACIENTE CON NEFRITIS LÚPICA

Se debe realizar una valoración clínica y paraclínica completa en pacientes con LES y sospecha de NL. Esta incluye:

- Valoración de la actividad de la enfermedad mediante índices de actividad validados como: Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index (SLEDAI).
- Severidad de la actividad dado por la presencia de manifestaciones a nivel del sistema nervioso central, cardíaco, pulmonar o hematológico con anemia hemolítica o plaquetopenia severa, derrame pericárdico severo que requiera intervención terapéutica.
- Datos de laboratorio generales (hemograma, glicemia, azoemia, creatininemia, albuminemia) y de autoinmunidad (ANAS, anti-DNA, dsDNA, Anti-sm, Complemento (C3, C4), anticuerpos antifosfolipídicos, anti-Ro, anti-La, anti C1q).
- Examen de orina en ausencia de infección urinaria para valorar uroanálisis y sedimento urinario, el cual permita determinar la presencia de leucocituria, hematuria, y cilindros.
- Valoración de proteinuria en orina de 24 horas y de evolución mediante el cociente proteinuria/creatininuria (1).

La nefritis lúpica (NL) se define, según el ACR (American College of Rheumatology), como la presencia de proteinuria persistente >500 mg/24 horas o 3+ en muestra de orina ocasional o la presencia de cilindros celulares (hemáticos, granulosos, tubulares o mixtos) (11). El grupo SLICC (Systemic Lupus Erythematosus International Collaborating Clinics) la define por la presencia de proteinuria ≥ 500 mg/24 horas o proteinuria/creatinuria (UPCR) ≥ 50 mg/mmol o cilindros eritrocitarios y propone que la presencia de una biopsia renal compatible con NL más la presencia de anticuerpos antinucleares (ANA) o anti-DNA (18).

La biopsia renal es de gran importancia en el enfoque diagnóstico de la NL siendo útil para guiar el tratamiento, dar información sobre el

pronóstico y descartar nefropatía por síndrome antifosfolípido (SAF), microangiopatía trombótica (MAT) y glomerulopatía primaria (19).

Las indicaciones de biopsia renal varían según la entidad que las propone la ACR indica biopsia renal en pacientes con LES que presenten aumento de la creatinina sin causas alternativas (sepsis, hipovolemia o medicamentos), proteinuria confirmada ≥ 1 gramo/24 horas o la combinación de proteinuria ≥ 500 mg/24 horas y cilindros celulares o hematuria ≥ 5 eritrocitos por campo de alto poder (CAP). Las guías EULAR/ERA-EDTA recomiendan biopsia renal en todos los pacientes lúpicos con proteinuria ≥ 500 mg/24 horas, especialmente si tienen hematuria glomerular o cilindros celulares, sin embargo, se utiliza la misma clasificación ISN/RPS (International Society of Nephrology/Renal Pathology Society) 2003 para identificar el tipo histopatológico de lesión renal instaurada (Tabla 1) (20,21). Es necesario resaltar, que las lesiones en NL pueden presentar cambios a través del tiempo que generan a su vez el paso de una clase a otra, ya sea de forma espontánea o tras el tratamiento, asimismo, pueden solaparse una a otra durante la evolución de la enfermedad (22).

18

Por otra parte, la realización de una segunda biopsia es discutida debido a las complicaciones asociadas y a que no genera cambios en el manejo de los pacientes por lo que no se recomienda repetir biopsia en un paciente con adecuada respuesta o evolución (23,24). Sin embargo, en ciertas situaciones especiales puede llegar a ser de utilidad, como, por ejemplo: aumento o reaparición de proteinuria, síndrome nefrótico o sedimento activo, aumento de creatinina sérica o evolución sin causa aparente a insuficiencia renal, refractariedad a tratamiento inmunosupresor, incertidumbre con relación a grado de actividad y/o cronicidad para decidir manejo y sospecha de nefropatía no asociada a lupus (21).

Tabla 1. Clasificación ISN/RPS para nefritis lúpica

NOMENCLATURA	CLASE	HALLAZGOS HISTOLÓGICOS	CORRELACIÓN CLÍNICA
Mesangial mínima	I	Microscopía de luz normal con depósitos mesangiales en la inmunohistología y la microscopía electrónica.	Creatinina sérica normal y analítica urinaria sin alteraciones. Hallazgo casual.
Mesangial proliferativa	II	Ensanchamiento y/o proliferación mesangial en la microscopía de luz.	Creatinina sérica normal, microhematuria o proteinuria en rango no nefrótico. Si aparece síndrome nefrótico descartar podocitopatía.
Proliferativa focal	III	Proliferación endocapilar en menos del 50 % de los glomérulos, con depósitos inmunes subendoteliales.	Proteinuria, hematuria, puede haber síndrome nefrótico, hipertensión, aumento de creatinina sérica. La progresión de la enfermedad renal depende del porcentaje de glomérulos afectados.
	III A (Activa)		
	III A/C (Activa y crónica)		
	III C (crónica)		
Proliferativa difusa	IV	Proliferación endocapilar en 50% o más de los glomérulos, con depósitos inmunes subendoteliales.	Hematuria, proteinuria, síndrome nefrótico, hipertensión arterial. Disminución de TFG.
	IVS O IVG (ya sea segmentaria o global) A		
	IVS O IVG A/C		
	IVS O IVG C		
Membranosa	V	Depósitos inmunes subepiteliales; pueden coexistir las clases II, III o IV.	Proteinuria en rango nefrótico o no, función renal normal, hipertensión, microhematuria.
Esclerosis	VI	Esclerosis global en más del 90 % de los glomérulos.	Disminución en TFG, proteinuria, hiperazoemia.

Es importante tener en cuenta que por lesiones activas se entiende la presencia de ciertas características que incluyen a nivel glomerular: necrosis local, proliferación celular, cariorexis, exudado fibrinoide, asas de alambre, cuerpos de hematoxilina, trombos hialinos; a nivel tubulointerstitial: infiltrados inflamatorios, necrosis tubular, edema y finalmente en arterias y arteriolas: exudado fibrinoide, trombos plaquetarios y necrosis. Por otra parte, se considera una lesión como crónica cuando en glomérulos se encuentra engrosamiento de membrana basal, fibrosis, adherencias; en el túbulo-intersticio fibrosis y/o atrofia tubular, y en arterias y arteriolas esclerosis arterial y/o hialinosis arteriolar (25).

Recientemente se realizaron recomendaciones y aclaraciones de conceptos en relación con la clasificación ISN/RPS entre las cuales destacan:

- Para la clase II se hizo un ajuste en el concepto de hiper celularidad o proliferación mesangial definiéndola como cuatro o más núcleos completamente rodeados por matriz en el área mesangial no incluyendo la región hilar.
- En cuanto a las clases III y IV se sugiere el cambio del término proliferación endocapilar por hiper celularidad endocapilar; el término “creciente” se utiliza para referirse a una lesión que consiste en hiper celularidad extracapilar compuesto de una mezcla variable de células; puede haber presencia de fibrina y matriz fibrosa y debe estar afectada 10 % o más de la circunferencia de la cápsula de Bowman. Así mismo, el patrón creciente celular se refiere a más de 75 % celular y fibrina y menos de 25 % de matriz fibrosa; el patrón creciente fibroso indica más del 75 % de matriz fibrosa y menos de 25 % células y fibrina; el patrón creciente fibrocelular por otro lado se define como 25-75 % de células y fibrina y el resto de matriz fibrosa.

Finalmente se propuso la modificación de índices de actividad y cronicidad del National Institutes of Health (NIH), al igual que su utilización en lugar de los parámetros para A, C y A/C (Tabla 2) (26).

Índice de actividad NIH modificado	Definición	Puntaje
Hiper celularidad endocapilar	Hiper celularidad endocapilar en < 25 % (1+), 25-50 % (2+), o > 50 % (3+) del glomérulo.	0-3
Neutrófilos/Carioexis	Neutrófilos y/o carioexis en < 25 % (1+), 25-50 % (2+), o > 50 % (3+) del glomérulo.	0-3
Necrosis fibrinoide	Necrosis fibrinoide en < 25 % (1+), 25-50 % (2+), o > 50 % (3+) del glomérulo.	(0-3) x 2
Depósitos hialinos	Lesiones en asa de alambre y/o trombos hialinos en < 25 % (1+), 25-50 % (2+) o > 50 % (3+) del glomérulo.	0-3

Creciente celular/fibrocelular	Crecientes celulares y/o fibrocelulares en < 25 % (1+), 25-50 % (2+) o > 50 % del glomérulo.	(0-3) x 2
Inflamación intersticial	Leucocitos intersticiales en < 25 % (1+), 25-50 % (2+) o > 50 % (3+) en la corteza.	0-3
Total		0-24
Puntaje de glomerulosclerosis total	Esclerosis global y/o segmentaria < 25 % (1+), 25-50 % (2+), o > 50 % (3+) del glomérulo.	0-3
Crecientes fibrosos	Creciente fibroso en < 25 % (1+), 25-50 % (2+), o > 50 % (3+) del glomérulo.	0-3
Atrofia tubular	Atrofia tubular en < 25 % (1+), 25-50 % (2+) o > 50 % (3+) de los túbulos corticales.	0-3
Fibrosis intersticial	Fibrosis intersticial en < 25 % (1+), 25-50 % (2+) o > 50 % (3+) en la corteza.	0-3
Total		0-12

PRONÓSTICO

Se han identificado diversos factores de riesgo independientes asociados a mal pronóstico en pacientes con nefritis lúpica dentro de los cuales se encuentran:

- Etnicidad afroamericana, hispanoamericana y latinoamericanos.
- Sexo masculino.
- Edad temprana de presentación.
- Bajo nivel socioeconómico.
- Polimorfismos genéticos.
- Presencia de anti-dsDNA, anticuerpos antifosfolípidos, anticuerpos anti C1q.
- Índices de actividad y cronicidad.
- Niveles elevados de creatinina.
- Síndrome nefrótico.
- Hipertensión persistente.
- Hipocomplementemia.
- Falta de remisión en el primer año.
- Falta de adherencia al tratamiento (27).

TRATAMIENTO

Los objetivos del tratamiento farmacológico en la nefritis lúpica pueden dividirse en:

- a. **Inmunológicos:** inducir y sostener la remisión de la enfermedad.
- b. **No inmunológicos:** Prevención de infecciones, osteoporosis y morbilidad cardiovascular. Control de presión arterial, proteinuria y alteraciones en el perfil lipídico (28).

Criterios de respuesta a enfermedad propuestos por la ACR:

- **Remisión parcial:** Mejoría de tasa de filtración glomerular (TFG) en un 25 % y disminución de la proteinuria en por lo menos un 50 % del valor basal, y lograr un sedimento urinario inactivo (29).
- **Remisión total:** TFG mayor de 90 ml/min/1,73 m² de superficie corporal, proteinuria menor a 500 mg/24 h, sedimento urinario inactivo (ausencia de cilindros hemáticos y leucocitarios y menos de 5 eritrocitos y leucocitos por campo de alto poder) (29).
- **No remisión:** falla para lograr una disminución de la proteinuria \geq 50 % y a menos de 3 gramos al día si los valores iniciales estaban en rango nefrótico, o \leq 1 gramo al día si los valores iniciales estaban en un rango no nefrótico, persistencia de cilindros urinarios y hematuria ($>$ 5 eritrocitos por campo de alto poder) en el sedimento urinario y deterioro en las cifras de creatinina sérica con o sin mejoría en los marcadores serológicos (nivel de C3) por al menos seis meses (30,31).

- **Recaída:** Incremento en la actividad de la enfermedad definido como una elevación de la creatinina en un 25 %, y/o aparición de proteinuria mayor a 1,5 gramos/24 horas si previamente no existía, y/o aparición de síndrome nefrótico (mayor a 3,5 gramos) (32). Cuando exista falla en el tratamiento es necesario verificar el adecuado cumplimiento del mismo, en particular en pacientes jóvenes que pueden presentar mayor dificultad de acople al mismo y aceptación de la enfermedad crónica (33).

El tratamiento actual de la nefritis lúpica es dirigido con base a los hallazgos clínicos e histopatológicos encontrados de la siguiente forma:

- **Nefritis lúpica clase I:** al tratarse de alteraciones exclusivamente histológicas, es decir, en ausencia de manifestaciones clínicas de origen renal no debe suministrarse tratamiento inmunosupresor. Por el contrario, el tratamiento debe elegirse con base en las manifestaciones extrarrenales.
- **Nefritis lúpica clase II:** si la proteinuria es <1gr/día se deben tratar las manifestaciones extrarrenales; en caso de aparición de proteinuria significativa, síndrome nefrótico, hematuria macroscópica o deterioro de la función renal se debe evaluar la posibilidad de evolución histológica e incluso procesos glomerulares asociados pudiendo llegar a necesitar corticoides (hasta 0,5 mg/kg/día) acompañados o no de inmunosupresores (azatioprina, micofenolato) (21,34,35).
- **Nefritis lúpica clase III y IV:** el tratamiento consta de dos fases: una inicial de inducción de remisión, y una de mantenimiento. Durante la fase inicial se recomienda el tratamiento

con glucocorticoides tipo prednisona a dosis de 0,5-1mg/kg/día con una dosis máxima de 60 mg/día. Pero en formas muy agresivas es preferible la utilización de Metilprednisolona intravenosa en dosis de 30 mg/kg/día (máximo 1 gramo) por 3 dosis, seguida de prednisona oral. Se recomienda que el esteroide se acompañe de ciclofosfamida o micofenolato de mofetil. Existen dos regímenes vigentes para el uso de ciclofosfamida: el propuesto por EuroLupus Nephritis Trial (36) que sugiere 500 mg intravenosos (IV) quincenales durante 3 meses y el propuesto por los National Institutes of Health (NIH) que sugiere pulsos mensuales IV de 0,5-1gr/mt² de superficie corporal por 6 meses. Otra alternativa es la utilización de ciclofosfamida oral a dosis de 1 a 2 mg/kg/día por 6 meses, pero se utiliza poco hoy en día por sus efectos colaterales. En cuanto al micofenolato la dosis sugerida para inducción es de 2-3 gr/día durante 6 meses (37). La segunda fase de tratamiento llamada de mantenimiento tiene como fin conseguir una remisión renal completa y evitar exacerbaciones con compromiso renal; para tal fin se ha utilizado Azatioprina a dosis de 1 a 2mg/kg/día, o Micofenolato de mofetil 2gr/día, y en pacientes que no lo toleren por sus efectos colaterales gastrointestinales optar por micofenolato sódico por 360 mg 2 tabletas cada 12 horas. No existe una duración óptima definida para esta fase, el promedio de duración reportado es de 3,5 años (21). (Figura 1.)

A la hora de elegir un fármaco citostático sobre otro es importante tener en cuenta factores como la raza, edad, futuro reproductivo y gravedad del cuadro clínico, en particular estudios realizados han demostrado que personas de raza asiática tienen mejor respuesta a micofenolato con menores dosis; por su parte, las razas negras y

latinos tienen menor respuesta a ciclofosfamida que caucásicos y asiáticos. Por otra parte, en aquellos pacientes que deseen conservar su fertilidad se recomienda el uso de micofenolato (11,19); es válido mencionar que el micofenolato tiene mejor perfil de seguridad en cuanto a efectos adversos, puesto que la ciclofosfamida se ha visto asociada a cistitis hemorrágica, amenorrea, trastornos gastrointestinales y hematológicos entre otros (38). Sin embargo, en términos generales se podría decir que tanto el micofenolato como la ciclofosfamida son igual de eficaces (39).

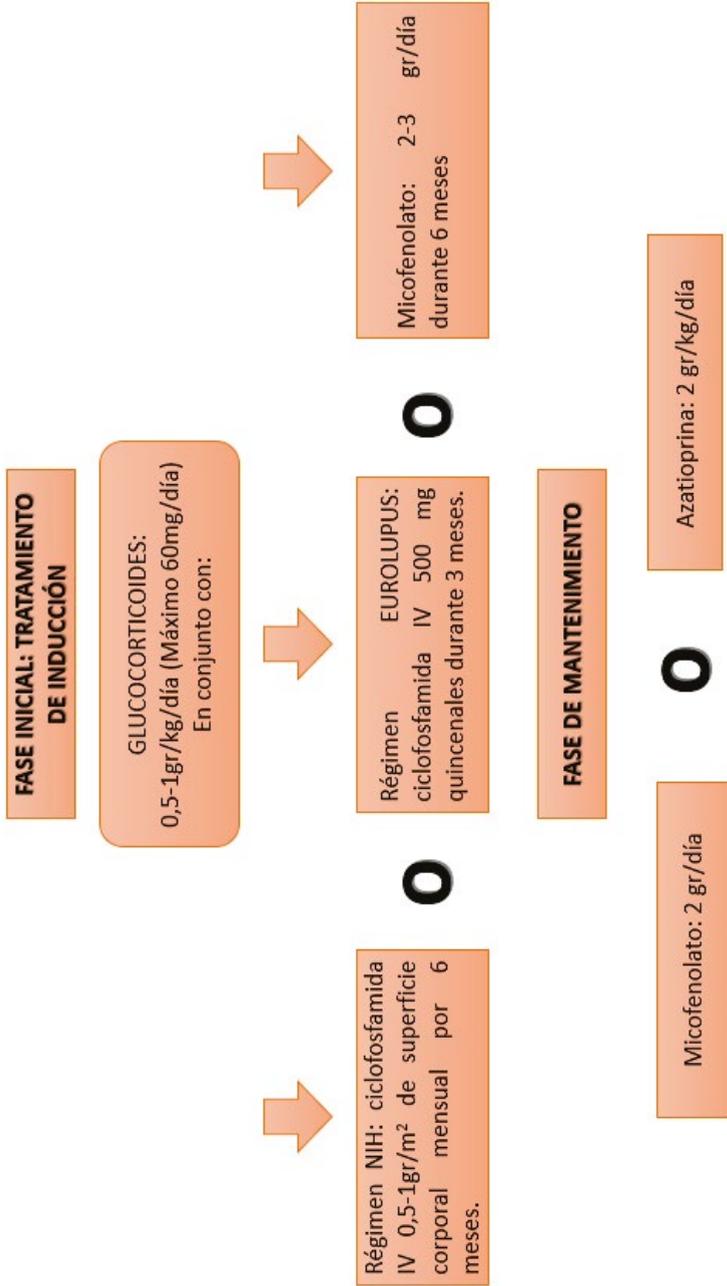


Figura 1. Tratamiento nefritis lúpica clase I y IV

- **Nefritis lúpica clase V:** si hay presencia de proteinuria en rango nefrótico debe iniciarse tratamiento con prednisona a dosis de 1 mg/kg/día máximo 60 mg/día asociado a ciclofosfamida, micofenolato (en ambos casos mismas dosis usadas en clases III y IV), ciclosporina (2-5 mg/kg/día), tacrolimus (0,1-0,2 mg/kg/día) o azatioprina (1,5-2 mg/kg/día); para la inducción terapéutica; posteriormente en la fase de mantenimiento micofenolato, anticalcineurínicos o azatioprina. Por otra parte, si hay proteinuria en rango no nefrótico y la función renal es normal se debe tratar con medicamentos que logren reducir la proteinuria a través de acciones hemodinámicas y no inmunológicas: IECAs, ARA II, antagonistas mineralocorticoides (21,34,40).
- **Nefritis lúpica clase VI:** El tratamiento debe estar orientado hacia las manifestaciones extrarrenales y preparación del paciente para recibir terapia de sustitución renal ya sea diálisis o trasplante (34).

Se recomienda el uso de antimaláricos en pacientes con nefritis lúpica y función renal preservada, puesto que se ha demostrado que la cloroquina e hidroxiclороquina pueden retrasar la progresión de la enfermedad renal, aumentar la duración de la remisión cuando se combina con el manejo inmunosupresor y reduce la dosis acumulada de glucocorticoides (41). Debido a su mejor perfil de seguridad se recomienda la hidroxiclороquina por encima de la cloroquina (42).

Asimismo, es recomendado el uso de fármacos bloqueadores del sistema renina angiotensina aldosterona, con el fin de reducir la proteinuria que se ha visto asociada a mayor progresión de la enfermedad renal (43), dentro de este grupo se incluyen los inhibidores de

la enzima convertidora de angiotensina (IECAs) y los bloqueantes de los receptores de angiotensina II (ARAI). Estos fármacos deben ser utilizados independiente de su actividad hipotensora (44–46).

NEFRITIS LÚPICA RESISTENTE Y RECIDIVANTE

Para considerar el diagnóstico de nefritis lúpica resistente debe haberse realizado el tratamiento por lo menos durante 6 meses y no haber obtenido remisión ni completa ni parcial. En caso de haber iniciado tratamiento con micofenolato y no haber obtenido respuesta debe cambiarse por ciclofosfamida; en caso contrario si no hay respuesta al tratamiento inicial con ciclofosfamida se debe rotar a micofenolato. Mientras que, en caso de recidiva, es decir, nefritis lúpica que aparece posterior a haber obtenido una remisión completa se debe instaurar el mismo tratamiento recibido previamente. Sin embargo, si el paciente se encuentra en tratamiento de mantenimiento con azatioprina se recomienda cambiarlo por micofenolato y si está en manejo de mantenimiento con micofenolato y presenta una recidiva se debe cambiar por ciclofosfamida (34). Una vez agotadas las alternativas anteriores se define que el paciente tiene nefritis lúpica refractaria, y se procede con algunas de las llamadas nuevas terapias.

28

NUEVAS TERAPIAS

Los esquemas utilizados actualmente propuestos por EuroLupus y NIH fracasan en 20 % de los casos (34). Por lo que se deja en manifiesto la necesidad de nuevas terapias que sean eficaces, tengan un perfil de seguridad alto y sean personalizadas. Dentro de los nuevos tratamientos se encuentra:

- **Rituximab:** es un anticuerpo monoclonal quimérico (murino/humano) dirigido al antígeno CD20 que se encuentra

expresado en la superficie de células pre-B y células B maduras, actúa por medio de la inducción de lisis celular mediada por citotoxicidad dependiente del complemento. Estudios realizados han mostrado mejoría en cuanto a índices de actividad, niveles de complemento, anti-DNA, proteinuria, función renal y sedimento urinario, llevando a remisiones de hasta 80 % de los casos entre remisiones parciales y totales (34), no obstante se han reportado tasas de recaída que oscilan entre 38 y 83 %, a pesar de esto la mayoría de los pacientes responden bien a un segundo régimen terapéutico con rituximab (31). En pacientes que desarrollan efectos colaterales a Rituximab se pueden considerar anticuerpos a CD20 humanizados como el Ocrelizumab y Ofatumumab (47–49). En desarrollo se encuentran anticuerpos al CD19 (50); la ventaja en relación con los anteriores es que este receptor se encuentra no solo en células B sino también en plasmablastos y células plasmáticas.

- **Terapia contra células plasmáticas:** Obinutuzumab: es un fármaco anti-CD20 humanizado tipo II que a diferencia del rituximab tiene mayor citotoxicidad dependiente de anticuerpos y fagocitosis, mejores efectos de muerte directa a linfocitos B y menos sujeción a citotoxicidad dependiente del complemento. El estudio NOBILITY mostró como resultados que el tratamiento con obinutuzumab en NL genera depleción rápida y completa de células B periféricas, observándose respuesta similar en células de memoria, células B maduras y plasmablastos, asimismo, la depleción sostenida de células B se asoció con mejor respuesta renal a la semana 76 presentando a su vez niveles más bajos de creatinina y proteinuria en estos pacientes (51).

- **Abatacept y Belatacept:** Son proteínas de fusión compuestas por una inmunoglobulina fusionada al dominio extracelular del antígeno citotóxico de linfocito T CTLA-4, el cual modula selectivamente la vía de señalización CD28-CD80/86 inhibiendo así eventos de coestimulación incluyendo la activación de células T. El Abatacept ha mostrado mejoría en cuanto al ratio proteinuria/creatinina, niveles de anti-dsDNA, C3 y C4 (52).
- **Belimumab:** Es un anticuerpo humanizado anti BAFF/BLYS, el cual inhibe la maduración de las células B. Fue aprobado por la FDA para el tratamiento de Lupus eritematoso sistémico, apoyado en dos grandes pruebas, en las cuales resulto efectivo (53,54). En una reciente revisión sistémica se encontró que en el 55,1% de los pacientes con nefritis lúpica que recibieron Belimumab se logró mejoría en los parámetros renales (55).
- **Terapia combinada con inhibidores de la calcineurina:** Los esquemas con inhibidores de calcineurina asociados a esteroides y citostáticos se han utilizado para inducir remisión, terapia de mantenimiento, o para pacientes con nefritis lúpica refractaria (56,57), se constituye en una propuesta interesante puesto que ataca varias vías moleculares implicadas en el desarrollo de NL. La terapia consiste en la utilización de glucocorticoides, micofenolato y tacrolimus o ciclosporina; estudios realizados han demostrado reducción en proteinuria y mejoría en índices de actividad (58). Los esquemas con inhibidores de calcineurina asociados a esteroides y citostáticos se han utilizado para inducir

remisión, terapia de mantenimiento, o para pacientes con nefritis lúpica refractaria (56,57).

- **Bortezomib:** este fármaco induce lisis celular por medio de inhibición selectiva y reversible de la actividad de la proteasoma 26S. Se ha descrito tras su utilización reducción en índices de actividad, niveles de anti-DNA, hematuria, proteinuria, creatinina sérica y negativización de ANAs (59). Un medicamento con mecanismo de acción semejante, pero de uso oral es el Ixazomib (60).
- **Eculizumab:** es un inhibidor del complemento terminal que se une específicamente a la proteína del complemento C5 con gran afinidad, con lo que inhibe su escisión en C5a y C5b e impide la generación del complejo de ataque de membrana C5b-9. Se ha encontrado con su utilización mejora sostenida de la función renal y normalización de parámetros del complemento (61).

Plasmaféresis, inmunoadsorción, inmunoglobulina o gammaglobulina y globulina antitimocítica han dado lugar a resultados muy variables en pacientes con nefritis lúpica (31).

PROPUESTA DE MODELO DE GESTIÓN DE SALUD DE NEFRITIS LÚPICA PARA COLOMBIA

Este Modelo de Gestión de Salud para NL se diseñó a partir de una revisión de la literatura y del análisis del seguimiento de una cohorte de pacientes atendidos por el servicio de nefrología de la Clínica de la Costa durante dos años. Se diseñó un plan de manejo integral con base en los 30 pacientes muestreados del estudio, desde tres componentes, para tener una visión holística del paciente; dichos componentes son:

1. **Presentación y Evolución Clínica:** Incluye la caracterización sociodemográfica, clínica, histopatológica, plan de tratamiento farmacoterapéutico y seguimiento del paciente durante al menos cinco años.
 2. **Calidad de Vida:** Abordaje de los aspectos psicológicos, materiales e inmateriales que son inherentes a la definición de salud de acuerdo con la OMS.
 3. **Adherencia a las Recomendaciones Médicas:** Seguimiento activo que se le realiza al plan de manejo del paciente y a las intervenciones terapéuticas (tratamiento farmacológico) y no terapéuticas (grupos de apoyo) que se les realizan a los sujetos objetos de estudio.
- Los indicadores obtenidos en dicho trabajo sirven como evidencia de los resultados del seguimiento de los pacientes y las relaciones encontradas entre la evolución clínica, respuesta al tratamiento e impacto socioeconómico medido a través de la Calidad de Vida con GENCAT. Al seleccionar las variables de interés para conformar el modelo se tuvieron en cuenta las siguientes variables independientes que inciden en la gestión de salud de la Nefritis Lúpica (Variable dependiente):

◇ **Demográficas**

- * Edad
- * Sexo

◇ **Clínicas y de Laboratorio**

- * Albúmina
- * Hemoglobina
- * Creatinina Sérica
- * Proteinuria en 24 Horas

- ◇ **Histopatológicas**
 - * Clasificación de la NL
- ◇ **Calidad de Vida**
 - * Bienestar emocional
 - * Relaciones interpersonales
 - * Bienestar material
 - * Desarrollo personal
 - * Bienestar físico
 - * Autodeterminación
 - * Inclusión social
 - * Derechos
 - * Inmunología
 - * C3
 - * Anti-DNA

El Modelo de Gestión de Enfermedad fue diseñado en tres fases, teniendo en cuenta los tres componentes mencionados anteriormente, a partir de la cual surge esta estructura:

- **Primera Etapa:** Descripción del paciente desde el punto de vista clínico y parámetros de laboratorio, aspectos de calidad de vida, caracterización del riesgo, y sociodemográfico, porque era necesario establecer el grado y la severidad de la NL para definir el tipo de tratamiento que cada paciente debe tener de acuerdo con la presentación clínica de la NL y las manifestaciones que esta presenta.
- **Segunda Etapa:** Intervención clínica y psicológica, con la farmacoterapia y calidad de vida, evaluación de esta y medición de resultados cada 12 meses a partir del primer encuentro. Esto con la finalidad de conocer cómo responde el paciente a la terapia estándar y/o ajustada de acuerdo con

los resultados de los parámetros de laboratorio, aspectos de calidad de vida y adherencia.

- **Tercera Etapa:** Integración al Sistema de Gestión de la Calidad de la Clínica de la Costa para el mejoramiento continuo, porque para la definición del propósito, es decir, la elaboración del plan este debe estar direccionado con el sistema de control de calidad. Así mismo, los pacientes ayudaron a la generación del modelo y ajuste a sus necesidades y a la optimización de las rutas de manejo. Dado ese punto se lleva a la creación del plan, entendiendo por tal la fijación de etapas de que consta y su planificación temporal (cronograma). Igual se necesita determinar los recursos, tanto humanos como en especies.

34

Cada una de las fases se compone de actividades específicas que, en conjunto, buscan la identificación e intervención oportuna de los principales factores de riesgo para el desarrollo de NL con el fin de impactar en los desenlaces clínicos definidos como disminución de eventos de hospitalización y complicaciones, disminución del gasto, entre otros. De tal forma que al llevar a la práctica este modelo simultáneo, a la recolección de información de la investigación, se pudo observar lo que a continuación se describe:

Durante la primera fase, todos los pacientes recibieron información acerca de las intervenciones que se les realizarían, de los beneficios esperados con el modelo, y de sus deberes y derechos como pacientes; también recibieron educación en LES y NL, manejo y guía de la ingesta de sus medicamentos, control y talleres de calidad de vida y de adherencia farmacológica. De manera paralela, se inició la identificación de los factores de riesgo para la estratificación y priorización de las intervenciones a realizar en la siguiente fase del modelo.

En la segunda fase, se realizó la intervención de los pacientes, de acuerdo a la caracterización del riesgo; el modelo incluye las valoraciones médicas especializadas de mayor demanda, como son Nefrología (Plan de Manejo Farmacoterapéutico), Psicología (Manejo Psicológico), Enfermería (Plan de Cuidado y Adherencia) y Nutrición (Manejo Alimenticio); durante esta fase se lleva a cabo el seguimiento a los controles, en el cual el paciente acude a la consulta programada de acuerdo a la fecha de su control, y allí se evalúa su calidad de vida, sus datos de laboratorios clínicos y se define la conducta a seguir. Para la adecuada ejecución de esta fase, el modelo propone como pilares fundamentales: la educación del paciente y su familia, así como la gestión de la información clínica y la integración de redes de servicio, porque integra en tiempo real al paciente, médico y equipo de salud en general; este tipo de modelos aseguran la integración del personal tratante, así como de sus compañeros y familiares cuidadores. Los gestores de casos, es decir los médicos nefrólogos tratantes, fueron los impulsores y garantes del desarrollo del modelo, con el concepto integrador de redes de servicios. Ellos gestionan día a día la información relacionada con la estratificación del riesgo de los pacientes, las necesidades de interconsultas y remisiones, los eventos de hospitalización y las solicitudes de exámenes complementarios; para ello cuentan con herramientas automatizadas de información que permiten un proceso ágil de seguimiento y toma de decisiones.

En la tercera fase, se analizan los resultados y se implementan procesos de mejoramiento continuo de cara a alcanzar metas propuestas y brindar a la comunidad en general y clínica nuevas tecnologías para el manejo de la información del paciente y agilizando los tiempos de consulta entre el médico y su paciente, optimizando la calidad del servicio.

Con los resultados obtenidos a través del desarrollo de las tres fases mencionadas anteriormente, se construyó un modelo ajustado a las necesidades de los pacientes.

Como un agregado adicional y por la utilidad demostrada, este modelo, se integró al Sistema de Gestión de la Calidad del Centro de Referencia de la región (Clínica de la Costa). Para evitar la existencia de sesgos diferenciales en cuando al prestador, se han establecido programas de capacitación en servicio y se han empoderado y enrolado a los integrantes de la Red, validando su compromiso (Figura 2) Modelo de Gestión de Salud propuesto.

La etapa inicial comienza con el diagnóstico de acuerdo con la biopsia renal porque es cuando se tiene certeza de la actividad del LES en el riñón, luego de esto se plantea el manejo que se le dará al paciente. Posterior al consentimiento informado, los datos del paciente se registran en NefroRed® todos los parámetros de laboratorio y el tratamiento tanto para NL como para los aspectos de Calidad de Vida afectados, al paciente se le calcula el riesgo de desarrollar IRC (alto, medio, bajo), todos los parámetros son vigilados por el equipo de salud.

Como el manejo de la enfermedad se pretende que sea holístico, tal como se plantea en el modelo aquí presentado, donde cada uno de los aspectos de calidad de vida, los resultados de los parámetros clínicos y de respuesta al tratamiento, el personal de la salud debe ser de diversas áreas de conocimiento. Igualmente, al ser un modelo soportado en la academia, este tiene un componente investigativo en la parte de salud pública y en el área clínica en el caso de los estudios Fase III y IV. Todos los pacientes se encuentran bajo seguimiento vía web-Mobile, que se realiza a través de la red de teléfonos celulares e internet móvil (14).

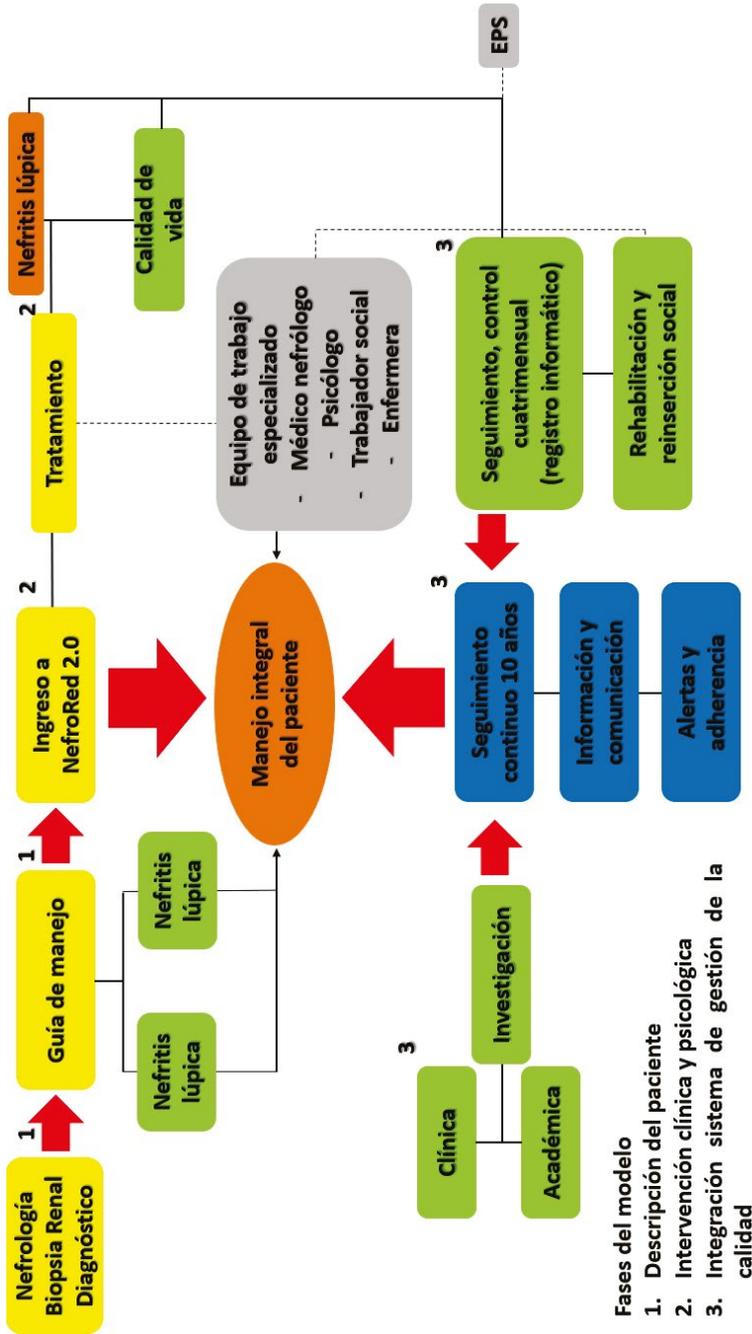


Figura 2. Modelo de gestión de salud propuesto para la NL

Fuente: Aroca (2016)



REFERENCIAS

1. Silvariño DR, Ottati G, Noboa Ó. Nefropatía lúpica. *Rev medica del Uruguay*. 2015;31(1):64-78.
2. Koutsokeras T, Healy T. Systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Natures Rev Drug Discov*. 2014;13(3):173-4.
3. Gurevitz SL, Snyder JA, Wessel EK, Frey J, Williamson BA. Systemic lupus erythematosus: A review of the disease and treatment options. *Consult Pharm*. 2013;28(2):110-21.
4. Zubair A, Frieri M. Lupus nephritis: Review of the LITERATURE. *Curr Allergy Asthma Rep*. 2013;13(6):580-6.
5. Yap DYH, Yung S, Chan TAKMAO. Lupus nephritis: An update on treatments and pathogenesis. *Nephrology*. 2018;23:80-3.
6. Yu F, Haas M, Glassock R, Zhao MH. Redefining lupus nephritis: Clinical implications of pathophysiologic subtypes. *Nat Rev Nephrol*. 2017;13(8):483–95.
7. Mohan C, Putterman C. Genetics and pathogenesis of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis. *Nat Rev Nephrol* [Internet]. 2015;11(6):329–41. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrneph.2015.33>
8. Rees F, Doherty M, Grainge M, Davenport G, Lanyon P, Zhang W. The incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus in the UK, 1999-2012. *Ann Rheum Dis*. 2016;75(1):136–41.
9. Pons-Estel GJ, Ugarte-Gil MF, Alarcón GS. Epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Expert Rev Clin Immunol*. 2017 Aug;13(8):799–814.

10. Pinto P L, Velásquez F C, Márquez H J. Subgrupos de Lupus Eritematoso Sistémico: influencia de la edad de inicio, la raza, el sexo y el perfil de anticuerpos en las manifestaciones clínicas de la enfermedad. *Rev Colomb Reumatol.* 2008;15(4):291–8.
11. Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, Wallace WD, Daikh DI, Fitzgerald JD, et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. *Arthritis Care Res.* 2012;64(6):797–808.
12. HM B, JM R, Jr MG, GS A, AW F, BJ F, et al. Systemic lupus erythematosus in three ethnic groups. XII. Risk factors for lupus nephritis after diagnosis. *Lupus.* 2002;11(3):152–60.
13. Anaya JM, Cañas C, Mantilla RD, Pineda-Tamayo R, Tobón GJ, Herrera-Díaz C, et al. Lupus nephritis in colombians: Contrasts and comparisons with other populations. *Clin Rev Allergy Immunol.* 2011;40(3):199–207.
14. Aroca-Martínez G. Propuesta de un modelo de gestión de salud de la nefritis lúpica. *Universida.* 2017. 43 p.
15. Cervera R, Khamashta M a, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P, et al. Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period: a comparison of early and late manifestations in a cohort of 1,000 patients. *Medicine (Baltimore).* 2003;82(5):299–308.
16. Davidson A. What is damaging the kidney in lupus nephritis? *Nat Rev Rheumatol.* 2016;12(3):143–53.
17. Lech M, Anders H-J. The Pathogenesis of Lupus Nephritis. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2013;24(9):1357–66.

Available from: <http://www.jasn.org/lookup/doi/10.1681/ASN.2013010026>

18. Petri M, Orbai A-M, Alarcón GS, Gordon C, Merrill JT, Fortin PR, et al. Derivation and validation of the Systemic Lupus International Collaborating Clinics classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2012 Aug;64(8):2677–86.
19. Peñaranda LFP. Nefropatía lúpica. *Rev Colomb Nefrol.* 2014;2(1):104–17.
20. Arroyo A, García R, Aroca G, Cadena A, Acosta J. Correlación clínica e inmunohistopatológica de la nefropatía lúpica en un centro de referencia del Caribe colombiano durante los años 2012 a 2013. *Rev Colomb Nefrol.* 2014;
21. Ruiz-Irastorza G, Espinosa G, Frutos MA, Jiménez-Alonso J, Praga M, Pallarés L, et al. Diagnosis and treatment of Lupus nephritis: Consensus document from the systemic auto-immune disease group (GEAS) of the Spanish society of internal medicine (SEMI) and the Spanish society of nephrology (S.E.N.). *Nefrologia.* 2012;32(SUPPL. 1):1–45.
22. Seshan S V., Jennette JC. Renal disease in systemic lupus erythematosus with emphasis on classification of lupus glomerulonephritis advances and implications. *Arch Pathol Lab Med.* 2009;133(2):233–48.
23. Mittal B, Rennke H, Singh AK. The role of kidney biopsy in the management of lupus nephritis. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2005;14(1):1–8.

24. Greloni G, Scolnik M, Marin J, Lancioni E, Quiroz C, Zacarias J, et al. Value of repeat biopsy in lupus nephritis flares. *Lupus Sci Med*. 2014;1(1):1–6.
25. Naranjo LAG, Duque GMV, Uribe OU, Gómez LAR. Nefropatía lúpica. Presentación clínica, clasificación y tratamiento. *Rev Colomb Reumatol*. 2006;13(4):307–33.
26. Bajema IM, Wilhelmus S, Alpers CE, Bruijn JA, Colvin RB, Cook HT, et al. Revision of the International Society of Nephrology/Renal Pathology Society classification for lupus nephritis: clarification of definitions, and modified National Institutes of Health activity and chronicity indices. *Kidney Int*. 2018;93(4):789–96.
27. Alba P. Factores pronósticos en nefritis lúpica. *Rev Arg Reum*. 2014;25(3):6–7.
28. Wakasugi D, Gono T, Kawaguchi Y, Hara M, Koseki Y, Katsumata Y, et al. Frequency of class III and IV nephritis in systemic lupus erythematosus without clinical renal involvement: An analysis of predictive measures. *J Rheumatol*. 2012;39(1):79–85.
29. Appel GB, Mahmood N, Mahmood F, Shumi SI, Siddiqui MMR. Mycophenolate Mofetil versus Cyclophosphamide for Induction Treatment of Lupus Nephritis. *Anwer Khan Mod Med Coll J*. 2018 Mar 1;9(1):63–7.
30. Liang MH, Schur PH, Fortin P, St.Clair EW, Balow JE, Costenbader K, et al. The American College of Rheumatology response criteria for proliferative and membranous renal disease in systemic lupus erythematosus clinical trials. *Arthritis Rheum*. 2006;54(2):421–32.

31. Gonzalez LA, Molina JF, Vasquez GM. Actualidad en el tratamiento de la nefritis lúpica proliferativa Update on the treatment of proliferative lupus nephritis. *Rev Colomb Reumatol.* 2009;16(1):76–96.
32. Roverano S, Schmid M, Paira S. Recaída en nefritis lúpica: factores de riesgo e impacto en el pronóstico en una población de Santa Fe - Argentina. *Rev Argent Reumatol.* 2014;25(2):30–4.
33. Beier UH, Green C, Meyers KE. Caring for adolescent renal patients. *Kidney Int [Internet].* 2010;77(4):285–91. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2009.462>
34. Rivera F, Romera A, Anaya S, Lm G, Vozmediano C. Nefropatía Lúpica. *Nefrol al día [Internet].* 2018; Available from: <http://www.revistanefrologia.com/es-monografias-nefrologia-dia-articulo-nefropatia-lupica-164>
35. Mok CC, Cheung TT, Lo WH. Minimal mesangial lupus nephritis: A systematic review. *Scand J Rheumatol.* 2010;39(3):181–9.
36. Houssiau FA, Vasconcelos C, D’Cruz D, Sebastiani GD, De Ramon Garrido E, Danieli MG, et al. Immunosuppressive therapy in lupus nephritis: The Euro-Lupus Nephritis Trial, a randomized trial of low-dose versus high-dose intravenous cyclophosphamide. *Arthritis Rheum.* 2002;46(8):2121–31.
37. Rivera F. Micofenolato en nefritis lupica. *NefroPlus.* 2009;2(3):1–60.
38. Baltar JM, Marín R, Ortega F. Ciclofosfamida en glomerulonefritis primarias y secundarias. *NefroPlus [Internet].*

- 2010;3:9–15. Available from: <http://www.elsevier.es/es-revista-nefroplus-48-5-pdf-X1888970010000603-S300>
39. Mak A, Cheak AAC, Tan JYS, Su HC, Ho RCM, Lau CS. Mycophenolate mofetil is as efficacious as, but safer than, cyclophosphamide in the treatment of proliferative lupus nephritis: A meta-analysis and meta-regression. *Rheumatology*. 2009;48(8):944–52.
40. Austin HA, Illei GG, Braun MJ, Balow JE. Randomized, controlled trial of prednisone, cyclophosphamide, and cyclosporine in lupus membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20(4):901–11.
41. Lee SJ, Silverman E, Bargman JM. The role of antimalarial agents in the treatment of SLE and lupus nephritis. *Nat Rev Nephrol* [Internet]. 2011;7(12):718–29. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrneph.2011.150>
42. Ruiz-Irastorza G, Ramos-Casals M, Brito-Zeron P, Khamashta MA. Clinical efficacy and side effects of antimalarials in systemic lupus erythematosus: A systematic review. *Ann Rheum Dis*. 2010;69(1):20–8.
43. Sundström J, Arima H, Woodward M, Jackson R, Karmali K, Lloyd-Jones D, et al. Blood pressure-lowering treatment based on cardiovascular risk: A meta-analysis of individual patient data. *Lancet* [Internet]. 2014;384(9943):591–8. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)61212-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(14)61212-5)
44. Masood S, Jayne D, Karim Y. Beyond immunosuppression - challenges in the clinical management of lupus nephritis. *Lupus*. 2009;18(2):106–15.

45. Catapano E, Chiodini P, De Nicola L, Minutolo R, Zamboli P, Gallo C, et al. Antiproteinuric Response to Dual Blockade of the Renin-Angiotensin System in Primary Glomerulonephritis: Meta-analysis and Metaregression. *Am J Kidney Dis.* 2008;52(3):475–85.
46. Tse KC, Li FK, Tang S, Tang CSO, Lai KN, Chan TM. Angiotensin inhibition or blockade for the treatment of patients with quiescent lupus nephritis and persistent proteinuria. *Lupus.* 2005;14(12):947–52.
47. Gomez Mendez LM, Cascino MD, Katsumoto TR, Brakeman P, Brunetta P, Jayne D, et al. Outcome of participants with nephrotic syndrome in combined clinical trials of lupus nephritis. *Lupus Sci Med.* 2019;6(1):1–9.
48. Haarhaus ML, Svenungsson E, Gunnarsson I. Ofatumumab treatment in lupus nephritis patients. *Clin Kidney J.* 2016;9(4):552–5.
49. Narain S, Furie R. Update on clinical trials in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol.* 2016;28(5):477–87.
50. Murphy G, Isenberg DA. New therapies for systemic lupus erythematosus — past imperfect, future tense. *Nat Rev Rheumatol* [Internet]. 2019;15(7):403–12. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41584-019-0235-5>
51. Furie R, Aroca G, Alvarez A, Fragoso-Loyo H, Santillán EZ, Rovin B, et al. A Phase II Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Study to Evaluate the Efficacy and Safety of Obinutuzumab or Placebo in Combination with Mycophenolate Mofetil in Patients with Active Class III or IV Lupus Nephritis. *Arthritis Rheumatol.* 2018;71(10):i636–7.

52. Furie R, Nicholls K, Cheng TT, Houssiau F, Burgos-Vargas R, Chen S Le, et al. Efficacy and safety of abatacept in lupus nephritis: A twelve-month, randomized, double-blind study. *Arthritis Rheumatol.* 2014;66(2):379–89.
53. Navarra S V., Guzmán RM, Gallacher AE, Hall S, Levy RA, Jimenez RE, et al. Efficacy and safety of belimumab in patients with active systemic lupus erythematosus: A randomised, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* [Internet]. 2011;377(9767):721–31. Available from: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)61354-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(10)61354-2)
54. Furie R, Petri M, Zamani O, Cervera R, Wallace DJ, Tegzová D, et al. A phase III, randomized, placebo-controlled study of belimumab, a monoclonal antibody that inhibits B lymphocyte stimulator, in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2011;63(12):3918–30.
55. Sciascia S, Radin M, Yazdany J, Levy RA, Roccatello D, Dall’Era M, et al. Efficacy of belimumab on renal outcomes in patients with systemic lupus erythematosus: A systematic review. *Autoimmun Rev* [Internet]. 2017;16(3):287–93. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2017.01.010>
56. Zhang X, Ji L, Yang L, Tang X, Qin W. The effect of calcineurin inhibitors in the induction and maintenance treatment of lupus nephritis: a systematic review and meta-analysis. *Int Urol Nephrol.* 2016;48(5):731–43.
57. Restrepo Valencia CA, Vélez Álvarez C. Experiencia en la utilización de inhibidores de calcineurina a bajas dosis en el tratamiento de nefritis lúpica refractaria. *Rev Colomb Nefrol.* 2014;1(2):80–91.

58. Dall’Era M. Treatment of lupus nephritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2017;29(3):241–7.
59. Zhang H, Liu Z, Huang L, Hou J, Zhou M, Huang X, et al. The short-term efficacy of bortezomib combined with glucocorticoids for the treatment of refractory lupus nephritis. *Lupus*. 2017;26(9):952–8.
60. Scalzulli E, Grammatico S, Vozella F, Petrucci MT. Proteasome inhibitors for the treatment of multiple myeloma. *Expert Opin Pharmacother* [Internet]. 2018;19(4):375–86. Available from: <https://doi.org/10.1080/14656566.2018.1441287>
61. Sciascia S, Radin M, Yazdany J, Tektonidou M, Cecchi I, Roccatello D, et al. Expanding the therapeutic options for renal involvement in lupus: eculizumab, available evidence. *Rheumatol Int*. 2017;37(8):1249–55.
62. Almaani S, Rovin BH. B-cell therapy in lupus nephritis: an overview. *Nephrol Dial Transplant*. 2019;34(1):22–9.

Cómo citar este capítulo:

Aroca Martínez, G., Vélez-Verbel, M. D. y González-Torres, H. J. (2020). Nefritis Lúpica. En: G. Aroca Martínez y E. Navarro Quiroz (Edit.) *Avances investigativos en Nefritis Lúpica* (pp.9-46) Barranquilla: Ediciones Universidad Simón Bolívar.

CAPÍTULO 2

GENÉTICA NEFRITIS LÚPICA

Fernando De la Cruz¹
Roberto Navarro Quiroz²
Elkin Navarro Quiroz³

GENERALIDADES Y ASPECTOS GENÉTICOS DEL LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO (LES)

LES es el prototipo de las enfermedades autoinmunes. La incidencia de LES varía entre los grupos étnicos, ubicación geográfica, sexo y edad. La prevalencia del LES en la población general es de aproximadamente 20 a 150 casos por cada 100.000 personas (20), afecta principalmente a las mujeres, con una relación femenina: masculino de 3:1 antes de la pubertad y de 9:1 después de esta. Se estima que el 15-17 % de todos los casos de LES inician en la edad pediátrica (LESp) y se ha sugerido que en población hispana y afroamericana esta proporción es mayor (21).

-
- 1 Universidad Simón Bolívar, Barranquilla, Colombia.
 - 2 Universidad Simón Bolívar, Barranquilla, Colombia.
 - 3 CMCC- Centro de Matemática, Computação e Cognição, Laboratório de Biologia Computacional e Bioinformática – LBCB, Universidade Federal do ABC, Sao Paulo, Brasil.

El componente genético en LES se fundamenta principalmente en la agregación familiar (10-20 %), la alta concordancia en gemelos monocigotos (24-58 %), que es aproximadamente 10 veces mayor que en gemelos dicigotos (2-5 %), datos que permiten estimar que la fracción de la enfermedad que puede ser atribuible a los genes (heredabilidad) estimándola aproximadamente en el 66 % y que el riesgo de los hermanos de padecer LES (λ_s) es relativamente más alto ($\lambda_s = 8-29$) que para otras entidades autoinmunes. De hecho, se estima que la prevalencia del LES en los familiares de primer grado es 66 veces mayor que en la población general (2,64 vs 0,04 por 100 afectados con LES e individuos sanos, respectivamente) (21).

48

Como en todas las enfermedades multifactoriales, para la identificación de los genes involucrados en el LES se han utilizado principalmente los estudios de ligamiento, asociación y expresión, los cuales deben analizarse de manera conjunta para validar los hallazgos. En los estudios de asociación y expresión se utilizan dos estrategias principales: análisis de genes candidato y escaneo completo del genoma. Actualmente, la investigación genética de las enfermedades complejas se basa en la búsqueda de variaciones genéticas asociadas a su prevalencia y que puedan estar involucradas en su etiopatogenia, principalmente a nivel de los SNPs (22,23). Estos polimorfismos son los marcadores ideales para el mapeo de genes, especialmente en estrategias de asociación, y se pueden caracterizar con precisión con herramientas moleculares relativamente accesibles. Se estima que existen casi 20 millones, de los cuales alrededor de 12 millones son conocidos y están disponibles en bases de datos públicas (<http://www.ncbi.nih.gov/SNP/>) (21).

Las variaciones fenotípicas humanas son en gran medida causadas por el alto grado de variabilidad inter e intra individual que presenta

el genoma humano tanto en el nivel genético como en el epigenético (24). Aproximadamente el 50 % de la variabilidad de secuencia en el ADN se debe al polimorfismo de nucleótido simple y el otro 50 % se manifiesta como variaciones en la disposición genómica en escalas más grandes. Las variaciones epigenéticas, se muestran en forma de modificaciones químicas al ADN como grandes patrones de proteínas de ADN distribuidos en el genoma. Gran parte de las modificaciones mencionadas son de difícil acceso a las tecnologías genéticas actuales y futuras, especialmente cuando es necesario el análisis simultáneo. El análisis de las secuencias de ADN muestra cambios considerables entre individuos, y muchas de las variaciones en el genoma humano se deben al polimorfismo de nucleótido simple SNPs del cual se cree que proporciona una base genética para enfermedades hereditarias y adquiridas, y que se considera un factor clave de diversas respuestas a tratamientos farmacológicos. Unos 10 millones de SNPs existen en las poblaciones humanas, donde el alelo menos frecuente SNP tiene una frecuencia de al menos 1 %. Una región del cromosoma puede contener muchos SNPs, pero solo unos pocos SNPs “etiqueta” proporcionan información sobre el patrón de variación genética en la región (25). Recientemente varios multianálisis han concertado los estudios más relevantes relacionados con los sistemas genéticos y sus variantes genéticas asociados a la carga genética y/o la susceptibilidad al desarrollo del LES. Para mayor información se relaciona la Tabla 1 modificada de la referencia (26).

Tabla 1. Sistemas genéticos y variantes asociadas a LES a través de GWAS

Gen	Ubicación Cromosoma	Variante	Población
IKBKE	1q32.1	rs1539241/rs12142086	Europeos
TNIP1	5q32	rs10036748	Europeos, Afroamericanos Asiáticos
TNFAIP3	6q23	rs2230926	Europeos, Afroamericanos Asiáticos

SLC15A4	12q24.32	rs1385374	Asiáticos
UBASH3A	21q22.3	rs9976767	Europeos
UBE2L3, HIC2	22q11.21	rs463426	Europeos Asiáticos
IRAK1/MECP2	Xq37	rs1734787	Europeos Asiáticos Hispanoamericanos
Genes del Complemento	1q36	Múltiples	Europeos
IL-2/IL-21	4q26	rs907715	Europeos, Afroamericanos Asiáticos
ATG5	6q21	rs548234	Europeos Asiáticos
ITGAM	16p11.2	rs9888739	Europeos Asiáticos Hispanoamericanos
DNase 1	16p13.3	rs8176927	Asiáticos Árabes
ACP5/TRAP	19p13.2	rs79525531	Hispanos
Mir146a	6q5	rs57095329	Europeos, Afroamericanos Asiáticos
ZBP2	17q12	rs1453560	Europeos Asiáticos
IFIH1	2q24	rs1990760	Europeos
STAT4	2q23.2	rs7582694	Europeos, Afroamericanos Asiáticos Hispanoamericanos
RASGRP3	2p24.1	rs13385731	Asiáticos
PRDM1	6p21 rs6568431	rs6568431	Europeos
RF5/TNPO3	7q32	rs12537284	Europeos, Afroamericanos Asiáticos Hispanoamericanos
PHRF1/IRF7/ KIAA1542	11p15.5	rs4963128	Europeos Asiáticos
IRF8	16q24.1	rs116440334	Europeos
TLR7	Xp22.3	rs3853839	Europeos Asiáticos
UHRF1BP1	6p21	rs11755393	Europeos
TNXB	6p21.32–33	rs310342	Asiáticos
PXK	3p14.3	rs6445975	Europeos
HIP1	7q11	rs6964720	Asiáticos
NCF2	1q25	rs17849502	Europeos Asiáticos
IL-10	1q31-q32	rs3024505	Europeos, Afroamericanos Asiáticos
BANK1	4q24	rs10513487	Europeos, Afroamericanos Asiáticos Hispanoamericanos
BLK	8p3	rs7812879	Europeos Afroamericanos Asiáticos Hispanoamericanos

LYN	8q13	rs7829816	Europeos Afroamericanos Asiáticos
ELF1	13q13	rs7329174	Asiáticos
PRKCB	16p11.2	rs16972959	Asiáticos
IKZF3	17q21	rs8079075	Europeos Afroamericanos Hispanoamericanos
CD40	20q12	rs4810485	Europeos
PTPN22	1p13.2	rs2476601	Europeos Hispanoamericanos
TNFSF4	1q25	rs2205960	Europeos Asiáticos Hispanoamericanos
AFF1	4q21	rs340630	Asiáticos
IKZF1	7p13	rs4917014	Europeos Asiáticos
ETS1	11q24.3	rs6590330	Asiáticos
CSK	15q24.1	rs3433034	Europeos
TYK2	19p13.2	rs280519	Europeos
SH2D1A	Xq25	rs2049995	Asiáticos
CRP	1q21	rs3093061	Europeos Afroamericanos
Genes HLA	6p21.32–33	rs1270942 rs2647012 rs2187668 rs2301271 rs9271100 rs3135394 rs3131379	Europeos Afroamericanos Asiáticos Hispanoamericanos
CD44, PDHX	11p13	rs507230	Europeos Afroamericanos Asiáticos
TMEM39A	3q13.33	rs1132200	Europeos Asiáticos
TREX1	3p21.31	rs3135945	Europeos
PITG1	5q33.3	rs2431697	Europeos
JAZF1	7p15.2	rs849142	Europeos
XKR6	8p23.1	rs6985109	Europeos
C8orf12	8p23.1	rs7836059	Europeos
LRRC18, WDFY4	10q11.23	rs1913517	Asiáticos
VKORC1	16p11.2	rs9934438	Asiáticos
CLEC16A	16p13 17q21	rs12599402 rs1453560	Asiáticos Europeos Afroamericanos
Gen del VDR	12q13.11	rs22285670 rs7975232 rs731236 rs1544410	Anglosajones, Caucásicos Caucasoides

Fuente: Modificada de referencia
(Harley et al., 2008; James, 2014; Teruel & Alarcon-Riquelme, 2016)

GENERALIDADES DE LA NEFRITIS LÚPICA (NL)

Una de las manifestaciones más graves del LES es la nefritis lúpica (NL), que sigue siendo una causa de morbilidad y mortalidad sustancial, ya sea secundaria a la enfermedad renal, o como resultado de la toxicidad intensa de los fármacos inmunosupresores (29,30). La aparición del LES en la mayoría de las poblaciones ocurre más comúnmente durante la tercera y cuarta década de vida y un poco más tarde en las poblaciones de ascendencia europea. Aproximadamente el 15-20 % de los pacientes experimentan el LES antes de los 18 años de edad. La frecuencia de la afectación renal es particularmente alta en el LES juvenil, esta oscila entre el 50 % y el 80 % en la mayoría de las cohortes descritas hasta la fecha (31,32) y no difiere con la etnia (33). Por el contrario, NL es menos frecuente en los pacientes con aparición tardía de LES (≥ 50 años), con menos del 30 % de los pacientes afectados (34). La enfermedad renal puede ser la primera manifestación de LES, pero ocurre con mayor frecuencia dentro de un año de diagnóstico y casi siempre en 5 años, pero puede suceder en cualquier momento a lo largo de la enfermedad (35). La prevalencia estandarizada por edad difiere significativamente según el origen étnico, siendo 3,5/105 para el blanco, 13,3 para el indoeuropeo, 64,6 para el afrocaribeño y 66,7 para el chino. Esto está de acuerdo con numerosos estudios de cohortes que demuestran que los pacientes con LES de ascendencia europea tienen la menor frecuencia de enfermedad renal (20-45 %) (36)(37), mientras que el 50-70 % de los pacientes con LES presentan nefritis en afroamericanos y ciertas poblaciones asiáticas, árabes, hispanas, indígenas y mestizas (38). Se ha identificado la ascendencia africana como un predictor independiente de desarrollar enfermedad renal en cualquier momento durante el curso de la enfermedad, particularmente en las proximidades del diagnóstico de LES en varias cohortes

multiétnicas (39,40). Diversos factores demográficos, serológicos, clínicos y genéticos también han sido implicados (41), las variables socioeconómicas se identificaron como factores de riesgo para el desarrollo de NL (42,43); La variable “etnia” se explica en parte por la mezcla, en particular de los genes ancestrales afroamericanos, y en parte por una medida compuesta del nivel socioeconómico, pero al menos el 45 % de esta variable permaneció sin explicación (44). En general, la combinación de las variables etnicidad y situación socioeconómica representan sólo alrededor del 22 % de la variabilidad en la ocurrencia de la afectación renal. En varios estudios de cohortes, los pacientes con LES masculino se demostró que tienen más participación renal y peor resultado en comparación con sus contrapartes femeninas (45,46). Sin embargo, esta disparidad de género no se muestra en otras cohortes (47,48).

CLASIFICACIÓN HISTOLÓGICA DE LA NEFRITIS LÚPICA

53

La glomerulonefritis (GN) es la forma más común de enfermedad renal en pacientes con LES, pero frecuentemente está acompañada de lesiones tubulointersticiales y/o vasculares (como la trombosis secundaria al síndrome antifosfolípido). Una variedad de otras nefropatías, incluyendo amiloidosis renal, glomeruloesclerosis segmentaria focal, enfermedad de cambio mínimo, nefropatía IgA e IgM, glomerulitis necrotizante, también se han descrito en pacientes con LES (49). La nefritis lúpica puede presentarse como síndrome nefrítico y/o nefrótico con diversas combinaciones de edema, síntomas constitucionales, proteinuria, hematuria, función renal alterada, perfil lipídico anormal e hipertensión. La presentación clínica no se correlaciona muy bien con el tipo y la gravedad de los hallazgos histológicos de la biopsia renal. Por lo tanto, las biopsias de riñón siguen

siendo el estándar de oro para establecer el diagnóstico de NL, para determinar la actividad y cronicidad de la enfermedad y la formulación del tipo adecuado de tratamiento (50).

Los cambios histológicos encontrados en las muestras de biopsia de los riñones de NL son muy diversos, desde una ligera afectación mesangial, a través de formas proliferativas de GN hasta fibrosis terminal, incluyendo lesión endotelial, proliferación endocapilar y NL membranosa caracterizada por lesión podocitaria y lesión de pared capilar no proliferativa. Es importante destacar que varias combinaciones de estas lesiones pueden coexistir. En consecuencia, se han realizado varios intentos de clasificar las biopsias de NL según el patrón más destacado de anomalía histológica, primero por la OMS y más recientemente por la Sociedad Internacional de Nefrología y la Sociedad de Patología Renal (ISN/RPS) (51), el sistema de clasificación se describe a continuación.

54

Tabla 2. Clasificación de la Nefritis Lúpica, Modificada de (Contreras-Fariñas, Ibañez-Clemente, Roldán-Valenzuela, & Torres-de Castro, 2014; Weening, 2004)

Clase	Nombre	Descripción
Clase I	Nefritis lúpica mesangial mínima	Glomérulos normales por microscopía óptica (MO), pero con depósitos inmunes mesangiales por inmunofluorescencia (IF).
Clase II	Nefritis lúpica proliferativa mesangial	Hiper celularidad mesangial pura de cualquier grado, o expansión de la matriz mesangial (MO), con depósitos inmunes mesangiales. Puede haber algunos depósitos aislados subepiteliales o subendoteliales, visibles por IF o microscopía electrónica (ME), no por MO.
Clase III	Nefritis lúpica focal	Glomerulonefritis (GN) focal, endo o extracapilar, global o segmentaria, activa o inactiva, comprometiendo < 50 % de todos los glomérulos, típicamente con depósitos inmunes subendoteliales focales, con o sin alteraciones mesangiales.
	Clase III A	Lesiones activas: nefritis lúpica proliferativa focal
	Clase III A/C	Lesiones crónicas y activas: nefritis lúpica proliferativa y esclerosante focal
	Clase III C	Lesiones crónicas inactivas con cicatrices glomerulares: nefritis lúpica esclerosante focal

Clase IV	Nefritis lúpica difusa	GN difusa, endo o extracapilar, global o segmentaria, activa o inactiva, comprometiendo ≥ 50 % de todos los glomérulos, típicamente con depósitos inmunes subendoteliales difusos, con o sin alteraciones mesangiales. Esta clase se divide en nefritis lúpica difusa segmentaria (IV-S) cuando > 50 % de los glomérulos comprometidos tienen lesiones segmentarias, y difusa global (IV-G) cuando > 50 % de los glomérulos afectados tienen lesiones globales.
	difusa Clase IV-S (A)	Lesiones activas: nefritis lúpica proliferativa difusa segmentaria
	Clase IV-G (A)	Lesiones activas: nefritis lúpica proliferativa difusa global
	Clase IV-S (A/C)	Lesiones crónicas y activas: nefritis lúpica proliferativa difusa segmentaria y esclerosante
	Clase IV-G (A/C)	Lesiones crónicas y activas: nefritis lúpica proliferativa difusa global y esclerosante
	Clase IV-S (C)	Lesiones crónicas inactivas con cicatrización: nefritis lúpica esclerosante difusa segmentaria
	Clase IV-G (C)	Lesiones crónicas inactivas con cicatrización: nefritis lúpica esclerosante difusa global
Clase V	Nefritis lúpica membranosa	Depósitos inmunes subepiteliales globales o segmentarios, o su secuela morfológica, por MO y por IF o ME, con o sin alteraciones mesangiales. Puede ocurrir en combinación con clase III o IV en cuyo caso ambas deben ser diagnosticadas. Puede mostrar grados avanzados de esclerosis.
Clase VI	Nefritis lúpica esclerosante avanzada	≥ 90 % de los glomérulos globalmente esclerosados sin actividad residual

GENÉTICA DE LA NEFRITIS LÚPICA

55

La gravedad del LES varía entre los grupos étnicos, siendo más grave en las poblaciones no europeas (38,53). La agregación familiar de LES ha sido ampliamente documentada, y la mayoría de los pedigrís apoyan una herencia compleja no Mendeliana (54). Estos hechos apoyan firmemente la noción de una contribución genética poligénica a la patogénesis del LES.

Estudios de asociación de genoma completo (GWAS) y estudios de genes candidatos han reportado numerosos genes de riesgo para LES, incluyendo loci en genes funcionales en el sistema inmune innato y adaptativo (28,55). Algunos de estos genes también están estrechamente asociados con NL. Sin embargo, la mayoría de estos estudios de asociación no están enfocados en el fenotipo de nefritis, por lo que es poco lo que se sabe acerca de qué genes pueden predisponer a dicho

endotipo. Algunos estudios recientes cuyo objetivo a estado direccionado a la identificación específica de genes responsables de nefritis lúpica han podido identificar genes de función renal que se asocian con NL, pero que no se han podido asociar con la susceptibilidad de LES (56,57). Aunque los mecanismos funcionales exactos de estos genes candidatos relacionados con nefritis permanecen poco claros, parece que la base genética de NL implica una combinación de genes de susceptibilidad LES y que son de gran importancia en el sistema inmunológico y genes que son más específicos del riñón y que predisponen específicamente a NL. (Figura 1).

56

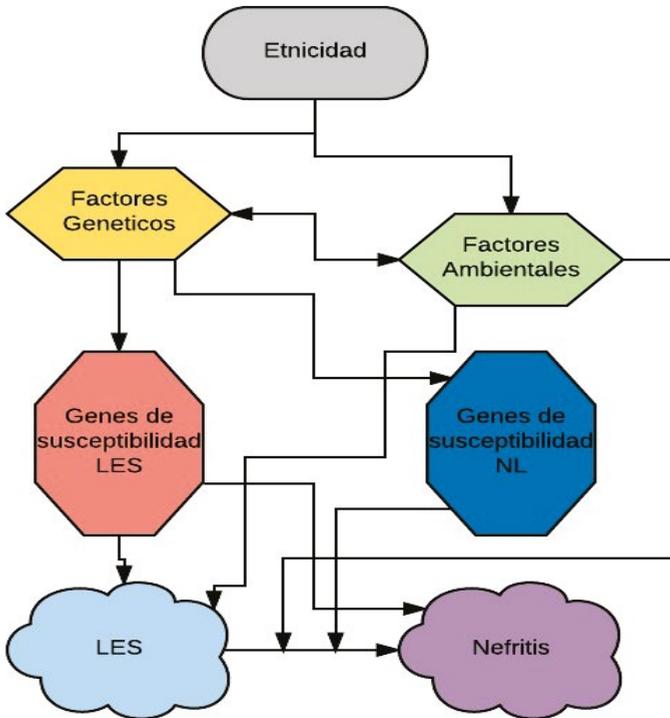


Figura 1. Interacciones entre múltiples factores que predisponen a NL

Fuente: Modificado de (Iwamoto & Niewold, 2016)

GENES DE RIESGO A NEFRITIS LÚPICA Y POSIBLES FUNCIONES

La mayoría de los genes de riesgo de NL han sido analizados en los estudiosLa mayoría de los genes de riesgo de NL han sido analizados en los estudios de genes candidatos, luego de haber sido identificados en GWAS como factores de riesgo de LES, partiendo de la hipótesis de que los genes de susceptibilidad a LES pueden ser genes de riesgo para nefritis lúpica (28,55).

Estudios recientes han examinado de forma directa el fenotipo nefritis lúpica, comparando pacientes que han desarrollado NL y pacientes que no han desarrollado el fenotipo.

GENES DE SUSCEPTIBILIDAD A LES ASOCIADOS CON NEFRITIS LÚPICA (NL)

Gen ITGAM

Este gen codifica la cadena alfa M de la integrina. Las integrinas son proteínas de membrana integrales heterodiméricas compuestas por una cadena alfa y una cadena beta. El gen ITGAM se encuentra en el cromosoma 16 humano. Codifica la integrina CD11b (alfa M) que es una subunidad que compone la integrina alfa M beta-2 (también llamada complemento del receptor 3 o Mac-1). La integrina alfa M beta 2 es importante en la adherencia de los neutrófilos y monocitos al endotelio estimulado, así como en la fagocitosis de las partículas recubiertas de complemento. Se han encontrado múltiples variantes de transcripción que codifican diferentes isoformas para este gen.

Vista genómica del Gen ITGAM

Ubicación genómica para el gen: Cromosoma 16

Tamaño: 72,926 bases

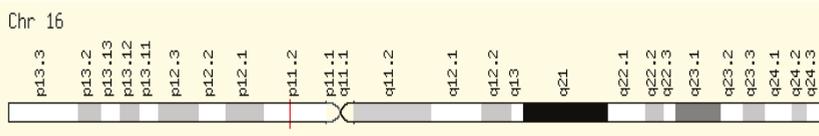


Figura 2. Ubicación genómica del gen ITGAM

Fuente: Tomada de (“GeneCards - Human Genes | Gene Database | Gene Search”, n.d.)

58

Un SNP no sinónimo (rs1143679) en el gen ITGAM da lugar a un cambio de arginina (R) a histidina (H) en la posición 77 (R77H). Los monocitos primarios humanos que portaban el alelo 77H mostraron una capacidad reducida de fagocitosis a las partículas opsonizadas con iC3b (60). Los monocitos con el alelo 77H tampoco reprimieron la producción de citocinas inflamatorias tales como la interleucina (IL) -1b, la IL-6 y el factor de necrosis tumoral alfa, cuando se estimulaban con ligandos del receptor tipo toll (TLR). La asociación del gen ITGAM con la susceptibilidad a LES ha sido bien establecida (61). Asociaciones de variantes de ITGAM con afectación renal en pacientes con LES también se ha demostrado en varios estudios (62,63). Yang et al. Reportaron una mayor prevalencia de NL en pacientes con LES que portaron la variante R77H en pacientes de Hong Kong, en comparación con pacientes con LES sin NL (OR = 3,35, $p = 0,029$).

Recientemente, dos estudios, diseñados con el objetivo de identificar la asociación entre las variantes genéticas y NL, también permitieron confirmar al gen ITGAM, como un gen de susceptibilidad para NL (63). Colectivamente, la función defectuosa del receptor del complemento debido a estas variantes puede resultar en el aclaramiento incompleto de los depósitos glomerulares, y facilitar un ambiente proinflamatorio en el riñón que conduce a NL. Curiosamente, mientras que muchos de los otros genes de susceptibilidad A LES

se comparten con otras enfermedades autoinmunes, ITGAM parece ser un factor de riesgo genético específico de LES (con la posible excepción de la esclerosis sistémica) (64). Esto podría indicar un papel específico para ITGAM en la patogénesis de LES y NL, en lugar de un rol proinflamatorio más general o alteración global en la función fagocítica, pero se necesita más investigación.

Gen FCGR

El locus del gen FCGR se localiza en el cromosoma 1 humano y codifica los receptores gamma Fc (FcγRs). Un papel clave de FcγRs es eliminar los complejos inmunes (CI) (65), FcγR2A y FcγR3A se expresan en las células presentadoras de antígeno (por ejemplo macrófagos y células dendríticas).

Vista genómica para el gen FCGR

Ubicación genómica para el gen: Cromosoma 1

Tamaño: 18,634 bases

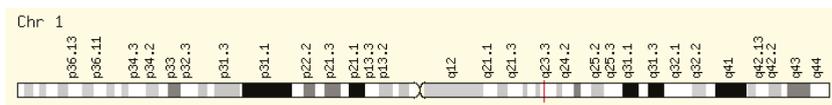


Figura 3. Ubicación genómica del gen FCGR

Fuente: Tomada de (“GeneCards - Human Genes | Gene Database | Gene Search”, n.d.).

En pacientes con LES se ha encontrado que existe una depuración defectuosa de las células apoptóticas, esto contribuye a la patogénesis de la enfermedad (66,67). El fracaso de la fagocitosis apropiada permitirá a las células apoptóticas proceder a la necrosis secundaria resultando en la liberación de autoantígenos nucleares, lo que debería conducir a una mayor formación de complejos inmunes cuando se combina con los anticuerpos antinucleares asociados a

LES. Hay un receptor de alta afinidad (FcγR1) y dos receptores de baja afinidad (FcγR2A y FcγR3) que son FcγRs de tipo activador, y hay un FcγR de tipo inhibitorio conocido como FcγR2b. Cada uno de estos receptores tiene una afinidad de unión diferente a las subclases de IgG y están presentes en el interior de las células mieloides (68). Asociaciones genéticas entre variantes en los receptores de baja afinidad FcγR (FcγR2A y FcγR3A) y LES se han informado (69). FcγR2A y FcγR3A también se han logrado asociar con NL (70,71).

Un SNP no sinónimo (rs1801274) de FCGR2A que codifica un cambio de alelo G-a-A en la posición 131 da lugar a un cambio de aminoácido de arginina (R) a histidina (H). Estos alelos, 131R y 131H, tienen capacidad de unión diferente para IgG2. Las células que son homocigóticas para el alelo de histidina (131H/H) se unen fuertemente a IgG2, y las células que son homocigóticas para el alelo de arginina (131R/R) muestran una reducción en la capacidad de unión para complejos inmunes opsonizados de IgG2 (131H/R tiene capacidad de unión intermedia). Zúñiga et al. Identificaron que la frecuencia del alelo FCGR2A 131R era significativamente mayor en pacientes con NL con una deposición intensa de IgG2 en el riñón (72). Además, la frecuencia de homocigotos FCGR2A 131 R/R se incrementó en la población de NL en comparación con la glomerulonefritis idiopática no proliferativa (73). Estos datos sugieren que el alelo FCGR2A 131R da lugar a un aclaramiento disfuncional de los complejos inmunes opsonizados con IgG2, lo que podría permitir una mayor deposición de complejos inmunes en el riñón y un aumento de la inflamación.

Además, SNP no sinónimo (rs396991) de FCGR3A que codifica el cambio de alelo T a G en el nucleótido 559 da como resultado una conversión de aminoácidos de fenilalanina (F) a valina (V) (65).

FcγR3A-158 V se une a IgG1, IgG3 e IgG4 en mayor afinidad en comparación con el alelo 158F (65). Varios informes, incluyendo artículo de metanálisis, revelan que el alelo FCGR3A 158F está fuertemente asociado con NL (70,71,74). Aunque en la reciente gran cohorte de lupus multiétnico, los pacientes con LES que eran homocigotos para FCGR3A 158 V/V progresaron a enfermedad renal en etapa terminal (ESRD) con más frecuencia que con los genotipos 158 F/V o 158 F/F (21,9 % frente a 7,5 % $p = 0,0175$) (75). Lo anterior explica que para iniciar una nefritis lúpica puede ser necesaria una baja capacidad de unión de IgG FCGR3A (es decir, 158F/F), mientras que una alta unión a IgG FCGR3A (es decir, 158 V/V) puede desempeñar un papel importante en la aceleración de la inflamación de NL y de esta forma evolucionar hacia ESRD.

Gen IRF5

El gen IRF5 se localiza en el cromosoma 7 humano y codifica el factor 5 de regulación del interferón (IRF5), que es un factor de transcripción que induce la expresión de genes inflamatorios y los genes relacionados con el interferón tipo I (IFN).

Vista genómica para el gen IRF5

Ubicación genómica para el gen: Cromosoma 7

Tamaño: 12,431 bases



Figura 4. Ubicación genómica del gen IRF5

Fuente: Tomada de (“GeneCards - Human Genes | Gene Database | Gene Search”, n.d.).

La asociación genética entre IRF5 y LES se informó por primera vez por Sigurdsson et al. En 2005 (76). Otros estudios demostraron que un haplotipo que contiene múltiples elementos genéticos funcionales se asoció fuertemente con LES (77,78). Se sabe que el interferón tipo I desempeña un papel crítico en la patogénesis del LES (79) y el haplotipo de riesgo de IRF5 se asoció con una mayor actividad de IFN alfa en presencia de autoanticuerpos (80). Los pacientes con LES que portan el haplotipo de riesgo de IRF5 también tienen una expresión elevada de la proteína IRF5 (81). Además, el gen IRF5 se ha asociado con la formación de autoanticuerpos en los pacientes con LES y en individuos sanos (82,83). Este mismo haplotipo de riesgo también se identificó como un locus de susceptibilidad NL fuertemente asociado con nefritis proliferativa e insuficiencia renal severa en pacientes con LES (35). Aunque no se sabe exactamente cómo el genotipo IRF5 contribuye a la nefritis, este gen afecta tanto a la formación de autoanticuerpos como al IFN tipo I, y estos factores pueden contribuir.

62

Gen TNIP1

El gen TNIP1 se encuentra en el cromosoma 5 humano y codifica la proteína A20 vinculante e inhibidor de NF-kappaB 1 (ABIN1). La proteína de unión a la ubiquitina ABIN1 es una proteína adaptadora de la familia ABIN que coopera con A20/TNFAIP3 para limitar las respuestas inflamatorias. A20 es una proteína de edición de ubiquitina que inhibe el factor de transcripción NFkappaB (84,85), siendo un factor clave en el proceso inflamatorio.

Vista genómica para el gen TNIP1

Ubicación genómica para el gen: Cromosoma 5

Tamaño: 63,635 bases



Figura 5. Ubicación genómica del gen TNIP1

Fuente: Tomada de (“GeneCards - Human Genes | Gene Database | Gene Search”, n.d.)

Caster et al. Encontró que en ratones knockin que expresa ABIN1 [D485N], una forma inactiva ABIN1, desarrolla glomerulonefritis similar a la NL clase III y IV en el humano con una mayor activación de NFkappaB y MAPK (proteína quinasa activada por mitógenos) (86).

En humanos algunas variantes en el gen TNIP1 se han asociado como loci de susceptibilidad para él LES en poblaciones multiétnicas (rs7708392 y rs10036748) (87,88). También se han identificado variante en el gen TNIP1 que son consideradas como loci de susceptibilidad a NL en caucásicos (rs7708392) (35), en euroamericanos (rs7708392) y en afroamericanos (rs4958881) (86). Otro estudio reveló la asociación de (rs7708392) con NL en la población japonesa (89). Por lo tanto, las variantes de TNIP1 pueden estar parcialmente implicadas en la patogénesis de NL reduciendo la expresión de la proteína ABIN1 y causando la desregulación de las vías de NF-kappaB.

Gen STAT4

El gen STAT4 se encuentra en el cromosoma 2 humano y codifica el transductor de señal y los activadores de la transcripción-4 (STAT4). STAT4 es conocido como un gen de susceptibilidad para LES (90).

Vista genómica para el gen STAT4

Ubicación genómica para el gen: Cromosoma 2

Tamaño: 216,597 bases



Figura 6. Ubicación genómica del gen STAT4

Fuente: Tomada de (“GeneCards - Human Genes | Gene Database | Gene Search,” n.d.).

64

En 2008, un gran estudio realizado por Taylor et al. Demostró las asociaciones entre STAT4 (rs7574865) y la presencia de NL y anticuerpos anti-dsDNA en cohorte de ascendencia europea con LES (Taylor et al., 2008). Recientemente un estudio confirmó la asociación de STAT4 con el desarrollo de nefritis proliferativa, un subtipo severo de NL (Bolin et al., 2013). En otro estudio de Japón se confirmó la asociación de STAT4 (rs7574865) en pacientes de LES con NL y en LES sin NL (Kawasaki et al., 2008). La asociación fue más fuerte en los pacientes de LES con presencia de NL y anticuerpos anti-dsDNA, pero el pequeño tamaño de la muestra impidió una fuerte significancia estadística para esta comparación (Kawasaki et al., 2008).

Anaya et al (Palomino-Morales et al., 2008). Realizaron un estudio de casos y controles que incluyó 839 individuos pertenecientes a una población colombiana bien definida y homogénea y en los que se examinaron polimorfismos STAT4. El objetivo de este estudio fue determinar la influencia del polimorfismo del gen STAT4 (rs7574865) en el riesgo de desarrollar lupus eritematoso sistémico (LES). Este estudio reveló que el alelo rs7574865T de STAT4 se asocia significativamente con el riesgo de desarrollar LES ($p = 0,0005$; OR 1,62, IC del 95 %: 1,22 a 2,16. Estos datos fortalecen el polimorfismo STAT4 rs7574865 como un factor de susceptibilidad para el LES y proporcionan evidencia adicional de un origen común de enfermedades autoinmunes (Palomino-Morales et al., 2008).

En 2008, un gran estudio realizado por Taylor et al. Demostró las asociaciones entre STAT4 (rs7574865) y la presencia de NL y anticuerpos anti-dsDNA en cohorte de ascendencia europea con LES (91). Recientemente un estudio confirmó la asociación de STAT4 con el desarrollo de nefritis proliferativa, un subtipo severo de NL (35). En otro estudio de Japón se confirmó la asociación de STAT4 (rs7574865) en pacientes de LES con NL y en LES sin NL (92). La asociación fue más fuerte en los pacientes de LES con presencia de NL y anticuerpos anti-dsDNA, pero el pequeño tamaño de la muestra impidió una fuerte significancia estadística para esta comparación (92).

Anaya et al (93). Realizaron un estudio de casos y controles que incluyó 839 individuos pertenecientes a una población colombiana bien definida y homogénea y en los que se examinaron polimorfismos STAT4. El objetivo de este estudio fue determinar la influencia del polimorfismo del gen STAT4 (rs7574865) en el riesgo de desarrollar lupus eritematoso sistémico (LES). Este estudio reveló que el alelo rs7574865T de STAT4 se asocia significativamente con el riesgo de desarrollar LES ($p = 0,0005$; OR 1,62, IC del 95 %: 1,22 a 2,16. Estos datos fortalecen el polimorfismo STAT4 rs7574865 como un factor de susceptibilidad para él LES y proporcionan evidencia adicional de un origen común de enfermedades autoinmunes (93).

En una investigación que tenía como objetivo contribuir al estudio de las bases genéticas de algunas enfermedades autoinmunes como artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico y escleroderma, mediante un estudio de casos-contróles en 1023 individuos: 94 con LES, se encontró que el SNP rs7574865 de STAT4 está asociado con LES en individuos de Bogotá y Barranquilla (94). STAT4 es un factor

transcripcional que es importante para la señalización de células T. STAT4 es activado por la interleucina (IL) -12, llevando a las células T CD4 + naïve a diferenciarse a células Th1 y Th17 que luego desempeñan un papel importante en la inflamación y las respuestas inmunes. La IL-17 que producen las células T están presentes en el riñón de los pacientes con NL, lo anterior sugiere que estas células T desempeñan un papel importante en la patogénesis de la NL (95). STAT4 también está activado por IFN tipo I (96), y los pacientes con LES que presentan el alelo de riesgo rs7574865 tienen un aumento de la sensibilidad a IFN tipo I apoyado por el aumento de la expresión de genes que inducen IFN (96). Las funciones de STAT4 en la diferenciación de las células T, la vía del IFN tipo I y la asociación de este alelo de riesgo con la formación de anticuerpos anti-dsDNA podrían desempeñar un papel importante en la consideración de cómo este alelo de riesgo predispone a la NL.

66

Gen TNF- α

Este gen codifica una citocina proinflamatoria multifuncional que pertenece a la superfamilia del factor de necrosis tumoral (TNF). Esta citoquina es secretada principalmente por los macrófagos. Puede unirse y por lo tanto funciona a través de sus receptores TNFRSF1A/TNFR1 y TNFRSF1B/TNFB2. Esta citoquina está implicada en la regulación de un amplio espectro de procesos biológicos que incluyen proliferación celular, diferenciación, apoptosis, metabolismo lipídico y coagulación. Esta citoquina ha estado implicada en una variedad de padecimientos, incluyendo enfermedades autoinmunes, resistencia a la insulina y cáncer.

Vista genómica para el gen TNF- α

Ubicación genómica para el gen: Cromosoma 6

Tamaño: 2,770 bases

(OR = 1,14, p = 0,0013) (64), y esta asociación también se observó en una población china (rs2205960 y rs10489265) (97).

Los niveles séricos de TNFSF4 son significativamente mayores entre los pacientes con LES con NL que aquellos sin NL. Además, el nivel de expresión del receptor TNFSF4 en las células T CD4 se ha asociado con la nefritis y la actividad de la enfermedad en pacientes con LES (98).

Gen del VDR

Este gen codifica el receptor nuclear de la hormona para la vitamina D3. El gen VDR humano se ha mapeado en el cromosoma 12q13.11 y se compone de 11 exones. El VDR interactúa con su ligando para jugar un papel importante en la homeostasis del calcio mediante la regulación del crecimiento de los huesos y la diferenciación celular, la absorción de calcio intestinal y la secreción de hormona paratiroidea (99).

68

Vista genómica para el gen VDR

Ubicación genómica para el gen: Cromosoma 12

Tamaño: 101,512 bases

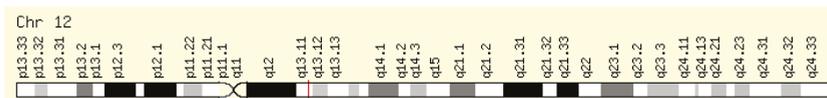


Figura 9. Ubicación genómica del gen VDR

Fuente: Tomada de (“GeneCards - Human Genes | Gene Database | Gene Search,” n.d.).

En algunos estudios previos, se ha demostrado el papel de algunas variantes genéticas del VDR (TaqI [rs731236 A/G], ApaI [rs7975232 A/C], BsmI [rs1544410 C/T] y FokI [rs2228570 A/G]), entre otros

(100), como factores de riesgo o de protección en los diferentes endotipos de lupus eritematoso sistémico, incluida la nefritis lúpica. La mayoría de estos estudios emplean un diseño de asociación genética de casos y controles para la detección de factores genéticos asociados a una enfermedad en particular (101,102).

(13). Evaluaron la asociación y la posibilidad de heredar variantes genéticas en los loci PTPN22, TNF y VDR con propensión al endotipo de nefritis lúpica. En este estudio, no se evidenció ninguna asociación entre las variables genéticas estudiadas de los loci de TNF y VDR con el endotipo de la nefritis lúpica en niños; además, estas mostraron un comportamiento de segregación similar entre los alelos. En Colombia, no se han reportado datos sobre marcadores de propensión relacionados con estas variantes y esta enfermedad. Como ya se mencionó, la variabilidad observada en los resultados de los diversos estudios a nivel mundial, muy probablemente, se deba a la estratificación poblacional de cada muestra de estudio. Sin embargo, la investigación de Garavito et al, las variantes TaqI, ApaI y BsmI del VDR exhibieron un desequilibrio de ligamiento, lo cual sugiere que, a pesar de no estar relacionados directamente con la enfermedad, sí son cercanos a otros marcadores asociados con la nefritis lúpica en niños.

Gen PTPN22

La proteína tirosina fosfatasa no receptora de tipo 22 (linfoide), es una fosfatasa específica linfoide que controla la transducción de la señal del receptor de antígeno en ambos linfocitos T y B, algunas variantes en el gen se asocian con aumentos o disminuciones en los riesgos de enfermedades autoinmunes (103). El gen se localiza en el brazo corto del cromosoma 1 (1p13.2). Tiene una longitud de 57.949

bases y codifica una proteína de 807 aminoácidos (peso molecular 91.705 Da).

Vista genómica para el gen PTPN22

Ubicación genómica para el gen: Cromosoma 1

Tamaño: 57,949 bases

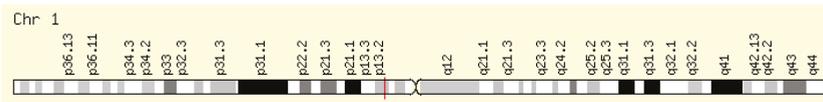


Figura 10. Ubicación genómica del gen PTPN22

Fuente: Tomada de (“GeneCards - Human Genes | Gene Database | Gene Search,” n.d.)

70

Se han identificado dos variantes funcionales del gen PTPN22: una es una variante no sinónima rs2476601 (arg620trp) que aumenta el riesgo de LES, así como múltiples otras enfermedades autoinmunes (104). Una variante de pérdida de función en PTPN22 (Arg263Gln) reduce la actividad fosfatasa de PTPN22, y se ha asociado con la protección contra él LES en la población europea (105). Un estudio en pacientes con LES sugirió un vínculo entre PTPN22 y la producción innata de citoquinas, ya que los pacientes con LES que portan el alelo de riesgo común para PTPN22 tenían mayor actividad sérica de IFN- α y menores niveles de factor de necrosis tumoral (106). El alelo de riesgo común PTPN22 también se ha asociado con la producción de autoanticuerpos anti-dsDNA en él LES (107), y las anomalías en el compartimiento de células B, como la expansión de las células B transicionales y enérgicas (108) y la disminución de la eliminación de células B autorreactivas.

En un estudio que incluyó casos y controles de diferentes zonas colombianas (11), se reportó una asociación significativa entre el

polimorfismo rs2476601, también conocido como C1858T, del gen PTPN22 y la propensión a LES y a la artritis reumatoide. Este resultado, se corroboró en (13) en donde se observó la asociación de este polimorfismo y la nefritis lúpica en niños de familias colombianas.

GENES RECIENTEMENTE DESCUBIERTOS ASOCIADOS CON NL, PERO NO RELACIONADOS CON LA SUSCEPTIBILIDAD DE LES

En la Figura 2. Se pueden observar genes que están asociados con susceptibilidad a LES y que predisponen al endotipo Nefritis Lupica, de igual forma se debe tener en cuenta que hay algunos genes que están específicamente relacionados con NL y no con la susceptibilidad a LES, a continuación se detallan aquellos genes asociados solo con nefritis lúpica.

Gen APOL1

El gen APOL1 es un ejemplo de un gen específico asociado con susceptibilidad a NL. Los genes APOL están localizados en el cromosoma 22 humano y codifican la apolipoproteína L-1 (APOL1). Este gen codifica una lipoproteína de alta densidad secretada que se une a la apolipoproteína A-I. La apolipoproteína A-I es una proteína plasmática relativamente abundante. Está implicado en la formación de la mayoría de los ésteres de colesterol en el plasma y también promueve el flujo de salida de colesterol de las células. Este miembro de la familia de la apolipoproteína L puede desempeñar un papel en el intercambio y el transporte de lípidos en todo el cuerpo, así como en el transporte inverso del colesterol desde las células periféricas al hígado. Variantes genéticas del gen APOL1 en las poblaciones de ascendencia africana se ha asociado con múltiples enfermedades

renales, como la glomerulonefritis segmentaria focal, enfermedad renal en etapa terminal (ESRD), nefropatía no diabética y nefropatía asociada al virus de la inmunodeficiencia humana (109,111).

Vista genómica para el gen APOL1

Ubicación genómica para el gen: Cromosoma 22

Tamaño: 14,522 bases

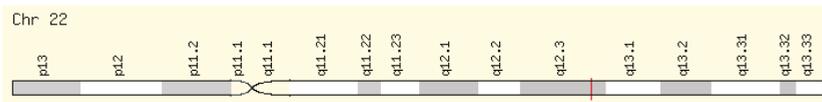


Figura 11. Ubicación genómica del gen APOL1

Fuente: Tomada de (“GeneCards - Human Genes | Gene Database | Gene Search,” n.d.).

Recientemente, Freedman et al. Informaron la asociación de variantes de riesgo en APOL1 con ESRD en los afroamericanos con NL (57). Los pacientes de LES con NL y con alelos de riesgo APOL1 G1/G2 eran mucho más propensos a progresar a ESRD (OR = 2,72, P = $6,23 \times 10^{-6}$) en comparación con aquellos pacientes sin alelos de riesgo (57). Sin embargo, Lin et al., informaron que los alelos de riesgo APOL1 no estaban asociados con NL en la población euroamericana y no mostraban relaciones significativas con NL leve incluso en la población afroamericana (112). Por lo tanto, la asociación entre APOL1 y NL podría limitarse a NL grave que es probable que progrese a ESRD. Desde el aspecto inmunológico, APOL1 también puede tener papeles en la inmunidad innata y las actividades antivirales. Nichols et al. Han demostrado que APOL1 es inducida por agonistas TLR3 e interferones (interferón alpha, beta y gamma) (115), además, APOL1 está involucrado en la ruta de autofagia. Es de destacar que APOL1 no ha sido identificado como un gen general de susceptibilidad a la LES, por lo que parece ser un gen modificador,

importante para el riesgo de nefritis y la progresión en las poblaciones de ascendencia africana. Por lo tanto, este gen puede explicar parcialmente el aumento de la incidencia y la gravedad de la NL en los pacientes de LES de origen africano.

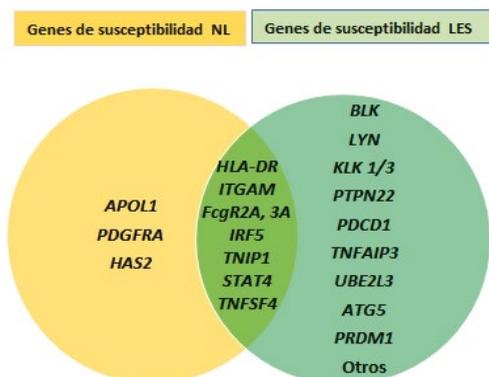


Figura 12. Genes de susceptibilidad a LES. Los genes que se encuentran en medio de los círculos son compartidos entre LES y NL

Fuente: (Iwamoto & Niewold, 2016)

Gen PDGFRA

En un estudio reciente, una variante en el gen PDGFRA (rs1364989) se encontró fuertemente asociada con NL en la población europea (56). El gen PDGFRA se localiza en el cromosoma 4 humano y codifica el receptor de factor de crecimiento derivado de plaquetas alfa (PDGFRA). PDGF y PDGFR (PDGFRA) se expresan constitutivamente en la mayoría de las células renales (por ejemplo, células mesangiales, fibroblastos y células del músculo liso vascular) y están implicados en el desarrollo normal del riñón. Alteración del sistema PDGF es común en las enfermedades renales humanas (113). PDGF-BB (una de las isoformas de PDGF), que es un ligando para PDGFRA, es un factor importante que promueve la enfermedad mesangio proliferativa y la fibrosis intersticial renal (114). En NL,

el aumento de expresión de ARNm PDGFRA se observó en el riñón (glomérulos y compartimiento túbulo intersticial) de los pacientes con NL (56).

Vista genómica para el gen PDGFRA

Ubicación genómica para el gen: Cromosoma 4

Tamaño: 69,161 bases

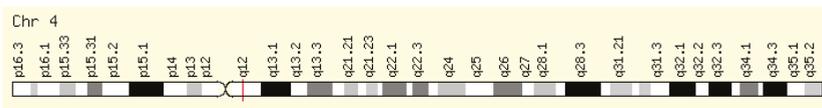


Figura 13. Ubicación genómica del gen PDGFRA

Fuente: Tomada de (“GeneCards - Human Genes | Gene Database | Gene Search,” n.d.)

Gen HAS2

74

El gen HAS2 está localizado en el cromosoma 8 humano y codifica la hialuronano sintasa 2 (HAS2); Una enzima responsable de la síntesis de hialuronano (HA). HA desempeña un papel crucial en la fibrosis en varios órganos. La fibrosis renal es el principal proceso patológico que conduce la NL hacia la enfermedad renal crónica y la enfermedad renal en etapa terminal (ESRD).

Vista genómica para el gen HAS2

Ubicación genómica para el gen: Cromosoma 8

Tamaño: 29,275 bases

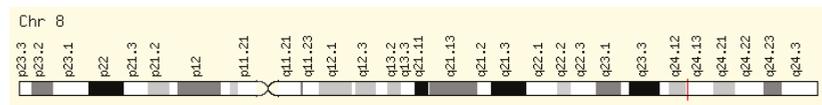


Figura 14. Ubicación genómica del gen HAS2

Fuente: Tomada de (“GeneCards - Human Genes | Gene Database | Gene Search,” n.d.).

Varios informes proporcionan evidencia de que las células mesangiales intra y extraglomerulares responden a diversas citoquinas y factores de crecimiento (por ejemplo, IL-1 beta, PDGF) y resultan en la inducción de HA, acompañada por la regulación de HAS2 (115). Yung et al. Han demostrado aumento de la expresión de HA en el mesangio y la parte tubular del riñón en muestras de biopsia renal de pacientes con NL (116), concentración sérica de HA mayor en la fase activa de NL que en la NL inactiva. También identificaron que el anticuerpo anti-ADN indujo la producción de IL-1 beta, que luego genera HA a través de la sobreexpresión de HAS2 en células mesangiales humanas (116). Recientes estudios de asociación genética han demostrado la asociación de una variante en el gen HAS2 (rs7834765) con NL (OR = 3,15) (56). HAS2 no se ha descrito como un gen asociado con la susceptibilidad de LES en general, pero parece desempeñar un papel en la patogénesis de NL, posiblemente a través de la producción de HA y una contribución a la fibrosis.

Los factores genéticos discutidos anteriormente se resumen en la Tabla 3. A pesar de la identificación de numerosos genes de susceptibilidad a LES, sólo un pequeño número de estos genes están asociados con NL.

Tabla 3. Loci de susceptibilidad confirmado asociados con nefritis lúpica por GWAS y en estudios de casos y controles

Nombre del Gen	Cromosoma	SNP asociado con NL	Función conocida	Referencia
ITGAM	16	rs1143679	Remoción de inmunocomplejos	(Bolin et al., 2013; S. A. Chung et al., 2014; Kim-Howard et al., 2010; Xi et al., 2012)
		rs9888739		
FcγR 2A FcγR 3 A	1	rs1801274 (H131/R131)	Remoción inmunocomplejos	(Karassa et al., 2003; Zuniga et al., 2003)
		rs396991 (F158/V158)		(Alarcón et al., 2006; Edberg et al., 2002; Jönsen et al., 2007)

IRF5	7	rs10488631	Inmunidad innata, vía del IFN tipo I	(Bolin et al., 2013)
		rs2070197		
TNIP1	5	rs7708392	Inhibición de la vía NF-kappaB	(Bolin et al., 2013; Caster et al., 2013; Kawasaki et al., 2010)
		rs4958881		
		rs6889239		
STAT4	2	rs7574865	Señalización de células T	(Bolin et al., 2013; Taylor et al., 2008)
		rs7568275		
		rs7582694		
		rs11889341		
TNFSF4	1	rs 2205960	Factor costimulador para la activación de células T	(Chung et al., 2014; Sanchez et al., 2011; Zhou et al., 2013)
		rs10489265		
APOL1	22	Haplotipo G1/G2	Inmunidad innata, autofagia	(Freedman et al., 2014)
PDGFRA	4	rs1364989	Desarrollo del riñón	(Chung et al., 2014)
HAS2	8	rs7834765	Fibrosis de órganos	(Chung et al., 2014)
PTPN22	1	rs2476601	Señalización y control de la actividad de las células T.	(Egea Bermejo et al., 2016; Garavito de Egea et al., 2016; Garavito et al., 2017)
VDR	12	rs 2228570	Acciones fisiológicas e inmunomoduladoras, como la homeostasia del Ca ² y del fosfato, la proliferación y diferenciación de células T, células B, entre otros.	(Egea Bermejo et al., 2016; Garavito de Egea et al., 2016; Garavito et al., 2017)
		rs 7975232		
		rs 731236		
		rs 1544410		
TNF	6	rs 361525	Proliferación celular, apoptosis	(Egea Bermejo et al., 2016; Garavito de Egea et al., 2016; Garavito et al., 2017)
		rs 1800629		

REFERENCIAS

1. Alarcon, G. S., McGwin, G., Petri, M., Ramsey-Goldman, R., Fessler, B. J., Vil??, L. M., ... Kimberly, R. P. (2006). Time to renal disease and end-stage renal disease in PROFILE: A multiethnic lupus cohort. *PLoS Medicine*, 3(10), 1949–1956. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0030396>
2. Alarcón-Segovia, D., Alarcón-Riquelme, M. E., Cardiel, M. H., Caeiro, F., Massardo, L., Villa, A. R., & Pons-Estel, B.

- a. (2005). Familial aggregation of systemic lupus erythematosus, rheumatoid arthritis, and other autoimmune diseases in 1,177 lupus patients from the GLADEL cohort. *Arthritis and Rheumatism*, 52(4), 1138–1147. <https://doi.org/10.1002/art.20999>
3. Alarcón, G., Bastian, H., Beasley, T., Roseman, J., Tan, F., Fessler, B., ... Reveille, J. (2006). Systemic lupus erythematosus in a multi-ethnic cohort (LUMINA): contributions of admixture and socioeconomic status to renal involvement. *Lupus*, 15(1), 26–31. <https://doi.org/10.1191/0961203306lu2260oa>
4. Alonso, M. D., Llorca, J., Martínez-Vázquez, F., Miranda-Filloo, J. A., Díaz de Terán, T., Dierssen, T., ... González-Gay, M. A. (2011). Systemic lupus erythematosus in northwestern Spain: a 20-year epidemiologic study. *Medicine*, 90(5), 350–358. <https://doi.org/10.1097/MD.0b013e31822edf7f>
5. Anaya, J. M., Kim-Howard, X., Prahalad, S., Chernavsky, A., Cañas, C., Rojas-Villarraga, A., ... Nath, S. K. (2012). Evaluation of genetic association between an ITGAM non-synonymous SNP (rs1143679) and multiple autoimmune diseases. *Autoimmunity Reviews*, 11(4), 276–280. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.07.007>
6. Andrade, R. M., Alarcón, G. S., Fernández, M., Apte, M., Vilá, L. M., & Reveille, J. D. (2007). Accelerated damage accrual among men with systemic lupus erythematosus XLIV. Results from a multiethnic US cohort. *Arthritis and Rheumatism*, 56(2), 622–630. <https://doi.org/10.1002/art.22375>
7. Baranowska-Daca, E., Choi, Y. J., Barrios, R., Nassar, G., Suki, W. N., & Truong, L. D. (2001). Nonlupus nephritides

in patients with systemic lupus erythematosus: a comprehensive clinicopathologic study and review of the literature. *Human Pathology*, 32, 1125–1135. <https://doi.org/10.1053/hupa.2001.28227>

8. Barron, K. S., Silverman, E. D., Gonzales, J., & Reveille, J. D. (1993). Clinical, serologic, and immunogenetic studies in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Arthritis & Rheumatism*, 36(3), 348–354. <https://doi.org/10.1002/art.1780360310>
9. Bastian, H. M., Alarcón, G. S., Roseman, J. M., McGwin, G., Viland, L. M., Fessler, B. J., ... Pinilla-Diaz, C. (2007). Systemic lupus erythematosus in a multiethnic US cohort (LUMINA) XL II: Factors predictive of new or worsening proteinuria. *Rheumatology*, 46(4), 683–689. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kel347>
10. Boddaert, J., Huong, D. L. T., Amoura, Z., Wechsler, B., Godeau, P., & Piette, J.-C. (2004). Late-Onset Systemic Lupus Erythematosus. *Medicine*, 83(6), 348–359. <https://doi.org/10.1097/01.md.0000147737.57861.7c>
11. Bolin, K., Sandling, J. K., Zickert, A., Jönsen, A., Sjöwall, C., Svenungsson, E., ... Nordmark, G. (2013). Association of STAT4 polymorphism with severe renal insufficiency in lupus nephritis. *PLoS ONE*, 8(12). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0084450>
12. Boor, P., Ostendorf, T., & Floege, J. (2014). PDGF and the progression of renal disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 29(SUPPL. 1), 45–54. <https://doi.org/10.1093/ndt/gft273>

13. Borchers, A. T., Leibushor, N., Naguwa, S. M., Cheema, G. S., Shoenfeld, Y., & Gershwin, M. E. (2012). Lupus nephritis: A critical review. *Autoimmunity Reviews*, 12(2), 174–194. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2012.08.018>
14. Borchers, A. T., Naguwa, S. M., Shoenfeld, Y., & Gershwin, M. E. (2010). The geoepidemiology of systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity Reviews*, 9(5), A277–A287. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2009.12.008>
15. Bouillon, R., Carmeliet, G., Verlinden, L., Van Etten, E., Verstuyf, A., Luderer, H. F., ... Demay, M. (2008). Vitamin D and human health: Lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocrine Reviews*, 29(6), 726–776. <https://doi.org/10.1210/er.2008-0004>
16. Brugos, B., Kiss, E., Szodoray, P., Szegedi, G., & Zeher, M. (2006). Retrospective analysis of patients with lupus nephritis: Data from a large clinical immunological center in Hungary. *Scandinavian Journal of Immunology*, 64(4), 433–437. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3083.2006.01833.x>
17. Burgos, P. I., McGwin, G., Pons-Estel, G. J., Reveille, J. D., Alarcon, G. S., & Vila, L. M. (2011). US patients of Hispanic and African ancestry develop lupus nephritis early in the disease course: data from LUMINA, a multiethnic US cohort (LUMINA LXXIV). *Annals of the Rheumatic Diseases*, 70(2), 393–394. <https://doi.org/10.1136/ard.2010.131482>
18. Campbell, H., & Rudan, I. (2002). Interpretation of genetic association studies in complex disease. *The Pharmacogenomics Journal*, 6(2), 349–360. <https://doi.org/10.1038/sj.tpj.6500132>
19. Caster, D. J., Korte, E. A., Nanda, S. K., McLeish, K. R., Oliver, R. K., G'Sell, R. T., ... Powell, D. W. (2013). ABIN1

Dysfunction as a Genetic Basis for Lupus Nephritis. *Journal of the American Society of Nephrology*, 24(11), 1743–1754. <https://doi.org/10.1681/ASN.2013020148>

20. Cherian, T. S., Kariuki, S. N., Franek, B. S., Buyon, J. P., Clancy, R. M., & Niewold, T. B. (2012). IRF5 systemic lupus erythematosus risk haplotype is associated with asymptomatic serologic autoimmunity and progression to clinical autoimmunity in mothers of children with neonatal lupus. *Arthritis and Rheumatism*, 64(10), 3383–3387. <https://doi.org/10.1002/art.34571>
21. Chung, S. A., Brown, E. E., Williams, A. H., Ramos, P. S., Berthier, C. C., Bhangale, T., ... Langefeld, C. D. (2014). Lupus Nephritis Susceptibility Loci in Women with Systemic Lupus Erythematosus. *Journal of the American Society of Nephrology*, 25(12), 2859–2870. <https://doi.org/10.1681/ASN.2013050446>
22. Chung, Sharon A, Taylor, K. E., Graham, R. R., Nititham, J., Lee, A. T., Ortmann, W. A., ... Criswell, L. A. (2011). Differential Genetic Associations for Systemic Lupus Erythematosus Based on Anti-dsDNA Autoantibody Production. *PLOS Genetics*, 7(3), e1001323.
23. Cohen, S., Dadi, H., Shaoul, E., Sharfe, N., & Roifman, C. M. (1999). Cloning and Characterization of a Lymphoid-Specific, Inducible Human Protein Tyrosine Phosphatase, Lyp. *Blood*, 93(6), 2013 LP – 2024.
24. Collins, F. S., Brooks, L. D., & Chakravarti, A. (1998). A DNA polymorphism discovery resource for research on human genetic variation. *Genome Research*, 8(12), 1229–1231.

25. Contreras-Fariñas, R., Ibañez-Clemente, P., Roldán-Valenzuela, A., & Torres-de Castro, O. G. (2014). Guía de Práctica Clínica. Consenso Sobre Úlceras Vasculares y Pie Diabético.
26. Crispín, C., Oukka, M., Bayliss, G., Cohen, R. A., Beek, C. A. Van, Stillman, I. E., ... Tsokos, G. C. (2008). Expanded Double Negative T Cells in Patients with Systemic Lupus Erythematosus Produce IL-17 and Infiltrate the. 20, 1–6. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.181.12.8761>
27. Edberg, J. C., Langefeld, C. D., Wu, J., Moser, K. L., Kaufman, K. M., Kelly, J., ... Kimberly, R. P. (2002). Genetic linkage and association of Fcγ receptor IIIA (CD16A) on chromosome 1q23 with human systemic lupus erythematosus. *Arthritis and Rheumatism*, 46(8), 2132–2140. <https://doi.org/10.1002/art.10438>
28. Egea Bermejo, G., Malagon Gutierrez, C., Fang, L. C., Olmos, C., Gonzalez, L. E., Guarnizo Zuccardi, P., ... Garavito de Egea, G. (2016). Maternal Genetics Variants in PTPN22, TNF and VDR Genes Increase the Risk of Pediatric Lupus Nephritis. A Pilot Study. *Frontiers in Immunology*, 2015–2016. <https://doi.org/10.3389/conf.fimmu.2015.05.00296>
29. Floege, J., Eitner, F., & Alpers, C. E. (2008). A New Look at Platelet-Derived Growth Factor in Renal Disease. *Journal of the American Society of Nephrology*, 19(1), 12–23. <https://doi.org/10.1681/ASN.2007050532>
30. Font, J Cervera, R Espinosa, G Pallarés, L Ramos-Casals, M., & Jiménez, S. (1998). Systemic lupus erythematosus (SLE) in childhood: analysis of clinical and immunological findings in

34 patients and comparison with SLE characteristics in adults. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 57(8), 456–459. <https://doi.org/10.1136/ard.57.8.456>

31. Freedman, B. I., Langefeld, C. D., Andringa, K. K., Croker, J. A., Williams, A. H., Garner, N. E., ... Kimberly, R. P. (2014). End-Stage Renal Disease in African Americans With Lupus Nephritis Is Associated With APOL1. *Arthritis & Rheumatology*, 66(2), 390–396. <https://doi.org/10.1002/art.38220>
32. Gaipf, U. S., Voll, R. E., Sheriff, A., Franz, S., Kalden, J. R., & Herrmann, M. (2005). Impaired clearance of dying cells in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity Reviews*, 4(4), 189–194. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2004.10.007>
33. Garavito de Egea, G., Egea Bermejo, E. A., Malagón, C., Fang Mercado, L., Olmos, C., González, L., ... Iglesias, A. (2016). Estudio de Variantes Moleculares de los Genes PTPN22, TNF Y VDR en Madres de Niños con Nefritis Lúpica y su Asociación como Factores de Riesgo. *Revista Medicina*, 38(1), 113.
34. Garavito, G., Egea, E., Fang, L., Malagón, C., Olmos, C., González, L., ... Iglesias, A. (2017). Association of polymorphic variants of PTPN22, TNF and VDR systems in children with lupus nephritis: a study in trios of Colombian families. *Biomédica*, 37(2), 260–266. <https://doi.org/10.7705/biomedica.v37i3.3247>
35. Garcia, M., Marcos, J., Marcos, A., Pons-Estel, B., Wojdyla, D., Arturi, A., ... Alarcon-Segovia, D. (2005). Male systemic lupus erythematosus in a Latin-American inception

- cohort of 1214 patients. *Lupus*, 14, 938–946. <https://doi.org/10.1191/0961203305lu2245oa>
36. Gelmetti, A. P., Freitas, A. C., Woronik, V., Barros, R. T., Bonfá, E., & Monteiro, R. C. (2006). Polymorphism of the FcγRIIa IgG receptor in patients with lupus nephritis and glomerulopathy. *Journal of Rheumatology*, 33(3), 523–530.
 37. GeneCards - Human Genes | Gene Database | Gene Search. (n.d.).
 38. Genovese, G., Friedman, D. J., Ross, M. D., Lecordier, L., Uzureau, P., Freedman, B. I., ... Pollak, M. R. (2010). Association of Trypanolytic ApoL1 Variants with Kidney Disease in African Americans. *Science*, 329(5993), 841–845. <https://doi.org/10.1126/science.1193032>
 39. Ghodke-Puranik, Y., & Niewolld, T. (2015). Immunogenetics of Systemic Lupus Erythematosus: A Comprehensive Review. *J Autoimmun*, 64, 125–136. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2015.08.004.Immunogenetics>
 40. Graham, R. R., Kozyrev, S. V, Baechler, E. C., Reddy, M. V. P. L., Plenge, R. M., Bauer, J. W., ... Alarcón-Riquelme, M. E. (2006). A common haplotype of interferon regulatory factor 5 (IRF5) regulates splicing and expression and is associated with increased risk of systemic lupus erythematosus. *Nature Genetics*, 38(5), 550–555. <https://doi.org/10.1038/ng1782>
 41. Habib, T., Funk, A., Rieck, M., Brahmandam, A., Dai, X., Panigrahi, A. K., ... Buckner, J. H. (2012). Altered B cell homeostasis is associated with Type I diabetes and carriers of the PTPN22 allelic variant. *Journal of Immunology*

(Baltimore, Md. : 1950), 188(1), 487–496. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.1102176>

42. Han, J.-W., Zheng, H.-F., Cui, Y., Sun, L.-D., Ye, D.-Q., Hu, Z., ... Zhang, X.-J. (2009). Genome-wide association study in a Chinese Han population identifies nine new susceptibility loci for systemic lupus erythematosus. *Nature Genetics*, 41(11), 1234–1237. <https://doi.org/10.1038/ng.472>
43. Harley, J. B., Alarcón-Riquelme, M. E., Criswell, L. A., Jacob, C. O., Kimberly, R. P., Moser, K. L., ... Kelly, J. A. (2008). Genome-wide association scan in women with systemic lupus erythematosus identifies susceptibility variants in ITGAM, PXXK, KIAA1542 and other loci. *Nature Genetics*, 40(2), 204–210.
44. Heyninck, K., Valck, D. De, Berghe, W. Vanden, Crieckinge, W. Van, Contreras, R., Fiers, W., ... Beyaert, R. (1999). Gene Expression by Interfering with an RIP- or TRAF2-mediated Protein ABIN. *Cell*, 145(7), 1471–1482. <https://doi.org/10.1083/jcb.145.7.1471>
45. Hiraki, L. T., Feldman, C. H., Liu, J., Alarcón, G. S., Fischer, M. A., Winkelmayr, W. C., & Costenbader, K. H. (2012). Prevalence, incidence, and demographics of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis from 2000 to 2004 among children in the US medicaid beneficiary population. *Arthritis and Rheumatism*, 64(8), 2669–2676. <https://doi.org/10.1002/art.34472>
46. Hom, G., Ph, D., Graham, R. R., Modrek, B., Taylor, K. E., Ortmann, W., ... Kao, A. H. (2008). Association of Systemic Lupus Erythematosus with. *Genetics*.

47. Iwamoto, T., & Niewold, T. B. (2016). Genetics of human lupus nephritis. *Clinical Immunology*. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.clim.2016.09.012>
48. James, J. A. (2014). Clinical perspectives on lupus genetics: Advances and opportunities. *Rheumatic Disease Clinics of North America*, Vol. 40, pp. 413–432. W.B. Saunders.
49. Jönsen, A., Gunnarsson, I., Gullstrand, B., Svenungsson, E., Bengtsson, A. A., Nived, O., ... Sturfelt, G. (2007). Association between SLE nephritis and polymorphic variants of the CRP and FcγRIIIa genes. *Rheumatology*, 46(9), 1417–1421. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kem167>
50. Jr, G. M. (2016). Systemic Lupus Erythematosus in Three Ethnic Groups.pdf. (September 2001), 152–160.
51. Karassa, F. B., Trikalinos, T. A., Ioannidis, J. P. A., De Haas, M., Edberg, J. C., Kimberly, R., ... Yoo, D. H. (2003). The FcγRIIIA-F158 allele is a risk factor for the development of lupus nephritis: A meta-analysis. *Kidney International*, 63(4), 1475–1482. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00873.x>
52. Kariuki, S. N., Crow, M. K., & Niewold, T. B. (2008). PTPN22 C1858T Polymorphism is Associated with Skewing of Cytokine Profiles Toward High IFN-α Activity and Low TNF-α in Lupus Patients. *Arthritis and Rheumatism*, 58(9), 2818–2823. <https://doi.org/10.1002/art.23728>
53. Kawasaki, A., Ito, I., Hikami, K., Ohashi, J., Hayashi, T., Goto, D., ... Tsuchiya, N. (2008). Role of STAT4 polymorphisms in systemic lupus erythematosus in a Japanese population: a case-control association study of the STAT1-STAT4 region.

- Arthritis Research & Therapy, 10(5), R113. <https://doi.org/10.1186/ar2516>
54. Kawasaki, A., Ito, S., Furukawa, H., Hayashi, T., Goto, D., Matsumoto, I., ... Tsuchiya, N. (2010). Association of TNFAIP3 interacting protein 1, TNIP1 with systemic lupus erythematosus in a Japanese population: a case-control association study. *Arthritis Research & Therapy*, 12(5), R174. <https://doi.org/10.1186/ar3134>
55. Kim-Howard, X., Maiti, A. K., Anaya, J.-M., Bruner, G. R., Brown, E., Merrill, J. T., ... Nath, S. K. (2010). ITGAM coding variant (rs1143679) influences the risk of renal disease, discoid rash and immunological manifestations in patients with systemic lupus erythematosus with European ancestry. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 69(7), 1329–1332. <https://doi.org/10.1136/ard.2009.120543>
56. Kopp, J. B., Nelson, G. W., Sampath, K., Johnson, R. C., Genovese, G., An, P., ... Winkler, C. A. (2011). APOL1 Genetic Variants in Focal Segmental Glomerulosclerosis and HIV-Associated Nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*, 22(11), 2129–2137. <https://doi.org/10.1681/ASN.2011040388>
57. Kruzel-Davila, E., Wasser, W. G., Aviram, S., & Skorecki, K. (2016). APOL1 nephropathy: From gene to mechanisms of kidney injury. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 31(3), 349–358. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfu391>
58. Lee, Y. H., Rho, Y. H., Choi, S. J., Ji, J. D., Song, G. G., Nath, S. K., & Harley, J. B. (2007). The PTPN22 C1858T functional

- polymorphism and autoimmune diseases—a meta-analysis. *Rheumatology*, 46(1), 49–56.
59. Levy-Sakin, M., & Ebenstein, Y. (2013). Beyond sequencing: Optical mapping of DNA in the age of nanotechnology and nanoscopy. *Current Opinion in Biotechnology*, 24(4), 690–698. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.01.009>
60. Lewis, C. M. (2002). Genetic association studies: design, analysis and interpretation. *Brief Bioinform*, 3(2), 146–153. <https://doi.org/10.1093/bib/3.2.146>
61. Li, X., Ptacek, T. S., Brown, E. E., & Edberg, J. C. (2009). Fcγ Receptors: Structure, Function and Role as Genetic Risk Factors in SLE. *Genes Immun*, 10(5), 380–389. <https://doi.org/10.1038/gene.2009.35.Fc>
62. Lin, C. P., Adrianto, I., Lessard, C. J., Kelly, J. A., Kaufman, K. M., Guthridge, J. M., ... Montgomery, C. G. (2012). Role of MYH9 and APOL1 in African and non-African populations with lupus nephritis. *Genes and Immunity*, 13(3), 232–238. <https://doi.org/10.1038/gene.2011.82>
63. López de Padilla, C. M., & Niewold, T. B. (2016). The type I interferons: Basic concepts and clinical relevance in immune-mediated inflammatory diseases. *Gene*, 576(1), 14–21. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2015.09.058>
64. Lupus, S., Disease, E., Index, A., & Collaborative, I. (2008). Pediatric Systemic Lupus Erythematosus : A Longitudinal Study. 550–556.

65. Maidhof, W., & Hilas, O. (2012). Lupus: an overview of the disease and management options. *P & T : A Peer-Reviewed Journal for Formulary Management*, 37(4), 240–249.
66. Manuscript, A. (2012). NIH Public Access. *Changes*, 29(6), 997–1003. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2011.08.021>.
Secreted
67. Martha Ramírez de Olano, Gerardo Quintana, A. I. G. (2012). Asociación entre manifestaciones clínicas de enfermedades autoinmunes con los polimorfismos de PTPN22, STAT4, CTLA-4 en población colombiana. *Iatreia Revista Médica Universidad de Antioquia*, Vol. 23(Núm. 4-S).
68. Michael, D. R., Phillips, A. O., Krupa, A., Martin, J., Redman, J. E., Altaher, A., ... Bowen, T. (2011). The human hyaluronan synthase 2 (HAS2) gene and its natural antisense RNA exhibit coordinated expression in the renal proximal tubular epithelial cell. *Journal of Biological Chemistry*, 286(22), 19523–19532. <https://doi.org/10.1074/jbc.M111.233916>
69. Nath, S. K., Han, S., Kim-Howard, X., Kelly, J. A., Viswanathan, P., Gilkeson, G. S., ... Harley, J. B. (2008). A nonsynonymous functional variant in integrin- α M (encoded by ITGAM) is associated with systemic lupus erythematosus. *Nature Genetics*, 40(2), 152–154. <https://doi.org/10.1038/ng.71>
70. Nguyen, K. B. (2002). Critical Role for STAT4 Activation by Type 1 Interferons in the Interferon-gamma Response to Viral Infection. *Science*, 297(5589), 2063–2066. <https://doi.org/10.1126/science.1074900>
71. Niewold, T. B., Kelly, J. A., Flesch, M. H., Espinoza, L. R., Harley, J. B., & Crow, M. K. (2008). Association of the IRF5 risk

- haplotype with high serum interferon- α activity in systemic lupus erythematosus patients. *Arthritis and Rheumatism*, 58(8), 2481–2487. <https://doi.org/10.1002/art.23613>
72. Niewold, T. B., Kelly, J. A., Kariuki, S. N., Franek, B. S., Akaash, A., Kaufman, K. M., ... Jeffrey, C. (2013). NIH Public Access. 71(3), 463–468. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2011-200463.IRF5>
73. Orrú, V., Tsai, S. J., Rueda, B., Fiorillo, E., Stanford, S. M., Dasgupta, J., ... Bottini, N. (2009). A loss-of-function variant of PTPN22 is associated with reduced risk of systemic lupus erythematosus. *Human Molecular Genetics*, 18(3), 569–579.
74. Palomino-Morales, R. J., Rojas-Villarraga, A., Gonzalez, C. I., Ramirez, G., Anaya, J.-M., & Martin, J. (2008). STAT4 but not TRAF1/C5 variants influence the risk of developing rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus in Colombians. *Genes Immun*, 9(4), 379–382.
75. Patschan, S., Dolf, S., Kribben, A., Dürig, J., Patschan, D., Wilde, B., ... Witzke, O. (2006). CD134 expression on CD4+ T cells is associated with nephritis and disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Clinical and Experimental Immunology*, 145(2), 235–242. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2249.2006.03141.x>
76. Pons-Estel, G. J., Serrano, R., Plasín, M. A., Espinosa, G., & Cervera, R. (2011). Epidemiology and management of refractory lupus nephritis. *Autoimmunity Reviews*, 10(11), 655–663. <https://doi.org/10.1016/j.autrev.2011.04.032>
77. Remmers, E. F., Plenge, R. M., Lee, A. T., Graham, R. R., Hom, G., Behrens, T. W., ... Gregersen, P. K. (2007). STAT4

- and the Risk of Rheumatoid Arthritis and Systemic Lupus Erythematosus. *New England Journal of Medicine*, 357(10), 977–986. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa073003>
78. Ren, Y., Tang, J., Mok, M. Y., Chan, A. W. K., Wu, A., & Lau, C. S. (2003). Increased Apoptotic Neutrophils and Macrophages and Impaired Macrophage Phagocytic Clearance of Apoptotic Neutrophils in Systemic Lupus Erythematosus. *Arthritis and Rheumatism*, 48(10), 2888–2897. <https://doi.org/10.1002/art.11237>
79. Rhodes, B., Fürnrohr, B. G., Roberts, A. L., Tziricotis, G., Schett, G., Spector, T. D., & Vyse, T. J. (2012). The rs1143679 (R77H) lupus associated variant of ITGAM (CD11b) impairs complement receptor 3 mediated functions in human monocytes. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 71(12), 2028–2034. <https://doi.org/10.1136/annrheumdis-2012-201390>
80. Sanchez, E., Nadig, A., Richardson, B. C., Freedman, B. I., Kaufman, K. M., Kelly, J. A., ... Sawalha, A. H. (2011). Phenotypic associations of genetic susceptibility loci in systemic lupus erythematosus. *Annals of the Rheumatic Diseases*, 70(10), 1752–1757. <https://doi.org/10.1136/ard.2011.154104>
81. Sánchez, E., Rasmussen, A., Riba, L., Acevedo-Vasquez, E., Kelly, J. A., Langefeld, C. D., ... Alarcón-Riquelme, M. E. (2012). Impact of genetic ancestry and sociodemographic status on the clinical expression of systemic lupus erythematosus in American Indian-European populations. *Arthritis and Rheumatism*, 64(11), 3687–3694. <https://doi.org/10.1002/art.34650>

82. Sawalha, A. H., Wang, L., Nadig, A., Somers, E. C., McCune, W. J., Hughes, T., ... Richardson, B. (2012). Sex-specific differences in the relationship between genetic susceptibility, T cell DNA demethylation and lupus flare severity. *Journal of Autoimmunity*, 38(2–3), 216–222. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2011.11.008>
83. Scheinecker, C., Bonelli, M., & Smolen, J. S. (2010). Pathogenetic aspects of systemic lupus erythematosus with an emphasis on regulatory T cells. *Journal of Autoimmunity*, 35(3), 269–275. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2010.06.018>
84. Seligman, V. A., Suarez, C., Lum, R., Inda, S. E., Lin, D., Li, H., ... Criswell, L. A. (2001). The Fc γ receptor IIIA-158F allele is a major risk factor for the development of lupus nephritis among Caucasians but not non-Caucasians. *Arthritis and Rheumatism*, 44(3), 618–625. [https://doi.org/10.1002/1529-0131\(200103\)44:3<618::AID-ANR110>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/1529-0131(200103)44:3<618::AID-ANR110>3.0.CO;2-R)
85. Seng, K. C., & Seng, C. K. (2008). The success of the genome-wide association approach: a brief story of a long struggle. *European Journal of Human Genetics: EJHG*, 16(5), 554–564.
86. Sigurdsson, S., Göring, H. H. H., Kristjansdottir, G., Milani, L., Nordmark, G., Sandling, J. K., ... Syvänen, A. C. (2008). Comprehensive evaluation of the genetic variants of interferon regulatory factor 5 (IRF5) reveals a novel 5 bp length polymorphism as strong risk factor for systemic lupus erythematosus. *Human Molecular Genetics*, 17(6), 872–881. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddm359>

87. Sigurdsson, S., Nordmark, G., Göring, H. H. H., Lindroos, K., Wiman, A.-C., Sturfelt, G., ... Syvänen, A.-C. (2005). Polymorphisms in the Tyrosine Kinase 2 and Interferon Regulatory Factor 5 Genes Are Associated with Systemic Lupus Erythematosus. *The American Journal of Human Genetics*, 76(3), 528–537. <https://doi.org/10.1086/428480>
88. Szabo, F. K., & Hoffman, G. E. (2012). NIH Public Access. 37(1), 62–70. <https://doi.org/10.1007/s12020-009-9266-z.A>
89. Takai, T. (2002). Roles of Fc receptors in autoimmunity. *Nature Reviews. Immunology*, 2(8), 580–592. <https://doi.org/10.1038/nri856>
90. Taylor, K. E., Remmers, E. F., Lee, A. T., Ortmann, W. A., Plenge, R. M., Tian, C., ... Criswell, L. A. (2008). Specificity of the STAT4 genetic association for severe disease manifestations of systemic lupus erythematosus. *PLoS Genetics*, 4(5), 1–9. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000084>
91. Teruel, M., & Alarcón-Riquelme, M. E. (2016). The genetic basis of systemic lupus erythematosus: What are the risk factors and what have we learned. *Journal of Autoimmunity*, 74. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2016.08.001>
92. Thorisson, G. A., Smith, A. V., Krishnan, L., & Stein, L. D. (2005). The International HapMap Project Web site. *Genome Research*, 15(11), 1592–1593.
93. Velázquez-Cruz, R., Jiménez-Morales, S., Ramírez-Bello, J., Aguilar-Delfín, I., Salas-Martínez, G., Baca Ruíz, V., & Orozco Orozco, L. (2012). [Systemic lupus erythematosus: genomics of the disease]. *Gaceta Médica de México*, 148(4), 371–380.

94. Verstrepen, L., Carpentier, I., Verhelst, K., & Beyaert, R. (2009). ABINs: A20 binding inhibitors of NF- κ B and apoptosis signaling. *Biochemical Pharmacology*, 78(2), 105–114. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2009.02.009>
95. Voulgari, P. V., Katsimbri, P., Alamanos, Y., & Drosos, a. a. (2002). Gender and age differences in systemic lupus erythematosus. A study of 489 Greek patients with a review of the literature. *Lupus*, 11(11), 722–729. <https://doi.org/10.1191/0961203302lu253oa>
96. Wang, C., Ahlford, A., Järvinen, T. M., Nordmark, G., Eloranta, M.-L., Gunnarsson, I., ... Sandling, J. K. (2013). Genes identified in Asian SLE GWASs are also associated with SLE in Caucasian populations. *European Journal of Human Genetics*, 21(9), 994–999. <https://doi.org/10.1038/ejhg.2012.277>
97. Weening, J. J. (2004). The Classification of Glomerulonephritis in Systemic Lupus Erythematosus Revisited. *Journal of the American Society of Nephrology*, 15(2), 241–250. <https://doi.org/10.1097/01.ASN.0000108969.21691.5D>
98. Xi, J., Zhang, G. P., Qiao, S. L., Guo, J. Q., Wang, X. N., Yang, Y. Y., ... Deng, R. G. (2012). Increased survival and reduced renal injury in MRL/lpr mice treated with a human Fc γ receptor II (CD32) peptide. *Immunology*, 136(1), 46–53. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2567.2012.03553.x>
99. Yung, S., Tsang, R. C. W., Leung, J. K. H., & Chan, T. M. (n.d.). Increased mesangial cell hyaluronan expression in lupus nephritis is mediated by anti-DNA antibody-induced IL-1 β . *Kidney International*, 69(2), 272–280. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5000042>

100. Zhou, X. J., Cheng, F. J., Qi, Y. Y., Zhao, M. H., & Zhang, H. (2013). A replication study from Chinese supports association between lupus-risk allele in TNFSF4 and renal disorder. *BioMed Research International*, 2013, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2013/597921>
101. Zuniga, R., Markowitz, G. S., Arkachaisri, T., Imperatore, E. A., D'Agati, V. D., & Salmon, J. E. (2003). Identification of IgG subclasses and C-reactive protein in lupus nephritis: The relationship between the composition of immune deposits and Fcγ receptor type IIA alleles. *Arthritis and Rheumatism*, 48(2), 460–470. <https://doi.org/10.1002/art.10930>

Cómo citar este capítulo:

De la Cruz, F., Navarro Quiroz, R. y Navarro Quiroz, E. (2020). Genética Nefritis Lúpica. En: G. Aroca Martínez y E. Navarro Quiroz (Edit.) *Avances investigativos en Nefritis Lúpica* (pp.47-94) Barranquilla: Ediciones Universidad Simón Bolívar.

Biomarcadores urinarios en la Nefritis Lúpica y su potencial aplicación clínica

Lisandro Pacheco Lugo¹
Valentina Arrieta Bravo²
Yirys Díaz Olmos³

INTRODUCCIÓN

El Lupus Eritematoso Sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune, cuyo pronóstico clásicamente está muy relacionado con criterios clínicos, serológicos e histopatológicos de afectación multior- gánica con repercusión renal casi constante, causada por desregu- lación de linfocitos B autorreactivos que producen autoanticuerpos, deposición de complejos inmune y activación del complemento con daño tisular [1]. Afecta a todas las razas, edades y sexos; predomina en afrocaribeños y más del 90 % de los casos corresponden a mujeres de 13 a 30 años, con una relación 9-10:1 entre sexo femenino y

-
- 1 Universidad Simón Bolívar. Facultad de Ciencias Básicas y Biomédicas.
 - 2 Estudiante del programa de Medicina. Universidad Simón Bolívar.
 - 3 Universidad del Norte. Facultad de Ciencias de la Salud.

masculino en adultos [2]. El riñón es uno de los órganos implicados con más frecuencia en el LES, estimándose que aproximadamente el 75 % de los pacientes presentarán compromiso de este órgano en algún momento de la evolución del LES (3,4). La lesión renal en el LES es debida tanto al proceso inflamatorio desencadenado por los mecanismos autoinmunes, como a la respuesta de los diversos componentes del tejido renal a dicha inflamación.

El diagnóstico temprano y el pronóstico exacto se mantienen como un desafío en el LES. La biopsia renal es considerada el estándar dorado para el diagnóstico y clasificación del nivel de inflamación renal. Sin embargo, las potenciales complicaciones del procedimiento y su invasividad limitan su aplicación.

96

Los niveles de proteinuria y creatinina sérica han sido usados como biomarcadores no invasivos para evaluar actividad renal en pacientes con LES, pero la relevancia de esos valores ha sido continuamente cuestionada debido a sus bajos valores predictivos. En el mismo sentido, anticuerpos (anti-DNA, anticuerpos anti-nucleares, y anticuerpos anti-Smith) y niveles del complemento (C3 y C4) han sido usados para evaluar actividad renal debido a LES. No obstante, debido a su baja sensibilidad y especificidad, estos no han sido considerados biomarcadores adecuados de actividad renal en LES. Por esta razón, la búsqueda de nuevas moléculas en biofluidos con altos valores predictivos y con buena sensibilidad y especificidad es un área de investigación activa en LES.

En este capítulo discutiremos sobre los principales biomarcadores encontrados en orina y su potencial utilidad clínica. ¿Por qué orina? la orina es el fluido de desecho secretado por los riñones. En los mamíferos, la orina sirve como un medio para purgar las moléculas

de desecho recogidas de la sangre y para la homeostasis de los fluidos corporales, reflejando así mejor los cambios en el metabolismo humano. Algunas ventajas de la orina para búsqueda de biomarcadores incluyen: 1) la concentración de metabolitos (incluyendo proteínas) es más alta en la orina que en plasma o suero, 2) la orina contiene muchos metabolitos que permiten predecir el desbalance de casi todas las rutas bioquímicas del cuerpo, 3) comparado con el plasma, la orina es más fácilmente disponible y es colectada de forma no invasiva. Bajo condiciones fisiológicas, una cantidad relativamente pequeña de proteínas y otros solutos se excreta en la orina debido a la eficiente barrera de filtración glomerular, representada por un endotelio fenestrado, la membrana basal glomerular colagenosa y podocitos. Esas tres capas restringen el movimiento de proteínas a la orina en base a su masa molecular, tamaño y carga eléctrica. En enfermedades glomerulares como la nefritis lúpica esta barrera es alterada, llevando a la fuga de proteínas plasmáticas junto a la secreción de proteínas específicas que reflejan el estado inflamatorio renal [5].

La Tabla 1 muestra el resumen de algunos de los biomarcadores urinarios ya identificados y su potencial uso en NL. Sin embargo, esos biomarcadores no serán el foco de este capítulo, ya que profundizaremos en otras moléculas con un potencial clínico mucho mayor.

Tabla 1. Citocinas, quimiocinas y moléculas de adhesión

Biomarcador	Correlación con enfermedad activa	Correlación con daño renal histológico	Predice actividad de la enfermedad	Monitorea respuesta al tratamiento	Predice histología
Adiponectina	+ 6,7	NE	+ 7	+ 7	+ 6
AGP	+ 8	+ 8	+ 8	+ 9	+ 10
Células T CD4	+ (14–16)	NE	NE	+ 12	+ 12
Ceruloplasmina	+ 8	+ 8	+ 8	+ 9	NE
CXCL-16	+ 14	NE	NE	NE	NE
FLC	+ (18,19)	+ 15	NE	+ 15	+ 15

Epcidina 20	NE	NE	+ 17	- 17	NE
Epcidina 25	NE	+ 16	-17	+ 17	NE
L-PGDS	+ 8	+ 8	+ 8	+ 9	NE
PGDS	+ 18	+ 19	+ 19	+ 19	-19
TGF-b1	+ 20 -21	+ 16	+ 16	+ 16	+ 16
Transferrina	+ 8	+ 8	+ 8	+ 9	+ 10

Citocinas son proteínas secretadas por las células del sistema inmune innato y adaptativo, que participan en la estimulación o supresión de la respuesta inmune. Como jugadores claves del sistema inmune, la expresión anormal de citocinas ha sido implicada en la patogénesis del LES, ya sea como parte del proceso central del lupus o como marcadores secundarios que indican desregulación inmunitaria.

IL-17

En pacientes con LES las células T CD4+ son los conductores críticos de la respuesta de autoanticuerpos dependiente de células B, y la IL-17 es una potente citocina proinflamatoria que es producida principalmente por células T CD4+ (22). Chen y colaboradores (23) estudiaron la expresión de citocinas relacionadas a células Th-17 glomerulares en pacientes con NL y encontraron que los niveles de IL-17 glomerulares se correlacionaron positivamente con SLEDAI renal y actividad histológica en los pacientes con NL. Posteriormente, Saber y cols. (24) demostraron que los niveles de IL-17 urinarios fueron más altos en pacientes con LES cuando comparado con pacientes sin nefritis. Recientemente Nordin y cols. (25) también encontraron que los niveles de IL-17 urinario fueron significativamente mayores en pacientes con SLE activo y mostró una correlación significativa con las puntuaciones SLEDAI y BILAG.

LIPOCALINA ASOCIADA A LA GELATINASA DE NEUTRÓFILOS (NGAL)

NGAL es una proteína glicosilada de 25 Kda inicialmente identificada en neutrófilos, pero presente en otros tejidos adicionales, incluyendo

células tubulares renales. NGAL en orina y suero ha sido constantemente asociada como un biomarcador de injuria renal aguda(26). NGAL en orina se correlacionó con actividad lúpica en una cohorte de pacientes pediátricos con LES (27). Adicionalmente, los niveles de NGAL urinario predijeron recaídas en NL mejor que anticuerpos anti-DNA de doble cadena en una cohorte de pacientes adultos con LES (28). Interesantemente, NGAL en orina de línea base fue capaz de predecir respuesta al tratamiento en una cohorte de pacientes asiáticos con NL (29).

TWEAK EN ORINA Y SU POTENCIAL VALOR DIAGNÓSTICO

Estudios en modelos murinos han demostrado que TWEAK (*tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis*) puede estar asociado con actividad renal en individuos con LES [30,31]. TWEAK es un miembro de la superfamilia del factor de necrosis tumoral, los cuales están involucrados en múltiples procesos fisiológicos relacionados a proliferación celular, migración, supervivencia, diferenciación y apoptosis [30]. TWEAK regula esos procesos a través de su interacción con Fn14, lo que lleva al reclutamiento de TRAF2 y TRAF5 y la activación subsecuente de diferentes vías de señalización intracelular, las cuales dependen del tipo celular, el estado celular y el microambiente [31] (Figura 1).

En células renales, TWEAK desencadena importantes efectos biológicos, incluyendo la modulación de la supervivencia celular y la superexpresión de mediadores proinflamatorios [32]. En células que expresan Fn14, tales como células mesangiales humanas, podocitos y células tubulares, TWEAK induce la expresión de múltiples mediadores proinflamatorios, incluyendo RANTES, la

proteína quimioatrayente de monocitos MCP-1, IP-10, MIP-1, ICAM-1, VCAM-1, MMP-1 y MMP-9 [33]. Interesantemente, medio condicionado de células meangliales estimuladas por TWEAK indujeron una migración significativa de células mononucleares de sangre periférica en ensayos de quimiotaxis, incluyendo linfocitos y macrófagos. Además, fue reportado que TWEAK estimuló de forma significativa la proliferación de células mesangiales y podocitos [34]. Finalmente, biopsias renales de varios pacientes con nefritis lúpica mostraron fuerte tinción glomerular y tubulointersticial para Fn14.

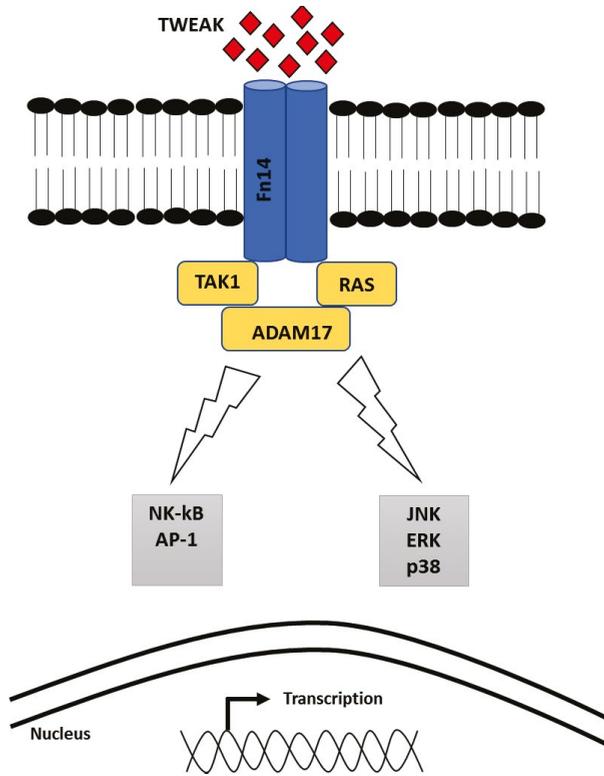


Figura 1. Vías de señalización de TWEAK

TWEAK se une a Fn14, regulando diferentes moléculas señalizadoras tales como NFkB, AP-1, MAPKs (JNK, ERK, p38), y por lo

tanto afectando la generación de citosinas inflamatorias mediadas por TAK1, Ras y ADAM17. Adaptado de Xu y colaboradores [35]

Schwartz y cols. observaron niveles significativamente elevados de TWEAK en la orina (TWEAK-u) de pacientes con NL cuando comparado con pacientes con LES sin enfermedad renal activa y con pacientes con otras enfermedades de origen inflamatorio [36]. Desafortunadamente este estudio no incluyó pacientes con otras glomerulopatías, y el análisis fue realizado en pacientes que ya habían recibido tratamiento inmunosupresor, lo que significa que es plausible que los niveles de TWEAK-u podrían haber sido modificados a causa del tratamiento. En otro trabajo interesante publicado en el 2012, Xuejing y cols. evaluaron los niveles de TWEAK-u como biomarcador de actividad lúpica renal en 46 pacientes con LES (12 sin actividad renal y 34 con NL); sus resultados mostraron niveles urinarios significativamente superiores en pacientes con NL [37]. A pesar de los hallazgos, este trabajo no incluyó como controles individuos clínicamente sanos ni con otro tipo de glomerulopatías. En un estudio reciente por Salem y cols., ellos observaron que pacientes con nefritis lúpica tienen niveles más altos de TWEAK-u que pacientes sin actividad renal; de manera interesante, los valores de sensibilidad y especificidad fueron cercanos a 100 % [38]. Estos resultados fueron similares a los reportados por Reyes-Martínez y cols. [39].

Quimiocinas por otro lado, son citocinas cuyas dianas son receptores de quimiocinas en la superficie de células leucocitarias e inducen una serie de cascadas de señalización para que el leucocito viaje a los sitios de inflamación. Las quimiocinas son proteínas pequeñas (8-15 kDa.) y están compuestas por las familias C, C-C, C-X-C y C-X3-C

[40]. Existe un cuerpo de evidencia bastante sólido que muestra la relación entre los niveles desregulados de determinadas quimiocinas y el LES.

CXCL13

Es una quimiocina que se expresa de forma abundante en células B y células T CD4+ folicular. Esta molécula se ha encontrado aumentada de forma consistente en pacientes con NL, aún antes del inicio de la NL. Las células que expresan esta quimiocina son estimuladas para que produzcan autoanticuerpos, y se cree que adicionalmente a su función quimioatrayente, CXCL13 puede activar de forma directa a los podocitos renales, induciendo la liberación de una serie de citocinas proinflamatorias. Se ha visto que el silenciamiento de células expresoras de CXCL13 es útil en el tratamiento del LES [41].

102

CXCL12

CXCL2 es el ligando del receptor de quimiocinas CXCR4 y está involucrada en la patogénesis del LES. Esta quimiocina no solo promueve infiltración leucocitaria, sino que también afecta directamente las células del tejido renal [42].

CXCL16

Es una quimiocina que se expresa en la superficie de células dendríticas y macrófagos, con importantes funciones en el reclutamiento de células T y células NK, y adhesión intracelular mediada por interacciones con su receptor CXCR6 [43]. Wu y colegas encontraron niveles elevados de CXCL16 en la orina de ratones con nefritis lúpica espontánea. Además, CXCL16 presenta niveles de expresión elevados en tejido renal de ratones enfermos, y la orina de pacientes humanos

con LES presenta también niveles altos de esta quimiocina, con una muy buena correlación con SLEDAI. CXCL16 tuvo un área bajo la curva (ROC) de 0,86, denotando buena sensibilidad y especificidad para distinguir pacientes con LES de individuos sanos [14]. El-Gamasy y colaboradores encontraron también niveles urinarios significativamente elevados de CXCL16 en una cohorte de pacientes con LES comparado con individuos clínicamente sanos, y estos niveles altos también se correlacionaron con enfermedad activa [44]. Wen y colaboradores evaluaron los niveles de CXCL16 en orina de pacientes con LES con y sin compromiso renal, y encontraron que los pacientes con enfermedad activa presentaron niveles más altos de esta quimiocina. Adicionalmente, la expresión en tejido de CXCL16 fue también mayor en pacientes con NL [45]. En su conjunto, estos trabajos muestran el potencial de esta quimiocina como un verdadero biomarcador de actividad renal en pacientes LES.

IP10 (CXCL10)

La proteína 10 inducible por interferón-gamma (IP10), también conocida como CXCL10, es una quimiocina secretada por células endoteliales estimuladas por interferón-gamma, fibroblastos y monocitos. Junto con su receptor CXCR3, IP10 promueve la migración de células T a sitios de inflamación y también se sabe que esta quimiocina regula negativamente angiogénesis [46]. Avihingsanon y colaboradores estudiaron la expresión de ARN mensajero (ARNm) urinario de IP10 en 26 pacientes, de los cuales 14 presentaban nefritis lúpica grado IV y 12 otras clases de NL. Ellos encontraron niveles significativamente elevados de IP10 en pacientes con NLIV cuando comparado con pacientes con otros tipos de NL. La curva ROC para el ARNm de IP10 tuvo un área bajo la curva de 0.89 comparado a un área bajo la curva de 0,55 para proteinuria en

24 horas, indicando que el ARNm de IP10 urinario es significativamente mejor como biomarcador de NLIV. Adicionalmente, pacientes que responden mejor al tratamiento tuvieron niveles significativamente inferiores de IP10, sugiriendo que IP10 puede ser usado como un barómetro para eficacia del tratamiento [47].

Los niveles urinarios de IP10 han sido extensivamente investigados en pacientes con LES y con LN en varios trabajos clínicos [47-49], y a pesar que la tendencia es encontrar esta quimiocina elevada en casos con enfermedad activa, la evidencia es inconclusa. Recientemente un metaanálisis fue conducido para explorar el valor predictivo real de esta quimiocina como un potencial biomarcador en el LES. El resultado de este metaanálisis fue que IP10 en orina tuvo una tendencia a encontrarse aumentada en pacientes con NL activa comparado con pacientes con NL inactiva, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa. No obstante, IP10 en orina se correlacionó de forma positiva con SLEDAI [50]. El valor de esta quimiocina como un verdadero biomarcador de actividad lúpica necesitará más trabajos, pero la evidencia existente indica que podría ser una molécula interesante para explorar en una cohorte grande de pacientes.

PROTEÍNA 1 QUIMIOATRAYENTE DE MONOCITOS (MCP-1)

MCP-1 es una quimiocina leucocitaria que interviene en la respuesta inflamatoria [51]. En un modelo animal de NL, el bloqueo de MCP-1 atenuó el daño renal [52]. En varios estudios realizados en diferentes centros, los niveles de MCP-1 urinarios correspondieron al nivel de actividad de la NL y en individuos que no respondieron al tratamiento tuvieron niveles elevados de esta quimiocina de forma

persistente [53-55]. Un metanálisis que incluyó 399 pacientes de 8 centros demostró que los niveles de MCP-1 en orina estuvieron significativamente aumentados en pacientes con NL activa cuando comparados con pacientes con NL inactiva e individuos clínicamente sanos [56].

CONCLUSIONES REMARCABLES

Existe la necesidad urgente de encontrar un verdadero biomarcador para la nefritis lúpica. Un resumen de los potenciales biomarcadores revisados en este capítulo y otros que no fueron mencionados en este trabajo se encuentran en la Tabla 1, que muestra que muchas de esas proteínas no solo se correlacionan con enfermedad activa y daño renal, sino que también pueden predecir recaídas, respuesta al tratamiento e histología. Aunque la mayoría de esos estudios son preliminares, sus resultados son esperanzadores. Somos optimistas que un biomarcador emergerá con la habilidad de mejorar el manejo y la disminución de la morbilidad y mortalidad de esta manifestación de la enfermedad difícil de controlar. En la actualidad, sin embargo, nadie ha demostrado la utilidad de estas moléculas en estudios longitudinales con grandes cohortes de pacientes. En este punto, quizá sea preferible canalizar fuentes y esfuerzos hacia estudios clínicos que determinen el poder predictivo de estas moléculas conocidas en estudios multicéntricos con pacientes con LES, en vez de seguir buscando nuevas moléculas. Un grupo de biomarcadores que en su conjunto han mostrado excelentes resultados para mostrar enfermedad lúpica activa y predecir recaídas es el *Renal Activity Index for Lupus (RAIL)* [9], el cual necesitará ser validado en cohortes grandes de pacientes con LES con nefritis lúpica, en estudios longitudinales multicéntricos. Solo entonces descubriremos si estos biomarcadores promisorios en verdad pueden convertirse en soluciones

reales para una enfermedad que cobra miles de vidas anualmente en el mundo entero.

BIBLIOGRAFÍA

1. A. T. Borchers, S. M. Naguwa, Y. Shoenfeld, y M. E. Gershwin, «The geoepidemiology of systemic lupus erythematosus», *Autoimmun. Rev.*, vol. 9, n.o 5, pp. A277-A287, mar. 2010, doi: 10.1016/j.autrev.2009.12.008.
2. R. C. Lawrence et al., «Estimates of the prevalence of arthritis and selected musculoskeletal disorders in the United States», *Arthritis Rheum.*, vol. 41, n.o 5, pp. 778-799, may 1998, doi: 10.1002/1529-0131(199805)41:5<778::AID-ART4>3.0.CO;2-V.
3. L. T. Hiraki et al., «End-stage renal disease due to lupus nephritis among children in the US, 1995-2006», *Arthritis Rheum.*, vol. 63, n.o 7, pp. 1988-1997, jul. 2011, doi: 10.1002/art.30350.
4. M. Klein-Gitelman, A. Reiff, y E. D. Silverman, «Systemic lupus erythematosus in childhood», *Rheum. Dis. Clin. North Am.*, vol. 28, n.o 3, pp. 561-577, vi-vii, ago. 2002.
5. G. D'Amico y C. Bazzi, «Pathophysiology of proteinuria», *Kidney Int.*, vol. 63, n.o 3, pp. 809-825, mar. 2003, doi: 10.1046/j.1523-1755.2003.00840.x.
6. C. Landolt-Marticorena et al., «A discrete cluster of urinary biomarkers discriminates between active systemic lupus erythematosus patients with and without glomerulonephritis», *Arthritis Res. Ther.*, vol. 18, n.o 1, p. 218, 04 2016, doi: 10.1186/s13075-016-1120-0.
7. B. H. Rovin et al., «Plasma, urine, and renal expression of adiponectin in human systemic lupus erythematosus», *Kidney*

- Int., vol. 68, n.o 4, pp. 1825-1833, oct. 2005, doi: 10.1111/j.1523-1755.2005.00601.x.
8. M. Suzuki et al., «Initial Validation of a Novel Protein Biomarker Panel for Active Pediatric Lupus Nephritis», *Pediatr. Res.*, vol. 65, n.o 5, pp. 530-536, may 2009, doi: 10.1203/PDR.0b013e31819e4305.
 9. H. I. Brunner et al., «Urine Biomarkers to Predict Response to Lupus Nephritis Therapy in Children and Young Adults», *J. Rheumatol.*, vol. 44, n.o 8, pp. 1239-1248, 2017, doi: 10.3899/jrheum.161128.
 10. S. A. Varghese et al., «Urine Biomarkers Predict the Cause of Glomerular Disease», *J. Am. Soc. Nephrol.*, vol. 18, n.o 3, pp. 913-922, mar. 2007, doi: 10.1681/ASN.2006070767.
 11. K. Kopetschke et al., «The cellular signature of urinary immune cells in Lupus nephritis: new insights into potential biomarkers», *Arthritis Res. Ther.*, vol. 17, p. 94, abr. 2015, doi: 10.1186/s13075-015-0600-y.
 12. P. Enghard et al., «Urinary CD4 T cells identify SLE patients with proliferative lupus nephritis and can be used to monitor treatment response», *Ann. Rheum. Dis.*, vol. 73, n.o 1, pp. 277-283, ene. 2014, doi: 10.1136/annrheumdis-2012-202784.
 13. P. Enghard et al., «CXCR3+CD4+ T cells are enriched in inflamed kidneys and urine and provide a new biomarker for acute nephritis flares in systemic lupus erythematosus patients», *Arthritis Rheum.*, vol. 60, n.o 1, pp. 199-206, ene. 2009, doi: 10.1002/art.24136.

14. T. Wu et al., «Elevated urinary VCAM-1, P-selectin, soluble TNF receptor-1, and CXC chemokine ligand 16 in multiple murine lupus strains and human lupus nephritis», *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 179, n.o 10, pp. 7166-7175, nov. 2007, doi: 10.4049/jimmunol.179.10.7166.
15. M. Hanaoka et al., «Urinary free light chain is a potential biomarker for ISN/RPS class III/IV lupus nephritis», *Rheumatol. Oxf. Engl.*, vol. 52, n.o 12, pp. 2149-2157, dic. 2013, doi: 10.1093/rheumatology/ket108.
16. S. Soliman y C. Mohan, «Lupus nephritis biomarkers», *Clin. Immunol. Orlando Fla*, vol. 185, pp. 10-20, 2017, doi: 10.1016/j.clim.2016.08.001.
17. X. Zhang et al., «Biomarkers of lupus nephritis determined by serial urine proteomics», *Kidney Int.*, vol. 74, n.o 6, pp. 799-807, sep. 2008, doi: 10.1038/ki.2008.316.
18. P. Somparn, N. Hirankarn, A. Leelahavanichkul, W. Khovidhunkit, V. Thongboonkerd, y Y. Avihingsanon, «Urinary proteomics revealed prostaglandin H2D-isomerase, not Zn- α 2-glycoprotein, as a biomarker for active lupus nephritis», *J. Proteomics*, vol. 75, n.o 11, pp. 3240-3247, jun. 2012, doi: 10.1016/j.jprot.2012.03.034.
19. R. Misra y R. Gupta, «Biomarkers in lupus nephritis», *Int. J. Rheum. Dis.*, vol. 18, n.o 2, pp. 219-232, feb. 2015, doi: 10.1111/1756-185X.12602.
20. H. Wu, J. Zeng, J. Yin, Q. Peng, M. Zhao, y Q. Lu, «Organ-specific biomarkers in lupus», *Autoimmun. Rev.*, vol. 16, n.o 4, pp. 391-397, abr. 2017, doi: 10.1016/j.autrev.2017.02.011.

21. H. Susianti et al., «Analysis of urinary TGF- β 1, MCP-1, NGAL, and IL-17 as biomarkers for lupus nephritis», *Pathophysiol. Off. J. Int. Soc. Pathophysiol.*, vol. 22, n.o 1, pp. 65-71, mar. 2015, doi: 10.1016/j.pathophys.2014.12.003.
22. M. Herrmann, T. Winkler, U. Gaipl, H. Lorenz, T. Geiler, y J. R. Kalden, «Etiopathogenesis of systemic lupus erythematosus», *Int. Arch. Allergy Immunol.*, vol. 123, n.o 1, pp. 28-35, sep. 2000, doi: 10.1159/000024421.
23. D.-Y. Chen, Y.-M. Chen, M.-C. Wen, T.-Y. Hsieh, W.-T. Hung, y J.-L. Lan, «The potential role of Th17 cells and Th17-related cytokines in the pathogenesis of lupus nephritis», *Lupus*, vol. 21, n.o 13, pp. 1385-1396, nov. 2012, doi: 10.1177/0961203312457718.
24. N. Z. Saber, S. H. Maroof, D. A. Soliman, y M. S. Fathi, «Expression of T helper 17 cells and interleukin 17 in lupus nephritis patients», *Egypt. Rheumatol.*, vol. 39, n.o 3, pp. 151-157, jul. 2017, doi: 10.1016/j.ejr.2017.01.005.
25. F. Nordin et al., «Serum and urine interleukin-17A levels as biomarkers of disease activity in systemic lupus erythematosus», *Int. J. Rheum. Dis.*, pp. 1756-185X.13615, jun. 2019, doi: 10.1111/1756-185X.13615.
26. E. Singer et al., «Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: pathophysiology and clinical applications», *Acta Physiol.*, vol. 207, n.o 4, pp. 663-672, abr. 2013, doi: 10.1111/apha.12054.
27. M. Suzuki et al., «Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of disease activity in pediatric lupus nephritis», *Pediatr. Nephrol.*, vol. 23, n.o 3, pp. 403-412, mar. 2008, doi: 10.1007/s00467-007-0685-x.

28. T. Rubinstein et al., «Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel biomarker for disease activity in lupus nephritis», *Rheumatology*, vol. 49, n.o 5, pp. 960-971, may 2010, doi: 10.1093/rheumatology/kep468.
29. B. Satirapoj, C. Kitiyakara, A. Leelahavanichkul, Y. Avihingsanon, y O. Supasyndh, «Urine neutrophil gelatinase-associated lipocalin to predict renal response after induction therapy in active lupus nephritis», *BMC Nephrol.*, vol. 18, n.o 1, p. 263, dic. 2017, doi: 10.1186/s12882-017-0678-3.
30. J. A. Winkles, «The TWEAK–Fn14 cytokine–receptor axis: discovery, biology and therapeutic targeting», *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 7, n.o 5, pp. 411-425, may 2008, doi: 10.1038/nrd2488.
31. A. B. Sanz et al., «TWEAK and the progression of renal disease: clinical translation», *Nephrol. Dial. Transplant.*, vol. 29, n.o suppl 1, pp. i54-i62, feb. 2014, doi: 10.1093/ndt/gft342.
32. S. Campbell, «The role of TWEAK/Fn14 IN the pathogenesis of inflammation and systemic autoimmunity», *Front. Biosci.*, vol. 9, n.o 1-3, p. 2273, 2004, doi: 10.2741/1395.
33. S. Campbell et al., «Proinflammatory Effects of Tweak/Fn14 Interactions in Glomerular Mesangial Cells», *J. Immunol.*, vol. 176, n.o 3, pp. 1889-1898, feb. 2006, doi: 10.4049/jimmunol.176.3.1889.
34. H.-X. Gao et al., «TNF-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) induces inflammatory and proliferative effects in human kidney cells», *Cytokine*, vol. 46, n.o 1, pp. 24-35, abr. 2009, doi: 10.1016/j.cyto.2008.12.001.

35. W.-D. Xu, Y. Zhao, y Y. Liu, «Role of the TWEAK/Fn14 pathway in autoimmune diseases», *Immunol. Res.*, vol. 64, n.o 1, pp. 44-50, feb. 2016, doi: 10.1007/s12026-015-8761-y.
36. N. Schwartz et al., «Urinary TWEAK and the activity of lupus nephritis», *J. Autoimmun.*, vol. 27, n.o 4, pp. 242-250, dic. 2006, doi: 10.1016/j.jaut.2006.12.003.
37. Z. Xuejing, T. Jiazhen, L. Jun, X. Xiangqing, Y. Shuguang, y L. Fuyou, «Urinary TWEAK Level as a Marker of Lupus Nephritis Activity in 46 Cases», *J. Biomed. Biotechnol.*, vol. 2012, pp. 1-7, 2012, doi: 10.1155/2012/359647.
38. M. N. Salem, H. A. Taha, M. Abd El-Fattah El-Feqi, N. N. Eesa, y R. A. Mohamed, «Urinary TNF-like weak inducer of apoptosis (TWEAK) as a biomarker of lupus nephritis», *Z. Für Rheumatol.*, vol. 77, n.o 1, pp. 71-77, feb. 2018, doi: 10.1007/s00393-016-0184-1.
39. F. Reyes-Martínez et al., «Assessment of urinary TWEAK levels in Mexican patients with untreated lupus nephritis: An exploratory study», *Nefrol. Engl. Ed.*, vol. 38, n.o 2, pp. 152-160, mar. 2018, doi: 10.1016/j.nefro.2018.02.006.
40. X. Liao, T. Pirapakaran, y X. M. Luo, «Chemokines and Chemokine Receptors in the Development of Lupus Nephritis», *Mediators Inflamm.*, vol. 2016, pp. 1-15, 2016, doi: 10.1155/2016/6012715.
41. K. A. Nikolova, N. M. Mihaylova, E. N. Voynova, A. I. Tchorbanov, R. E. Voll, y T. L. Vassilev, «Selective silencing of autoreactive B lymphocytes-Following the Nature's way», *Autoimmun. Rev.*, vol. 9, n.o 11, pp. 775-779, sep. 2010, doi: 10.1016/j.autrev.2010.06.010.

42. G. Badr et al., «Infection of Female BWF1 Lupus Mice with Malaria Parasite Attenuates B Cell Autoreactivity by Modulating the CXCL12/CXCR4 Axis and Its Downstream Signals PI3K/AKT, NFκB and ERK», *PLoS One*, vol. 10, n.o 4, p. e0125340, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0125340.
43. P. J. Gough, K. J. Garton, P. T. Wille, M. Rychlewski, P. J. Dempsey, y E. W. Raines, «A disintegrin and metalloproteinase 10-mediated cleavage and shedding regulates the cell surface expression of CXC chemokine ligand 16», *J. Immunol. Baltim. Md 1950*, vol. 172, n.o 6, pp. 3678-3685, mar. 2004, doi: 10.4049/jimmunol.172.6.3678.
44. M. A. El-Gamasy y W. El-Naghy, «Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin and Urinary Soluble CXCL16 as Biomarkers of Activity in Pediatric Lupus Nephritis», *Indian J. Nephrol.*, vol. 28, n.o 6, pp. 427-432, dic. 2018, doi: 10.4103/ijn.IJN_265_17.
45. S. Wen, F. He, X. Zhu, S. Yuan, H. Liu, y L. Sun, «IFN-γ, CXCL16, uPAR: potential biomarkers for systemic lupus erythematosus», *Clin. Exp. Rheumatol.*, vol. 36, n.o 1, pp. 36-43, feb. 2018.
46. A. D. Luster, «Chemokines--chemotactic cytokines that mediate inflammation», *N. Engl. J. Med.*, vol. 338, n.o 7, pp. 436-445, feb. 1998, doi: 10.1056/NEJM199802123380706.
47. Y. Avihingsanon et al., «Measurement of urinary chemokine and growth factor messenger RNAs: a noninvasive monitoring in lupus nephritis», *Kidney Int.*, vol. 69, n.o 4, pp. 747-753, feb. 2006, doi: 10.1038/sj.ki.5000132.

48. J. W. Bauer et al., «Interferon-regulated chemokines as biomarkers of systemic lupus erythematosus disease activity: a validation study», *Arthritis Rheum.*, vol. 60, n.o 10, pp. 3098-3107, oct. 2009, doi: 10.1002/art.24803.
49. K. O. Kong et al., «Enhanced expression of interferon-inducible protein-10 correlates with disease activity and clinical manifestations in systemic lupus erythematosus», *Clin. Exp. Immunol.*, vol. 156, n.o 1, pp. 134-140, abr. 2009, doi: 10.1111/j.1365-2249.2009.03880.x.
50. P. Puapatanakul et al., «Interferon-Inducible Protein 10 and Disease Activity in Systemic Lupus Erythematosus and Lupus Nephritis: A Systematic Review and Meta-Analysis», *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 20, n.o 19, p. 4954, oct. 2019, doi: 10.3390/ijms20194954.
51. W. Lv, G. W. Booz, Y. Wang, F. Fan, y R. J. Roman, «Inflammation and renal fibrosis: Recent developments on key signaling molecules as potential therapeutic targets», *Eur. J. Pharmacol.*, vol. 820, pp. 65-76, feb. 2018, doi: 10.1016/j.ejphar.2017.12.016.
52. R. Gupta, A. Yadav, y A. Aggarwal, «Longitudinal assessment of monocyte chemoattractant protein-1 in lupus nephritis as a biomarker of disease activity», *Clin. Rheumatol.*, vol. 35, n.o 11, pp. 2707-2714, nov. 2016, doi: 10.1007/s10067-016-3404-9.
53. B. H. Rovin, H. Song, D. J. Birmingham, L. A. Hebert, C. Y. Yu, y H. N. Nagaraja, «Urine chemokines as biomarkers of human systemic lupus erythematosus activity», *J. Am. Soc. Nephrol. JASN*, vol. 16, n.o 2, pp. 467-473, feb. 2005, doi: 10.1681/ASN.2004080658.

54. O. Kulkarni et al., «Spiegelmer Inhibition of CCL2/MCP-1 Ameliorates Lupus Nephritis in MRL-(Fas)lpr Mice», *J. Am. Soc. Nephrol.*, vol. 18, n.o 8, pp. 2350-2358, ago. 2007, doi: 10.1681/ASN.2006121348.
55. R. Singh, Usha, S. Rathore, S. Behura, y N. Singh, «Urinary MCP-1 as diagnostic and prognostic marker in patients with lupus nephritis flare», *Lupus*, vol. 21, n.o 11, pp. 1214-1218, oct. 2012, doi: 10.1177/0961203312452622.
56. Y. H. Lee y G. G. Song, «Urinary MCP-1 as a biomarker for lupus nephritis: a meta-analysis», *Z. Rheumatol.*, vol. 76, n.o 4, pp. 357-363, may 2017, doi: 10.1007/s00393-016-0109-z.

Cómo citar este capítulo:

Pacheco Lugo, L., Arrieta Bravo, V. y Díaz Olmos, Y. (2020). Biomarcadores urinarios en la Nefritis Lúpica y su potencial aplicación clínica. En: G. Aroca Martínez y E. Navarro Quiroz (Edit.) *Avances investigativos en Nefritis Lúpica* (pp.95-114) Barranquilla: Ediciones Universidad Simón Bolívar.

miRNAs CIRCULANTES EN PLASMA COMO BIOMARCADORES DIAGNÓSTICOS DE LA NEFRITIS LÚPICA

Elkin Navarro-Quiroz¹
Lorena Gómez Escorcia²
Roberto Navarro-Quiroz³
Linda Atencio Ibarra

INTRODUCCIÓN

La nefritis lúpica (LN) es la más común y una de las manifestaciones más graves del LES [1,2], con informes de supervivencia renal a 5 años que oscilan entre el 46 % y el 95 % con tratamiento [3]. La afectación renal en el LES sigue siendo una causa importante de morbilidad y mortalidad. El pronóstico de LN es particularmente malo en ciertos grupos étnicos, como los afroamericanos y los hispanos [4].

-
- 1 Universidad Simón Bolívar. Barranquilla, Colombia.
enavarro26@unisimonbolivar.edu.co
 - 2 Estudiante del programa de Medicina. Universidad Simón Bolívar.
 - 3 CMCC- Centro de Matemática, Computação e Cognição, Laboratório de Biologia Computacional e Bioinformática – LBCB, Universidade Federal do ABC, Sao Paulo, Brasil.

La patogénesis de la LN es un proceso complejo, que implica la deposición de autoanticuerpos en el glomérulo, la activación del complemento y los macrófagos, la proliferación celular y la producción de proteínas de la matriz extracelular, citoquinas proinflamatorias y quimiocinas, las cuales se enlazan a través de múltiples mecanismos para causar daño tubular, inflamación tubulointersticial y fibrosis [5].

La biopsia renal es el patrón oro para proporcionar información sobre las clases histológicas de LN y el grado relativo de actividad y cronicidad en los glomérulos. Sin embargo, es invasivo y las biopsias en serie son poco prácticas en el monitoreo de LN. Por lo tanto, son claramente necesarios nuevos biomarcadores que sean capaces de discriminar la actividad renal lúpica y su gravedad, predecir bengalas renales y supervisar la respuesta al tratamiento y el progreso de la enfermedad. Micro ARNs son cortos no codificación de las secuencias de ARN que regulan la expresión génica mediante el bloqueo de la traducción de proteínas o inducir la degradación del ARNm [6]. La variación de los niveles de miARN podría causar la desregulación de una amplia gama de genes dirigidos que pueden conducir a la enfermedad. La expresión alterada de miRNAs en el riñón durante los procesos patológicos hace miRNAs una nueva herramienta valiosa para la comprensión, el diagnóstico y el descubrimiento de terapias alternativas para el LES y LN. Varios estudios han informado de la posibilidad de miRNAs como biomarcadores de la lesión renal en el LES [7 - 9]. En este estudio se evaluaron los miRNAs que circulan en muestras plasmáticas de individuos con diferentes estadios de afectación renal utilizando un método de secuenciación de alto rendimiento y se encontró un grupo de miRNAs cuyo patrón de expresión se correlaciona con la afectación renal en pacientes con LES. Hasta

donde sabemos, este es el primer estudio que ha utilizado un grupo de pacientes con diferente participación de lesión renal en el LES para comparar los miARNs circulantes utilizando la secuenciación a gran escala. El propósito del presente estudio es evaluar el potencial uso de microRNAs circulantes en plasma de pacientes con nefritis lúpica.

MÉTODOS

Tipo de estudio

Estudio observacional, analítico y de corte transversal, de casos y controles.

MUESTRA

La recolección de la muestra fue sistemática de acuerdo a la notificación de sujetos de investigación por parte de las IPS. 120 pacientes con nefritis lúpica, 40 pacientes con lupus sin nefritis lúpica y 40 individuos sanos. Los pacientes participantes en este estudio fueron individuos que llegaron con diagnóstico de Lupus Eritematoso Sistémico a la Unidad Renal de la clínica. Allí, el nefropatólogo de la unidad realizó la biopsia y se determina el grado de compromiso renal en un período que oscila entre 24 y 48 horas. El diagnóstico histopatológico se hizo acorde con la clasificación aceptada internacionalmente (Weening, 2004). Nefritis Lúpica activa se definió como proteinuria persistente mayor a 0,5 gr durante un período de 24 horas; la presencia de cilindros celulares, proteinuria y/o hematuria en urianálisis y/o altos niveles de creatinina sérica (30 % de incremento por encima del valor habitual).

CRITERIOS DE INCLUSIÓN:

- Firma de consentimiento informado.

- Diagnóstico de lupus basado en los criterios del Colegio Americano de Reumatología.
- Diagnóstico de nefritis lúpica por biopsia renal.

Criterios de exclusión

- Pacientes que no hayan firmado el consentimiento informado.
- Pacientes que sufran de otras enfermedades autoinmunes o de origen inmunológico
- Obtención de muestras de sangre.
- Las muestras biológicas fueron obtenidas por punción venosa periférica con tubos al vacío con EDTA para la obtención del ARN total. Cada uno de los tubos fue debidamente rotulado (código, fecha, origen de la muestra, etc.). Los datos de identificación fueron confidenciales. Las muestras se almacenaron a 4°C hasta su procesamiento.

Protocolo de extracción de ARN

A las muestras de plasma, se les realizó la extracción de ARN de acuerdo a las recomendaciones del fabricante (MagMax™ mirVana™ Total RNA Isolation Kit). La cantidad y pureza/integridad de cada muestra fue cuantificada usando un espectofotómetro tipo nanodrop. Todos los materiales y soluciones fueron manipulados en condiciones libres de RNasas. La superficie de trabajo de la cabina de flujo laminar fue tratada con “RNaseZap” (Invitrogen) previo al inicio de cada sesión de trabajo. Todas las soluciones fueron preparadas en agua libre de RNasas. Guantes estériles, material de plástico y pipetas serán reservadas solo para el trabajo con ARN.

Metodología para la secuenciación profunda de ARN

El análisis de secuenciación profunda por el sistema de secuenciación de Solexa, en breve se realizó en primer lugar un fraccionamiento del genoma, seguido de la amplificación clonal de fragmentos de

ADN sobre la superficie sólida de una celda de flujo. De esta forma se crearon racimos de fragmentos clonados. Luego se hizo la secuenciación mediante síntesis usando cuatro nucleótidos (A, C, T, G) marcados con fluorescencia de distintos colores para la secuenciación de los millones de racimos presentes en la superficie de la celda de flujo. Estos nucleótidos modificados contenían terminaciones reversibles, lo que permitió que en cada ciclo del proceso de secuenciación ocurriera en presencia de los cuatro nucleótidos simultáneamente.

Las secuencias de ARN pequeñas obtenidas de este análisis de secuenciación profunda fueron analizadas en diferentes bases de datos para observar homología con secuencias conocidas ARN, entre las que se incluyen: miRNA's (miRNA Sanger Database), ARN asociado con Piwi o piARN (NCBI Entrez Nucleotide database), ARN ribosomales ("The European ribosomal RNA database"), ARN de transferencias (The Genomic tRNA database), ARN mensajeros (NCBI Reference Sequence), y otras secuencias genómicas humanas (The UCSC Genome Bioinformatics Site). El análisis de expresión diferencial se realizó mediante la estimación de abundancia relativa de las lecturas, mediante el alineamiento global sin gaps de estas contra el transcriptoma ensamblado, posteriormente el análisis de expresión diferencial comparativa se realizará con la rutina edgeR del paquete estadístico R.

MÉTODOS PARA ANÁLISIS DE LA EXPRESIÓN DIFERENCIAL DE miRNAs

La selección de los miRNAs expresados diferencialmente se hizo con base en los siguientes parámetros:

- Cambios en la proporción de expresión [Fold Change – (FC)] mayores 2 o menores de - p value menor de 0,05

- Se realizó un test exacto de Fisher para evaluar la significancia de la expresión diferencial de miRNAs en cada una de las condiciones biológicas con una significancia estadística de $P \leq 0,05$. - q value igual o menor de 0,2.
- El valor q es una extensión de una cantidad llamada “tasa de descubrimiento falso” (FDR). Se requiere controlar la proporción esperada de hipótesis falsas rechazadas, tasa de falso descubrimiento. Es la probabilidad de que al menos un error ocurra en los resultados que, a grosso modo, es la parte esperada de falsos hallazgos entre los descubrimientos reportados. En lugar de prohibir incluso un solo error, el FDR ofrece un compromiso directo entre la potencia de detección y la proporción de errores.

Validación por qRT-PCR

120

El ADNc fue sintetizado a partir del ARN total utilizando el estuche “TaqMan” de transcripción reversa de MicroARN y el estuche de transcripción reversa de alta capacidad (Applied Biosystems, Foster City, CA). Las condiciones de reacción y las cantidades de ARN, cebadores, dNTP’s, buffer de transcripción reversa y demás constituyentes de la reacción de retrotranscripción fueron estandarizadas en el laboratorio. La cuantificación de la expresión se realizó por el método del doble delta Ct., usando como gen normalizador el hsa-miR-26b-5p (478418_mir, Cat. # A25576, Thermo Fisher Scientific)

CONSIDERACIONES ÉTICAS

Este trabajo no representa ningún riesgo contra la vida de los pacientes involucrados en esta investigación, la cual cumplirá con todas las disposiciones de la Declaración de Helsinki, las normas científicas técnicas y administrativas para la investigación en salud contempladas en la Resolución 08430 de 1993 del Ministerio de

Salud en lo concerniente a “la investigación en órganos, tejidos y sus derivados, productos y cadáveres de seres humanos” (Título II, Capítulo VI), “las investigaciones de nuevos recursos profilácticos, de diagnóstico, terapéuticos y de rehabilitación” (Título III) y de “la bioseguridad de las investigaciones en lo referente a la investigación con microorganismos patógenos o material biológico” (Título IV Capítulo I) y cuenta con la aprobación del comité de Ética de Investigación de la Universidad y de la clínica.

Todos los pacientes antes de entrar al estudio fueron informados sobre la investigación a la cual serían sometidos para después incluir su firma en el consentimiento informado.

Los datos obtenidos son solo con fines de investigación, los cuales se reportarán con códigos asignados para guardar la privacidad del paciente. Fue de importancia el criterio del respeto a la dignidad y la protección de los derechos y el bienestar de los sujetos incluidos en el estudio.

Impacto Ambiental

El desarrollo del proyecto, en su metodología no pretende tener un impacto negativo en el medioambiente o la salud humana a corto, mediano o largo plazo. Los procesos involucrados en el desarrollo del proyecto cumplirán con la normatividad ambiental vigente en Colombia. Esta se rige por las normas de protección ambiental y adecuado manejo de los desechos por lo que no afectará el medio natural ni la salud humana, regidas a partir de La ley 99 de 1993. El manejo de los desechos biológicos y están regidos por la normatividad establecida para los laboratorios de genética de la universidad, la cual está regida por el Decreto 1713/2002 del Ministerio de Desarrollo

económico (<http://www.superservicios.gov.co/basedoc/docs/decretos/d1713002.html>) y 1741/2005 y por el Decreto 4741/2005 del Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial. La manipulación de los productos biológicos se realizará bajo las normas de protección y seguridad que protegerá el recurso humano que manipulará las muestras sanguíneas.

RESULTADOS

Tabla 1. Distribución de los casos de LN correspondientes en cada clase en la clasificación ISN / RPS (2003) incluidos en el estudio

Class		Brief description	Number	Age (median)	Gender (F)
II (mesangial proliferative LN)		Purely mesangial hypercellularity of any degree OR mesangial matrix expansion by light microscopy with mesangial immune deposits	20	24	19
III (focal LN)	III (A)	Active lesions	0	0	0
	III (A/C)	Active and chronic lesions	12	32	11
	III (C)	Chronic inactive lesions	28	34	26
IV (diffuse LN)	IV-S (A)	Active: diffuse segmental proliferative LN	2	27	2
	IV-G (A)	Active: diffuse global proliferative LN	8	24	8
	IV-S (A/C)	Active and chronic: diffuse segmental proliferative and sclerosing LN	4	22	4
	IV-G (A/C)	Active and chronic: diffuse global proliferative and sclerosing LN	16	27	15
	IV-S (C)	Chronic inactive: diffuse segmental sclerosing LN	1	16	1
	IV-G (C)	Chronic inactive: diffuse global sclerosing LN	9	28	9

Tabla 2. Características del grupo de estudio LNN en términos de edad, sexo y actividad de la enfermedad medida por la escala SLEDAI

	SLEDAI
SLEDAI score	>5
Group size	40
Mean SLEDAI	14
Median SLEDAI	13
Min–Max SLEDAI	7–29
Mean age	36.7 ± 14.9
Median age	32
Gender	♀: 40 (100%)
	♂: 0 (0%)

Patrones de abundancia diferencial de miRNAs en individuos SLE

Mediante secuenciación profunda examinamos exhaustivamente la abundancia plasmática de miRNAs en pacientes con LNII, LNIII o LNIV en comparación con los niveles plasmáticos de miARN en pacientes con lupus sin nefritis (LNN) o control de individuos sanos (CTL). El Análisis de Componentes Principales (PCA) de los perfiles de miARN mostró que las muestras de pacientes con LN y LNN se separan de los individuos de control sanos. (Figura 1)

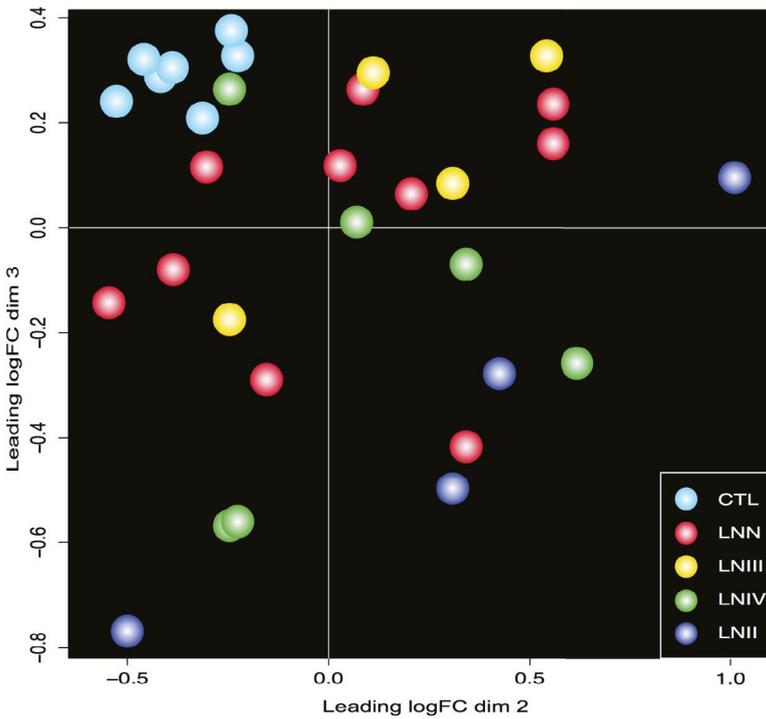


Figura 1. Análisis de Componentes Principales (PCA) de los grupos de estudio. Se usó PCA bidimensional para evaluar diferencias entre los miRNAs entre los grupos de estudio

Fuente: Elaboración propia

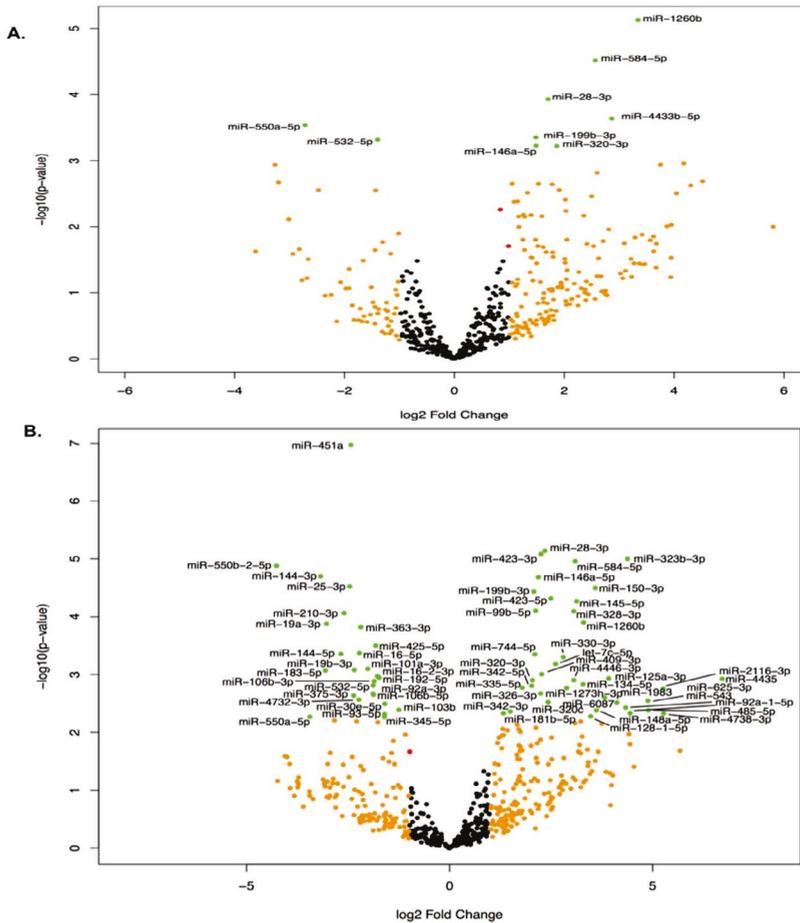


Figura 2. Volcano plots que representan el análisis de expresión diferencial de miARN entre grupos de pacientes e individuos control. A) Pacientes con Lupus No Nefritis (LNN) en comparación con individuos control sanos (CTL). B) Lupus Nephritis II (LNI) pacientes en comparación con CTL individuos. Puntos naranja, miRNAs con log₂ Fold change > 1; Puntos rojos, miRNAs con un valor q < 0,2; Los gráficos muestran la presencia de miRNAs (representados por puntos) que tienen un perfil de abundancia diferencial estadísticamente significativo, como lo demuestran los valores de p y los valores de cambio de pliegue (p < 0,05). Los miRNAs de interés se destacan en color verde)

Fuente: Elaboración propia

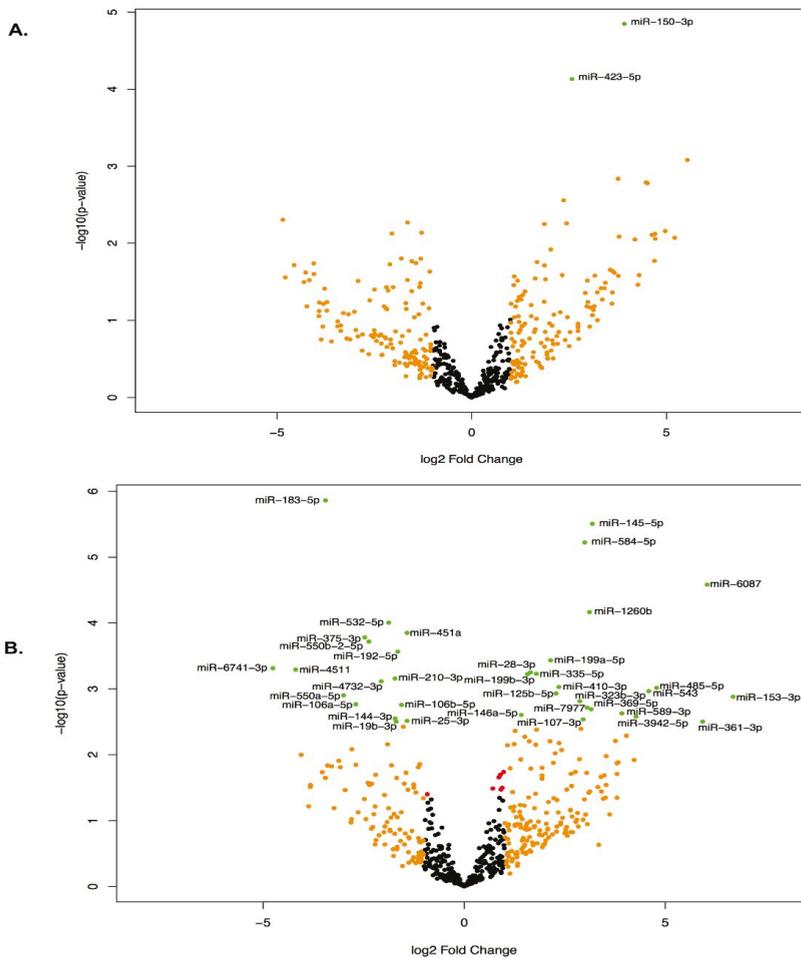


Figura 3. Volcano plots que representan el análisis de expresión diferencial de miARN entre grupos de pacientes y individuos control. A) Lupus Nephritis III (LNIII) pacientes en comparación con los individuos CTL. B) Lupus Nephritis IV (LNIV) pacientes en comparación con CTL individuos. Puntos naranja, miRNAs con \log_2 Fold change > 1 ; Puntos rojos, miARNs con un valor $q < 0,2$; Los gráficos muestran la presencia de miRNAs (representados por puntos) que tienen un perfil de abundancia diferencial estadísticamente significativo, como lo demuestran los valores de p y los valores de cambio de pliegue ($p < 0,05$). Los miRNAs de interés se destacan en color verde)

Fuente: Elaboración propia

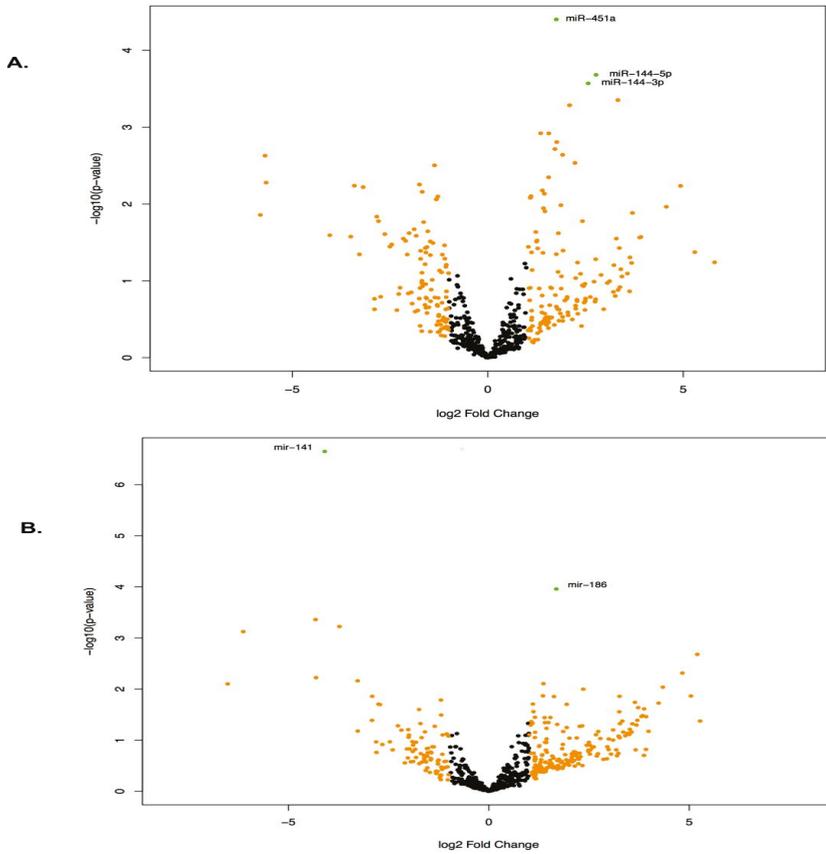


Figura 4. Volcano plots que representan el análisis de expresión diferencial de miARN entre el grupo de pacientes con LES. A) pacientes LNN en comparación con LNI. B) pacientes LNN en comparación con LNIII. Puntos naranjas, miRNAs con log₂ Fold change > 1; Puntos rojos, miARNs con un valor q < 0,2; Los gráficos muestran la presencia de miRNAs (representados por puntos) que tienen un perfil de abundancia diferencial estadísticamente significativo, como lo demuestran los valores de p y los valores de cambio de pliegue (p < 0,05). Los miRNAs de interés se destacan en color verde)

Fuente: Elaboración propia

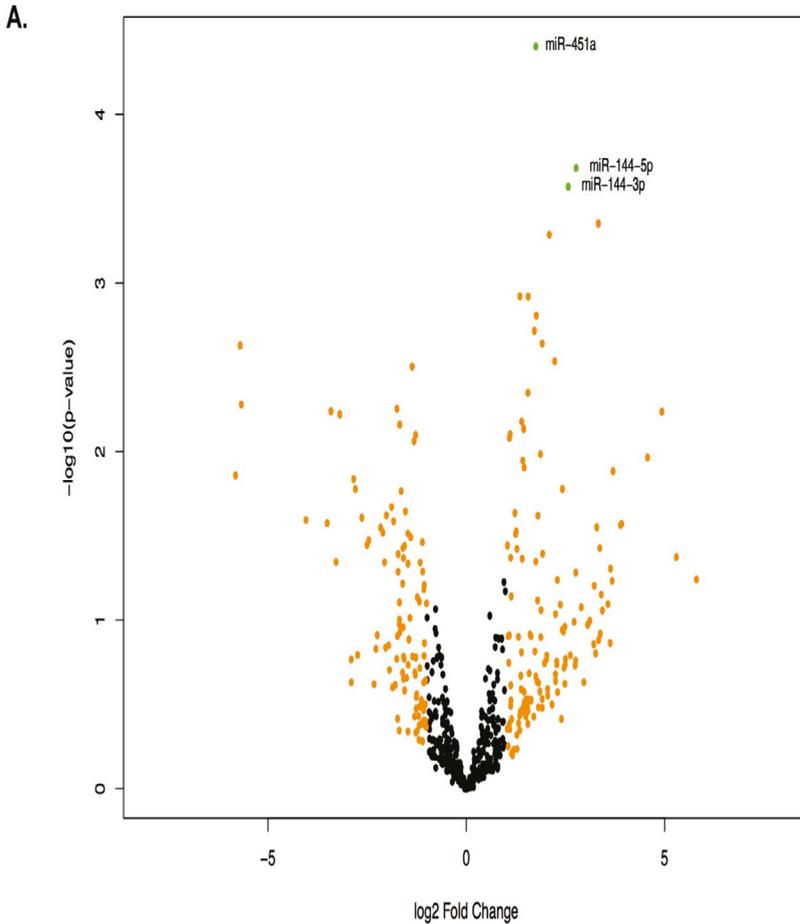


Figura 5. Volcano plots que representan el análisis de expresión diferencial de miARN entre el grupo de pacientes con LES. A) pacientes LNN en comparación con LNIV. Puntos naranja, miRNAs con \log_2 cambio de pliegue > 1 ; Puntos rojos, miRNAs con un valor $q < 0,2$; Puntos verdes, miRNAs con q -valor $< 0,05$ y Log_2 Fold change > 1 . Los gráficos muestran la presencia de miRNAs (representados por puntos) que tienen una abundancia diferencial

Fuente: Elaboración propia

Se encontraron 89 miRNAs cuya abundancia fue significativamente diferente en los pacientes con LN en comparación con los individuos CTL, y otros 17 miRNAs diferentes en abundancia en pacientes con

LN en comparación con el grupo LNN. Se utilizaron volcano plots para representar la distribución de los datos entre los sujetos del estudio y los individuos CTL (Figura 2), y los grupos intra estudio (Figuras. 3-5). Se evaluó la expresión normalizada para cada miRNA a través de los 5 grupos de muestras (datos no presentados) y se seleccionaron miR-miR-221-5p, miR-380-3p, miR-556-5p, miR-758-3p porque presentaron en los pacientes con LN, pero no en los individuos LNN y CTL, y el miR-3074-3p con lecturas en LNN pero no en LN y CTL, y utilizamos estos miRNAs para validar el diagnóstico realizado mediante biopsia renal (Figura 6) .

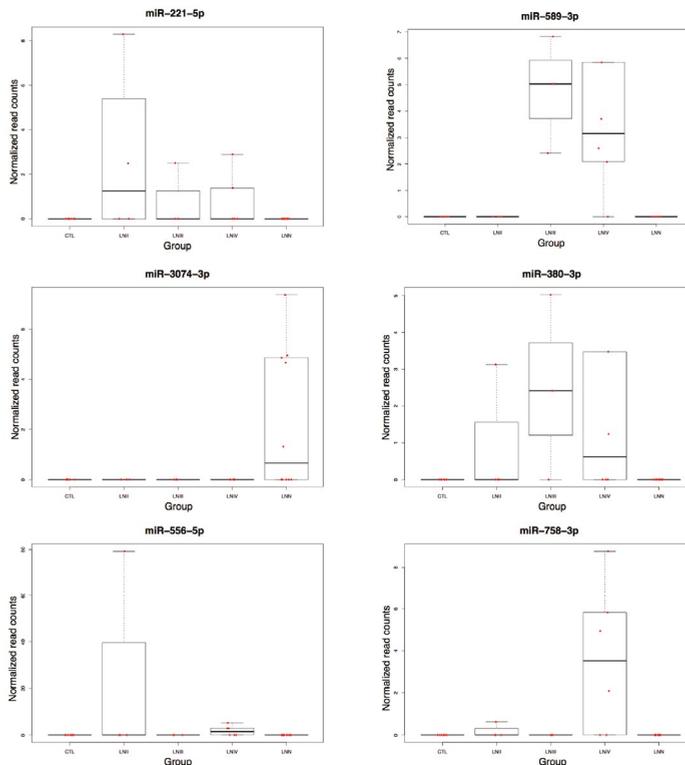


Figura 6. Box plots representan normalized reads counts de miRNAs candidatos entre diferentes grupos de muestras

Fuente: Elaboración propia

Validación de miRNAs como biomarcadores de daño renal asociado con lupus eritematoso

Basados en sus perfiles de expresión, cinco miRNAs que estaban presentes en el plasma de pacientes con LN pero no en LNN o CTL individuos fueron seleccionados como biomarcadores potenciales de daño renal (miR-221-5p, miR-380-3p, miR-556-5p, MiR-758-3p y miR-3074-3p) y validado por RT-qPCR en 100 muestras de plasma de pacientes con LN diagnosticados por biopsia renal (Tabla 1). Estos pacientes fueron clasificados de acuerdo con los criterios de la International Society of Nephrology/Renal Pathology Society (ISN/RPS) 2003. Los mismos 5 miRNAs fueron corroborados por RT-qPCR en 40 muestras de plasma de pacientes con LNN y 40 muestras de plasma de individuos sanos. Estos cinco miRNAs como un grupo fueron capaces de discriminar entre las muestras LN y LNN / CTL con muy buena sensibilidad (97 %), especificidad (70,3 %), valor predictivo positivo (82,5 %), valor predictivo negativo (96%) y eficacia diagnóstica (87,9 %). El área bajo la curva ROC (AUC) es una medida de discriminación; Un modelo con un área alta bajo la curva ROC sugiere que el modelo es capaz de predecir con exactitud el valor de la respuesta de una observación. Cuando comparamos el rendimiento combinado de miR-221-5p, miR-380-3p, miR-556-5p, miR-758-3p y miR-3074-3p obtuvimos un AUC de 0,82 (IC del 95 %: 0,7-0,9 , Valor $p < 0,0001$) que según Hosmer y Lemeshow [15] permite una excelente discriminación de los pacientes con LN de los pacientes con LNN (Fig. 7). A pesar de que estos resultados no nos permiten determinar la clase de nefritis lúpica, que era nuestro objetivo inicial, que apoyan los miRNAs miR-221-5p, miR-380-3p, miR-556-5p, miR-758-3p y MiR-3074-3p como biomarcadores potenciales de daño renal en pacientes con lupus eritematoso sistémico.

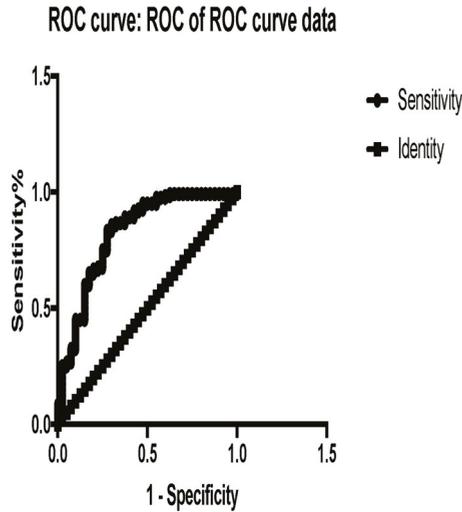


Figura 7. Curvas (ROC) para evaluar la utilidad de miRNAs para diferenciar LN de pacientes LNN

Fuente: Elaboración propia

Análisis funcional

131

Para obtener información sobre los procesos biológicos modulados por los 5 miARN candidato biomarcador, realizamos un análisis de enriquecimiento de genes con el programa DIANA-miRPath v3. (Tabla 3.)

Table 3. Potenciales genes regulados por los miRNAs candidatos como biomarcadores diagnóstico de la nefritis lúpica

Potenciales genes regulados por los miRNAs expresados diferencialmente	
miRNA	Potential molecular Targets
hsa-miR-221-5p	BCL2L2, NUFIP2, GRIK2, TMEM115, KIF3B
hsa-miR-380-3p	HECA, RBM26, SLC6A15, EIF4E, CRISPLD1
hsa-miR-556-5p	LGALS1, CSRNP2, HIPK2
hsa-miR-758-3p	PALM2-AKAP2, HIPK3, HNRNPU
hsa-miR-3074-3p	SMIM13, BTBD1

>0.7 prediction score (www.tarbase.org)

DISCUSIÓN

Los marcadores actuales de laboratorio para la nefritis lúpica, como la proteinuria, la relación en orina de proteína-creatinina, depuración de creatinina, anti-dsDNA y complemento son insatisfactorios [16] y carecen de sensibilidad y especificidad para diferenciar la actividad renal y el daño en la nefritis lúpica. La nefritis lúpica es una de las manifestaciones más graves del lupus eritematoso sistémico (LES), que se asocia con una significativa morbilidad y mortalidad en pacientes con LES. El desarrollo de pruebas de diagnóstico con alta sensibilidad que permita la detección temprana de lesión renal en pacientes con LES en lugar de la biopsia renal siguen siendo un problema crítico. En este estudio se identificó un grupo de cinco miRNAs (miR-221-5p, miR-380-3p, miR-556-5p, miR-758-3p y miR-3074-3p) con expresión diferencial en una cohorte de pacientes colombianos con LES. Nuestros resultados apoyan el potencial prometedor de estos miRNAs como biomarcadores de LN y su posible utilidad para el traslado a la práctica clínica.

132

En los últimos años miRNAs se ha demostrado que están involucrados en una amplia gama de procesos biológicos, incluyendo varias enfermedades humanas [17]. Se ha sugerido un probable vínculo entre miRNAs y LES. Dai, et al. [18] y Te, et al. [19] utilizando el análisis de microarrays informó la presencia de miRNAs diferencialmente expresado en los individuos LES y LN, respectivamente.

En este estudio, utilizando secuenciación de alto rendimiento, aislamos y analizamos miARN en muestras de plasma obtenidas de pacientes afectados por LES con diferentes grados de compromiso renal (LN clases II, III y IV), así como LES sin daño renal e individuos controles sanos. Nuestros datos indicaron que hsa-miR-221-5p,

hsa-miR-380-3p, hsa-miR-556-5p, hsa-miR-758-3p y hsa-miR-3074-3p mostraron notable precisión diagnóstica para diferenciar LN casos de LNN y por lo tanto, son potenciales biomarcadores de la enfermedad renal en pacientes con LES. Los datos descritos en este trabajo necesitan ser validados usando poblaciones más grandes. Sin embargo, algunos miRNAs con significativa abundancia diferencial se ha asociado previamente con LN [19 - 20].

En un esfuerzo por explicar la importancia fisiológica de los cinco miRNAs que se encuentran enriquecidos diferencialmente en plasma en nuestro estudio, hemos extraído la base de datos miRBase (<http://www.mirbase.org/>) con el fin de identificar objetivos validados de los cinco candidatos MiRNAs biomarcadores (Tabla 3).

LGALS1 (proteína relacionada con galectina) fue identificado como un objetivo de hsa-miR-556-5p. Mientras que la vía clásica del complemento es el fundamento de la patogénesis de la nefritis lúpica, la vía alternativa y la vía lectina parecen desempeñar un papel en la progresión del daño glomerular [21]. Los pacientes con deposición glomerular de properdina, un regulador positivo de la vía alternativa, y los pacientes con manosa vinculante lectina / L-ficolina muestran aumento de la excreción urinaria de proteínas [21]. Además, se encontró que el objetivo predicho de hsa-miR-758-3p es el factor de transcripción E2F1 y en el caso de los miARN hsa-miR-423-5p son las proteínas de unión a ácido nucleico Hox-B8 y Hox-A7. Los factores de transcripción E2F son importantes reguladores de la proliferación, diferenciación y apoptosis. Los factores de transcripción E2F y proteínas homeobox fueron previamente identificados como objetivos de miRNA perfiles en el trabajo publicado por Dai et al [14] La relación entre los factores de transcripción y LES

fue abordado por Azkargorta et al [22], que encontró una similitud entre el metabolismo para los linfocitos T deficientes en E2F2 y el de las células T lúpicas, lo que añadió nuevos conocimientos sobre la relación entre la deficiencia de LES y E2F2.

En particular, los miRNAs modulan la expresión de sus genes objetivo a un nivel óptimo, en lugar de participar en las decisiones on / off en la respuesta inflamatoria [23], proporcionando funciones únicas en las enfermedades reumáticas mediante la regulación de la inflamación. El lupus eritematoso sistémico es una enfermedad inflamatoria autoinmune crónica caracterizada por una miríada de anomalías inmunorreguladoras que conducen a lesiones de tejidos y órganos. Hasta la fecha, la etiología de la nefritis lúpica es desconocida y la caracterización de los perfiles de expresión diferencial de miRNAs contribuirá a la clarificación de los mecanismos fisiológicos involucrados en el desarrollo del lupus y de las enfermedades renales asociadas con ella. Aquí se muestran cinco vías en las que uno o más genes se prevé que se regula por al menos uno de los 5 miRNAs validado para el diagnóstico de la afectación renal en pacientes con LES. Por ejemplo, las interacciones de hsa-miR-221-5p con los genes PRNP, MAPK3, LAMC1, MAP2K1, y IL1A, se han validado experimentalmente [24 - 26]. El aumento observado en la abundancia de miR-221-5p puede ser un mecanismo homeostático para contrarrestar un aumento en la expresión de laminina-1, que se ha descrito para reemplazar la laminina-11 en la membrana basal glomerular como resultado de la sobreproducción de TGFB1 en pacientes con nefritis lúpica [27, 28]. Esto hace que los nucleosomas se unan fácilmente a la laminina-1 a través de su cadena β 1 y los nucleosomas atrapados pueden entonces promover su interacción con autoanticuerpos que aumentan la respuesta autoinmune dependientes de células T,

agudizando la patogénesis temprana de la nefritis lúpica. Además, la interacción entre los transcritos de hsa-miR-221-5p y IL1A conduce a niveles disminuidos de IL1A, Ca²⁺ + sérico, IgG1, IgE, IL17 e IL4 en suero. IL1A participa en la modulación de la homeostasis de calcio extracelular, y se ha descrito una relación directa entre las concentraciones de IL1A y Ca²⁺ + [29] que también induce una respuesta primaria y secundaria de células T CD4⁺, robusta y duradera, con un aumento en las células que producen IL17 e IL4, así como IgG1 e IgE sérica por linfocitos B [30]. Esto puede estar asociado con una disminución de la apoptosis, previamente descrito por otros autores en pacientes con nefritis lúpica [31].

La búsqueda de marcadores no invasivos para el diagnóstico de LES es actualmente una prioridad. En este estudio hemos demostrado que el uso combinado de miRNAs miR-221-5p, miR-380-3p, miR-556-5p, miR-758-3p y miR-3074-3p pueden servir como biomarcadores no invasivos para el diagnóstico de la afectación renal en el LES. Nuestra estrategia de utilizar la secuenciación de alto rendimiento (Illumina) seguida de la validación de qRT-PCR demostró ser un enfoque exitoso para identificar los perfiles plasmáticos de miARN como biomarcadores para el diagnóstico de la nefritis lúpica.

BIBLIOGRAFIA

1. Seshan SV, Jennette JC. Renal disease in systemic lupus erythematosus with emphasis on classification of lupus glomerulonephritis: advances and implications. Arch. Pathol. Lab. Med., 2009;133 (2) :233-48.
2. Bihl GR, Petri M, Fine DM. Kidney biopsy in lupus nephritis: look before you leap. Nephrol Dial Transplant. 2006; 21:1749-1752.

3. Bolton WK, Vaughan ED. A comparative study of open surgical and percutaneous renal biopsies. *J Urol* 1977; 117:696-8.
4. Radford MG, Donadio JV, et al. Renal biopsy in clinical practice. *Mayo Clin Proc* 1994; 69:983-4.
5. Wieckre CG, Golper TA. Complications of percutaneous needle biopsy of the kidney. *Am J Nephrol* 1982; 2:173-8.
6. Brissler JJ. Hemothorax as a complication of percutaneous renal biopsy. *Am J Kidney Dis* 1991; 18:122.
7. Agadjanyan, A. Peterson, J. Noteboom, K.C.O' Briant, A. Allen, D.W. Lin, N. Urban, C. W. Drescher, B. S. Knudsen, D. L. Stirewalt, R. Gentleman, R. L. Vessella, P. S. Nelson, D. B. Martin, M. Tewari, Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105(2008) 10513–10518.
8. H. Zhao, J. Shen, L. Medico, D. Wang, C.B. Ambrosone, S. Liu, A pilot study of circulating miRNAs as potential biomarkers of early stage breast cancer, *PLoS One* 5(2010)e13735.
9. C. Roth, B. Rack, V. Muller, W. Janni, K. Pantel, H. Schwarzenbach, Circulating microRNAs as blood-based markers for patients with primary and metastatic breast cancer, *Breast-Cancer Res.* 12(2010)R90.
10. H.M. Heneghan, N. Miller, A.J. Lowery, K.J. Sweeney, J. Newell, M.J. Kerin, Circulating microRNAs as novel minimally invasive biomarkers for breast cancer, *Ann. Surg.* 251(2010)499–505.
11. D.D. Taylor, C. Gercel-Taylor, MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer, *Gynecol. Oncol.* 110(2008)13–21.

12. Te JL, Dozmorov IM, Guthridge JM, Nguyen KL, Cavett JW, et al. 2010 Identification of Unique MicroRNA Signature Associated with Lupus Nephritis. *PLoS ONE* 5(5): e10344.
13. Ruiz-Irastorza G, Khamashta MA, Castellino G, Hughes GR. Systemic lupus erythematosus. *Lancet*. 2001;357:1027-32.
14. Austin HA. Clinical evaluation and monitoring of lupus kidney disease. *Lupus* 1998;7(9):618-621.
15. Domoto DT. The significance of electron dense deposits in mild lupus nephritis. *Yale J Biol Med* 1980;53:317-324.
16. Cameron. Lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10(2):413-424
17. Hricik, Chung-Park. Glomerulonephritis. *New Engl J Med* 1998;339(13):888-898.
18. Golbus J, McCune WJ. Lupus nephritis. Clasificación, prognosis, immunopathogenesis and treatment. *Rheum Clin North Am* 1994;20:213-224.
19. Boumpas DT, Balow JE. Outcome criteria for lupus nephritis trials. A critical overview. *Lupus* 1998; 7(9):622-629.
20. Appel GB, Silva FG, Pirani CL, Melzer JI, Estes D. Renal involvement in systemic lupus erythematosus (SLE): a study of 56 patients emphasizing histologic classification. *Medicine*. 1978;57:371-408.
21. Whittier WL, Korbet SM. Renal biopsy: update. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2004;13(6):661-5.
22. Mattix H, Singh AK. Is the bleeding time predictive of bleeding prior to a percutaneous renal biopsy? *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1999;8(6):715-8.

23. Hergesell O, Felten H, Andrassy K, Kühn K, Ritz E. Safety of ultrasound-guided percutaneous renal biopsy-retrospective analysis of 1090 consecutive cases. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13(4):975—7.
24. Schwarz A, Gwinner W, Hiss M, Radermacher J, Mengel M, Haller H. Safety and adequacy of renal transplant protocol biopsies. *Am J Transplant* 2005;5(8):1992—6.
25. Manno C, Strippoli GF, Arnesano L, Bonifati C, Campobasso N, Gesualdo L, et al. Predictors of bleeding complications in percutaneous ultrasound-guided renal biopsy. *Kidney Int* 2004;66(4):1570—7.
26. Eiro M, Katoh T, Watanabe T. Risk factors for bleeding complications in percutaneous renal biopsy. *Clin Exp Nephrol* 2005;9(1):40—5.
27. Stiles KP, Hill C, LeBrun CJ, Reinmuth B, Yuan CM, Abbott KC. The impact of bleeding times on major complication rates after percutaneous real-time ultrasound-guided renal biopsies. *J Nephrol* 2001;14(4):275—9.
28. Furness PN, Philpott CM, Chorbadian MT, Nicholson ML, Bosmans JL, Corthouts BL, et al. Protocol biopsy of the stable renal transplant: a multicenter study of methods and complication rates. *Transplantation* 2003;76(6):969—73.
29. Sohal AS, Gangji AS, Crowther MA, Treleaven D. Uremic bleeding: Pathophysiology and clinical risk factors. *Thromb Res* 2006;118(3):417—22.
30. John P. Cogswell, et al. Identification of miRNA Changes in Alzheimer's Disease Brain and CSF Yields Putative Biomarkers and Insights into Disease Pathways. *Journal of Alzheimer's Disease*. 2008; 14(1): 27-41

31. Jessica A. Weber, et al. The MicroRNA Spectrum in 12 Body Fluids. *Clinical Chemistry* 56: 1733-1741, 2010.
32. Kohda Y, Murakami H, Moe OW, Star RA. Analysis of segmental renal gene expression by laser capture microdissection. *Kidney Int.* 57(1), 321–331 (2000).
33. White NM, Fatoohi E, Metias M, Jung K, Stephan C, Yousef GM. Metastamirs: a stepping stone towards improved cancer management. *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 8(2), 75–84 (2010).
34. Akkina S, Becker BN. MicroRNAs in kidney function and disease. *Transl. Res.* 157(4), 236–240 (2011).
35. Li JY, Yong TY, Michael MZ, Gleadle JM. Review: the role of microRNAs in kidney disease. *Nephrology (Carlton)*15(6), 599–608 (2010).
36. Liang M, Liu Y, Mladinov D *et al.* MicroRNA: a new frontier in kidney and blood pressure research. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 297(3), F553–F558 (2009).
37. Tian Z, Greene AS, Pietrusz JL, Matus IR, Liang M. MicroRNA-target pairs in the rat kidney identified by microRNA microarray, proteomic, and bioinformatic analysis. *Genome Res.* 18(3), 404–411 (2008).
38. Sun Y, Koo S, White N *et al.* Development of a micro-array to detect human and mouse microRNAs and characterization of expression in human organs. *Nucleic Acids Res.* 32(22), e188 (2004).
39. Zhou H, Cheruvanky A, Hu X *et al.* Urinary exosomal transcription factors, a new class of biomarkers for renal disease. *Kidney Int.* 74(5), 613–621 (2008).

40. Borchers AT, Naguwa SM, Shoenfeld Y, Gershwin ME (2010) The geoepidemiology of systemic lupus erythematosus. *Autoimmun Rev* 9:A277–A287
41. Lawrence RC, Helmick CG, Arnett FC, Deyo RA, Felson DT, Giannini EH et al (1998) Estimates of the prevalence of arthritis and selected musculoskeletal disorders in the United States. *Arthritis Rheum* 41:778–799
42. Lang B, Silverman E. A clinical overview of systemic lupus erythematosus in childhood. *Pediatrics Review*.1993;14:194-20
43. Cervera R, Khamashta MA, Font J, Sebastiani GD, Gil A, Lavilla P et al (2003) Morbidity and mortality in systemic lupus erythematosus during a 10-year period: a comparison of early and late manifestations in a cohort of 1, 000 patients. *Med (Baltimore)* 82:299–308
44. Sanchez-Vegazo I, et al. Nefritis lúpica. *REV ESP PATOL* 2002; Vol 35, n.º 3: 269-27
45. Anaya JM, Uribe M, Pinto LE, Matute G, Molina JF, Calle I. Nefritis Lúpica. Definición clínica, patológica y terapéutica. *Rev Colomb Reumatol* 2001; 8: 61-74
46. Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NE, Schaller JG, Talal N, Winchester RJ. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1982; 25:1271-1277
47. Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, Seshan SV, Alpers CE, Appel GB, Balow JE, Bruijn JA, Cook T, Ferrario F, Fogo AB, Ginzler EM, Hebert L, Hill G, Hill P, Jennette JC, Kong NC, Lesavre P, Lockshin M, Looi LM, Makino H, Moura LA, Nagata

- M. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol* 15:241-250, 2004.
48. Churg J, Bernstein J, Glassock RJ. Lupus nephritis. En: *Classification and Atlas of Glomerular Disease*, 2nd ed. New York, Igaku-Shoin, 1995, p51.
49. Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, et al. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:10513
50. Gilad S, Meiri E, Yogev Y, et al. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS One* 2008;3:e3148.
51. Hanke M, Hoefig K, Merz H, et al. A robust methodology to study urine microRNAs as tumor marker: microRNA-126 and microRNA182 are related to urinary bladder cancer. *Urol Oncol* 2010;28:655–61
52. Boeri M. et al. MicroRNA signatures in tissues and plasma predict development and prognosis of computed tomography detected lung cancer. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* 108, 3713–3718 (2011).
53. Rice P, Longden I, Bleasby A. Emboss: the European Molecular Biology Open Software Suite. *Trends Genet.* 2000; 16(6):276-7
54. Altschul S F, Gish W, Miller W, Myers E W, Lipman D J. Basic local alignment search tool. *J. Mol. Biol.* 1990; 215:403-410.
55. Griffiths-Jones S, Saini Hk, Van Dongen S, Enright Aj. miRBase: tools for microRNA genomics. *Nucleic Acids Res.* 2008; 36 D154-D158 (www.mirbase.org).
56. Li W, Godzik A. Cd-hit: a fast program for clustering and comparing large sets of protein or nucleotide sequences. *Bioinformatics.* 2006; 22:1658-9

57. K. Zen, C.Y. Zhang, Circulating MicroRNAs: a novel class of biomarkers to diagnose and monitor human cancers, *Med. Res. Rev* (2010).
58. J.L. Weickmann, D.G. Glitz, Human ribonucleases. Quantitation of pancreaticlike enzymes in serum, urine, and organ preparations, *J. Biol. Chem.* 257 (1982) 8705–8710.
59. D.J. Gibbings, C. Ciaudo, M. Erhardt, O. Voinnet, Multivesicular bodies associate with components of miRNA effector complexes and modulate miRNA activity, *Nat. Cell Biol.* 11 (2009) 1143–1149.
60. H. Valadi, K. Ekstrom, A. Bossios, M. Sjostrand, J.J. Lee, J.O. Lotvall, Exosome mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells, *Nat. Cell Biol.* 9 (2007) 654–659.
61. H. Iguchi, N. Kosaka, T. Ochiya, Secretory microRNAs as a versatile communication tool, *Commun. Integr. Biol.* 3 (2010) 478–481.
62. G. Camussi, M.C. Deregibus, S. Bruno, V. Cantaluppi, L. Biancone, Exosomes/microvesicles as a mechanism of cell-to-cell communication, *Kidney Int.* 78 (2010) 838–848.
63. V. Muralidharan-Chari, J.W. Clancy, A. Sedgwick, C. D’Souza-Schorey, Microvesicles: mediators of extracellular communication during cancer progression, *J. Cell Sci.* 123 (2010) 1603–1611.
64. K. Wang, S. Zhang, J. Weber, D. Baxter, D.J. Galas, Export of microRNAs and microRNA-protective protein by mammalian cells, *Nucleic Acids Res.* 38 (2010) 7248–7259.

65. N. Kosaka, H. Iguchi, Y. Yoshioka, F. Takeshita, Y. Matsuki, T. Ochiya, Secretory mechanisms and intercellular transfer of microRNAs in living cells, *J. Biol. Chem.* 285 (2010) 17442–17452.
66. H. Valadi, K. Ekstrom, A. Bossios, M. Sjostrand, J.J. Lee, J.O. Lotvall, Exosomemediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells, *Nat. Cell Biol.* 9 (2007) 654–659.
67. M.P. Hunter, N. Ismail, X. Zhang, B.D. Aguda, E.J. Lee, L. Yu, T. Xiao, J. Schafer, M.L. Lee, T.D. Schmittgen, S.P. Nana-Sinkam, D. Jarjoura, C.B. Marsh, Detection of microRNA expression in human peripheral blood microvesicles, *PLoS One* 3 (2008) e3694.
68. A. Michael, S.D. Bajracharya, P.S. Yuen, H. Zhou, R.A. Star, G.G. Illei, I. Alevizos, Exosomes from human saliva as a source of microRNA biomarkers, *Oral Dis.* 16 (2010) 34–38.
69. I. Dimov, L. Jankovic Velickovic, V. Stefanovic, Urinary exosomes, *ScientificWorldJournal* 9 (2009) 1107–1118.
70. D.M. Pegtel, K. Cosmopoulos, D.A. Thorley-Lawson, M.A. van Eijndhoven, E.S. Hopmans, J.L. Lindenberg, T.D. de Gruijl, T. Wurdinger, J.M. Middeldorp, Functional delivery of viral miRNAs via exosomes, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 107 (2010) 6328–6333.

Cómo citar este capítulo:

Navarro-Quiroz, E., Gómez Escorcía, L. y Navarro-Quiroz, R. (2020). miRNAs circulantes en plasma como biomarcadores diagnósticos de la nefritis lúpica. En: G. Aroca Martínez y E. Navarro Quiroz (Edit.) *Avances investigativos en Nefritis Lúpica* (pp.115-143) Barranquilla: Ediciones Universidad Simón Bolívar.

Capítulo 5

El rol de las Infecciones en Lupus Eritematoso Sistémico: Mecanismos Moleculares de Patogenicidad

Antonio J. Acosta-Hoyos¹

INTRODUCCIÓN

Lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad crónica autoinmune y multisistémica, la cual puede afectar a varios órganos tales como la piel, los pulmones, las articulaciones, el sistema nervioso y los riñones y se caracteriza por períodos de remisiones y exacerbaciones (1). LES es una de las enfermedades autoinmunes más comunes, especialmente en africanos, latinoamericanos y asiáticos (2,3). Además, la progresión de la enfermedad y sus manifestaciones varían significativamente de paciente a paciente. Por ejemplo, algunos pacientes desarrollan la enfermedad agresiva y rápidamente,

1 Grupo de Investigación en Genética, Facultad de Ciencias Básicas y Biomédicas, Universidad Simón Bolívar.

mientras que otros no acumulan daños significantes dentro de los 5 años después del diagnóstico (4,5).

Al ser una enfermedad compleja y de carácter multifactorial no se ha encontrado un efector único que derive en LES; por el contrario, el desarrollo de esta enfermedad depende de un complejo de interacciones genéticas, epigenéticas y de carácter ambiental (Figura 1). La tasa de concordancia en LES para gemelos monocigóticos es de 25 %, pero solo del 2 % entre gemelos dicigóticos o mellizos, sugiriendo que la genética sola no explicaría el fenotipo de la enfermedad (6). Inclusive, estudios de asociación genética, GWAS, encuentran diferentes loci y genes que contribuyen al riesgo de desarrollar la enfermedad. Entre los genes asociados a LES más frecuentes se encuentran genes asociados a interferón, cómo factor 5 y 7 regulador del interferón (*IRF5*, *IRF7*) y otros loci que varían dependiendo de la etnicidad (7,8). Así mismo, estudios recientes dan evidencia de cómo la epigenética juega un rol crucial en la patogenicidad molecular de LES, mostrando inclusive como los niveles socio- demográficos y económicos contribuyen al desarrollo de la enfermedad (5). Un estudio por Mo et al. (9) utilizando un análisis de aleatorización mendeliano identificaron 15 loci con metilación diferencial y 21 genes expresados positivamente asociados con LES, demostrando una relación directa entre el control de expresión por metilación en el fenotipo. Otros estudios demostraron la expresión de miRNAs específicos dependiendo del grado de la enfermedad, evidenciando así la importancia de los factores epigenéticos en el desarrollo y agresividad de la enfermedad en pacientes con LES (10). Además de los factores hereditarios y modificación de la expresión por efectores epigenéticos, algunos factores de riesgo ambientales se han considerado: la exposición a la luz ultravioleta (UV), diferentes

fármacos, las infecciones por el Virus de Epstein-Barr (EBV) (11) y la expresión de retrovirus endógenos (4,12).



Figura 1. Interacciones del organismo y factores ambientales que podrían intervenir en el desarrollo de LES. MHC: Complejo mayor de histocompatibilidad

Fuente: Adaptado de (12)

De esta manera las infecciones, tanto virales como bacterianas, así como la expresión de virus endógenos están siendo reconocidos como posible desencadenante de LES (13,14). En este capítulo pretendemos dar argumentos para apoyar los mecanismos infecciosos, principalmente por virus, que dan origen a esta enfermedad.

VIRUS Y MECANISMOS DE PATOGENICIDAD

Virus Exógenos

Los virus se han considerado como uno de los mayores factores ambientales que desencadenan fenómenos autoinmunes en individuos genéticamente susceptibles (11). Los siguientes virus se han asociado a la patogénesis de LES: el Virus de Epstein-Barr (EBV) (11,15), Citomegalovirus (CMV) (15), parvovirus B19 (16), Virus del Herpes Humano (HHV-6) (17), HHV-8 (18), Virus del Papiloma Humano

(HPV) (19), Dengue (20,21), Virus Linfotrópico de Células T Humano (HTLV) (22) y VIH (23). Estos estudios en su mayoría correlacionan la presencia de anticuerpos antivirales y productos de PCR de estos virus en pacientes con LES cuando se compararon con los controles. Sin embargo, los mecanismos moleculares derivados de las infecciones virales causantes de la autoinmunidad todavía están en discusión. Hay que resaltar que hay pocos estudios donde se evidencie el virus del Dengue con LES; no obstante, en el Caribe colombiano, el dengue es endémico y afecta especialmente a personas de bajos estratos socioeconómicos (24), población también con una prevalencia alta de LES, como se evidencia en varios estudios realizados por el grupo de Investigación en Nefrología de la Universidad Simón Bolívar (25). Aunque esta relación dengue-LES es solo especulativo debido a la poca evidencia, podría ser un tema para abordar en futuras investigaciones. De ese mismo modo, la relación entre LES e infecciones virales se hace más evidente en la medida en la cual más investigaciones se realicen. Otra línea de investigación que ha tomado importancia en los últimos años es la relación de virus endógenos en la patogenicidad de LES (26).

148

Virus Endógenos

Los Retrovirus Endógenos Humanos (HERVs) constituyen el 8 % del genoma humano. Estos elementos genómicos fueron introducidos por retrovirus ya extintos en el genoma de nuestros antepasados evolutivos hace más de 100 millones de años (27-29). Asimismo, estos elementos han jugado un papel importante en la evolución del *Homo sapiens* y se manifiestan diferencialmente en diferentes tejidos y células del humano (29,30). La expresión de diferentes HERVs (HRES-1, ERV-3, HERV-E 4-1, HERV-K10 and HERV-K18) han sido implicados en LES donde la expresión de proteínas derivadas

de estos virus endógenos desencadenan una reacción autoinmune mediante mimetismo molecular, debido a que se ha demostrado homología entre secuencias de aminoácidos de HERVs y auto-antígenos en LES (26). Además, estos virus pueden ser activados por estrógeno, hipometilación del ADN y exposición a luz UVB (31) o por la co-infección de virus exógenos tales como EBV y VIH (32). Un estudio reciente muestra cómo HERV-E 4-1 se sobre-expresa en células T CD4⁺ provenientes de pacientes con LES versus los controles sanos, pero más interesante fue que la región LTR de este HERV se encontraba hipometilada (31), sugiriendo una correlación entre factores epigenéticos que desregulan regiones genómicas, cambiando el patrón de metilación, llevando a la expresión de nuevos antígenos-propios derivados de HERVs que no habían sido presentados al sistema inmunitario durante la maduración de linfocitos T y linfocitos B. Además, este grupo (31) encontró que la sobreexpresión de HERV 1-4 estimulaba la diferenciación de células Th17 y la liberación de IL-17, factor que juega un papel crítico en la fisiopatología de LES (33).

MECANISMOS MOLECULARES DE PATOGENICIDAD

Las infecciones en general son consideradas de tener un rol en el desarrollo de las enfermedades autoinmunes, contribuyendo a respuestas inmunes anormales mediante mimetismo molecular, producción de superantígenos, activación cruzada indirecta (bystander activation), propagación de epítopes, alteración de la apoptosis (34) (Figura 2). Estos mecanismos eventualmente ocasionan la pérdida de tolerancia de las células del sistema inmunitario, evento imprescindible en el desarrollo de autoinmunidad (35,36).

Secuencias de aminoácidos de proteínas de EBV, por ejemplo EBNA-1, muestran homología con auto-antígenos del spliceosoma SmD1 y SmB'/B en LES (Figura 3), indicando mimetismo molecular como un mecanismo de reacción cruzada y patogénesis de la enfermedad (Figura 2A) (14,37,38).

Los super-antígenos son producidos por diferentes virus y bacterias, y tienen como característica que pueden unirse al dominio variable de la cadena beta de los receptores de células T (TCR) y también a moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) clase II. Debido a la falta de especificidad antigénica de los super-antígenos, la activación de muchos linfocitos T con diferente especificidad se propaga lo que resulta en la pérdida de tolerancia y el desarrollo de reacciones autoinmunes (14,39) (Figura 2B).

150

Las infecciones virales también llevan a una activación significativa de APCs como las células dendríticas. Estos APCs activos, mediante la liberación de citoquinas, pueden potencialmente activar a células T autorreactivas pre-estimuladas, las cuales podrían iniciar la enfermedad autoinmune (bystander activation) (Figura 2C) (14,40). Por otro lado, las células T CD8⁺ al reconocer a las células infectadas liberan gránulos citotóxicos y producen la muerte de la célula infectada. De esta forma, tanto la célula en su proceso de muerte, como las células CD8⁺ y macrófagos dentro del círculo inflamatorio secretan citoquinas tales como factor de necrosis tumoral (TNF), TNF- β , linfotoxina, y óxido nítrico conduciendo a la muerte de células contiguas no infectadas (bystander killing). Esto genera una inmunopatología adicional en el sitio de la infección (14,41).

La presentación incrementada de auto-antígenos por APCs en el sitio de inflamación, seguido de la activación de linfocitos autorreactivos

conduce a la división y propagación de clones autorreactivos iniciando la enfermedad autoinmune (Figura 2C) (13,14,42).

Otro mecanismo molecular sucede también cuando antígenos virales quedan secuestrados junto a cromatina y otros auto-antígenos en cápsulas apoptóticas y al existir un defecto en la apoptosis debido a polimorfismos o mutaciones podría aumentar la inmunogenicidad al activar las células Th17 reactivas promoviendo la auto-inflamación y generando auto-anticuerpos. Además, cuando hay deficiencia en la limpieza y acumulación de productos apoptóticos y agentes virales podría conducir a la autoinmunidad debido a que este material nuclear no digerido puede proporcionar señales a linfocitos B autorreactivos y de esta forma a la producción de auto-anticuerpos dirigidos a estructuras nucleares propias, característica fundamental de LES (43) (Figura 2E).

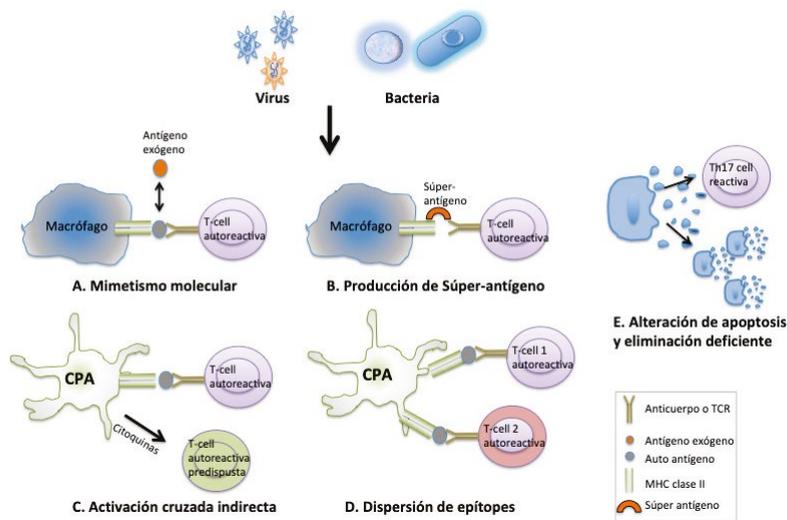


Figura 2. Mecanismos potenciales de agentes microbianos infecciosos en la patogénesis de LES. APC, célula presentadora de antígeno; TCR, receptores de células T; cell, célula

Fuente: Adaptado de (14).

PPPGMRPP Proteína nuclear humana del spliceosoma

PPPGRRP Proteína del virus de Epstein-Barr

Figura 3. Ejemplo de secuencias de aminoácidos mostrando mimetismo molecular (38)

CONCLUSIONES

En resumen, los estudios revisados en este capítulo muestran una asociación clara de procesos infecciosos virales con la iniciación de LES. La autorreactivación de células inmunes puede ser desencadenada por mimetismo molecular con las estructuras del huésped, atribuibles a la inducción por las infecciones de citoquinas pro-inflamatorias junto a la presencia de inmunocomplejos virales. Así mismo, identificar las infecciones asociadas en el desarrollo de LES podrían proporcionar medidas para reducir los eventos desencadenantes. Dentro de los descubrimientos recientes se exploraron, además de mimetismo molecular, otros mecanismos moleculares relacionados con la autoinmunidad generada por virus como producción de super-antígenos, dispersión de antígenos, activación cruzada indirecta, apoptosis alterada, depuración deficiente y alteraciones epigenéticas. Sin embargo, se necesitan más investigaciones para así elucidar la etiología de LES y los mecanismos moleculares involucrados en la fisiopatología con el fin de desarrollar métodos preventivos y diagnóstico precoz que en últimas beneficiarían a los pacientes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Rivas-Larrauri F, Yamazaki-Nakashimada MA. Lupus eritematoso sistémico: ¿es una sola enfermedad? *Reumatol Clin.* 2016;12(5):274–81.

2. Pons-Estel GJ, Ugarte-Gil MF, Alarcon GS. Epidemiology of systemic lupus erythematosus. *Expert Rev Clin Immunol*. 2017 Aug;13(8):799–814.
3. Rees F, Doherty M, Grainge MJ, Lanyon P, Zhang W. The worldwide incidence and prevalence of systemic lupus erythematosus: a systematic review of epidemiological studies. *Rheumatology (Oxford)*. 2017 Nov;56(11):1945–61.
4. Kaul A, Gordon C, Crow MK, Touma Z, Urowitz MB, Van Vollenhoven R, et al. Systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Dis Prim [Internet]*. 2016;2(June):1–22. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrdp.2016.39>
5. Lanata CM, Paranjpe I, Nititham J, Taylor KE, Gianfrancesco M, Paranjpe M, et al. A phenotypic and genomics approach in a multi-ethnic cohort to subtype systemic lupus erythematosus. *Nat Commun*. 2019 Aug;10(1):3902.
6. Sullivan KE. Genetics of systemic lupus erythematosus: Clinical Implications. *Rheum Dis Clin North Am [Internet]*. 2000;26(2):229–56. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0889857X0570137X>
7. Goulielmos GN, Zervou MI, Vazgiourakis VM, Ghodke-Puranik Y, Garyfallos A, Niewold TB. The genetics and molecular pathogenesis of systemic lupus erythematosus (SLE) in populations of different ancestry. *Gene [Internet]*. 2018;668:59–72. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378111918305304>
8. Deng Y, Tsao BP. Genetic susceptibility to systemic lupus erythematosus in the genomic era. *Nat Rev Rheumatol*. 2010 Dec;6(12):683–92.

9. Mo X, Guo Y, Qian Q, Fu M, Lei S, Zhang Y, et al. Mendelian randomization analysis revealed potential causal factors for systemic lupus erythematosus. *Immunology*. 2019 Oct;
10. Navarro-Quiroz E, Pacheco-Lugo L, Lorenzi H, Diaz-Olmos Y, Almendrales L, Rico E, et al. High-Throughput Sequencing Reveals Circulating miRNAs as Potential Biomarkers of Kidney Damage in Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *PLoS One*. 2016;11(11):e0166202.
11. James JA, Neas BR, Moser KL, Hall T, Bruner GR, Sestak AL, et al. Systemic lupus erythematosus in adults is associated with previous Epstein-Barr virus exposure. *Arthritis Rheum* [Internet]. 2001 May 1;44(5):1122–6. Available from: [https://doi.org/10.1002/1529-0131\(200105\)44:5%3C1122::AID-AN-R193%3E3.0.CO](https://doi.org/10.1002/1529-0131(200105)44:5%3C1122::AID-AN-R193%3E3.0.CO)
12. Nelson P, Rylance P, Roden D, Trela M, Tugnet N. Viruses as potential pathogenic agents in systemic lupus erythematosus. *Lupus* [Internet]. 2014 Apr 24;23(6):596–605. Available from: <https://doi.org/10.1177/0961203314531637>
13. Smatti MK, Cyprian FS, Nasrallah GK, Al Thani AA, Almishal RO, Yassine HM. Viruses and Autoimmunity: A Review on the Potential Interaction and Molecular Mechanisms. *Viruses*. 2019 Aug;11(8).
14. Pan Q, Liu Z, Liao S, Ye L, Lu X, Chen X, et al. Current mechanistic insights into the role of infection in systemic lupus erythematosus. *Biomed Pharmacother*. 2019;117:109122.
15. Mohamed AE, Hasen AM, Mohammed GFA, Elmaraghy NN. Real-Time PCR of cytomegalovirus and Epstein-Barr virus in

- adult Egyptian patients with systemic lupus erythematosus. *Int J Rheum Dis.* 2015 May;18(4):452–8.
16. Pavlovic M, Kats A, Cavallo M, Shoenfeld Y. Clinical and molecular evidence for association of SLE with parvovirus B19. *Lupus.* 2010 Jun;19(7):783–92.
 17. Broccolo F, Drago F, Cassina G, Fava A, Fusetti L, Matteoli B, et al. Selective reactivation of human herpesvirus 6 in patients with autoimmune connective tissue diseases. *J Med Virol.* 2013 Nov;85(11):1925–34.
 18. Tung Y-C, Ke L-Y, Tsai S-M, Lu P-L, Tsai W-C. High seroprevalence of human herpesvirus 8 infection in patients with systemic lupus erythematosus. *Int J Rheum Dis.* 2013 Dec;16(6):709–14.
 19. Abud-Mendoza C, Cuevas-Orta E, Santillan-Guerrero EN, Martinez-Martinez MU, Hernandez-Castro B, Estrada-Capetillo L, et al. Decreased blood levels of B lymphocytes and NK cells in patients with systemic lupus erythematosus (SLE) infected with papillomavirus (HPV). *Arch Dermatol Res.* 2013 Mar;305(2):117–23.
 20. Talib S, Bhattu S, Bhattu R, Deshpande S, Dahiphale D. Dengue fever triggering systemic lupus erythematosus and lupus nephritis: a case report. Vol. 6, *International medical case reports journal.* New Zealand; 2013. p. 71–5.
 21. de Abreu MM, Maiorano AC, Tedeschi SK, Yoshida K, Lin T-C, Solomon DH. Outcomes of lupus and rheumatoid arthritis patients with primary dengue infection: A seven-year report from Brazil. *Semin Arthritis Rheum.* 2018 Apr;47(5):749–55.
 22. Shirdel A, Hashemzadeh K, Sahebari M, Rafatpanah H, Hatef M, Rezaieyazdi Z, et al. Is there any Association Between

Human Lymphotropic Virus Type I (HTLV-I) Infection and Systemic Lupus Erythematosus? An Original Research and Literature Review. *Iran J Basic Med Sci.* 2013 Mar;16(3):252–7.

23. Mody GM, Patel N, Budhoo A, Dubula T. Concomitant systemic lupus erythematosus and HIV: case series and literature review. *Semin Arthritis Rheum.* 2014 Oct;44(2):186–94.
24. Laserna A, Barahona-Correa J, Baquero L, Castañeda-Cardona C, Rosselli D. Economic impact of dengue fever in Latin America and the Caribbean: a systematic review. *Rev Panam Salud Publica [Internet].* 2018 Sep 7;42:e111–e111. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/31093139>
25. Gaviria-garcia G, Zarza M De, Aroca-martinez G. Artículo Original / Original Article Características sociodemográficas y clínicas de pacientes Sociodemographic and clinical characteristics of patients with lupus nephritis . *Barranquilla , Colombia.* 2018;16(2):32–7.
26. Tugnet N, Rylance P, Roden D, Trela M, Nelson P, Wolverhampton R, et al. Human Endogenous Retroviruses (HERVs) and Autoimmune Rheumatic Disease : Is There a Link ? 2013;13–21.
27. Lander ES, Linton LM, Birren B, Nusbaum C, Zody MC, Baldwin J, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature.* 2001 Feb;409(6822):860–921.
28. Bannert N, Kurth R. The evolutionary dynamics of human endogenous retroviral families. *Annu Rev Genomics Hum Genet.* 2006;7:149–73.
29. Grandi N, Tramontano E. Human Endogenous Retroviruses Are Ancient Acquired Elements Still Shaping Innate

- Immune Responses. *Front Immunol* [Internet]. 2018 Sep 10;9:2039. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30250470>
30. Winter EE, Goodstadt L, Ponting CP. Elevated rates of protein secretion, evolution, and disease among tissue-specific genes. *Genome Res.* 2004 Jan;14(1):54–61.
 31. Wang X, Zhao C, Zhang C, Mei X, Song J, Sun Y, et al. Increased HERV-E clone 4-1 expression contributes to DNA hypomethylation and IL-17 release from CD4(+) T cells via miR-302d/MBD2 in systemic lupus erythematosus. *Cell Commun Signal.* 2019 Aug;17(1):94.
 32. Chen J, Foroozesh M, Qin Z. Transactivation of human endogenous retroviruses by tumor viruses and their functions in virus-associated malignancies. *Oncogenesis.* 2019;8(1).
 33. Martin JC, Baeten DL, Josien R. Emerging role of IL-17 and Th17 cells in systemic lupus erythematosus. *Clin Immunol.* 2014 Sep;154(1):1–12.
 34. Qiu CC, Caricchio R, Gallucci S. Triggers of Autoimmunity : The Role of Bacterial Infections in the Extracellular Exposure of Lupus Nuclear Autoantigens. 2019;10(November):1–15.
 35. Zhang P, Lu Q. Genetic and epigenetic influences on the loss of tolerance in autoimmunity. *Cell Mol Immunol* [Internet]. 2018;15(6):575–85. Available from: <https://doi.org/10.1038/cmi.2017.137>
 36. Mackay IR. Tolerance and autoimmunity. *West J Med* [Internet]. 2001 Feb;174(2):118–23. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1071274/>

37. Tu J, Wang X, Geng G, Xue X, Lin X, Zhu X, et al. The Possible Effect of B-Cell Epitopes of Epstein–Barr Virus Early Antigen, Membrane Antigen, Latent Membrane Protein-1, and -2A on Systemic Lupus Erythematosus . Vol. 9, *Frontiers in Immunology* . 2018. p. 187.
38. Mak Tak , Saunders Mary JB. *Primer to the Immune Response*. 2nd Editio. Academic Cell; 2014. 702 p.
39. Rigante D, Mazzoni MB, Esposito S. The cryptic interplay between systemic lupus erythematosus and infections. *Autoimmun Rev*. 2014;13(2):96–102.
40. Fujinami RS, von Herrath MG, Christen U, Whitton JL. Molecular Mimicry, Bystander Activation, or Viral Persistence: Infections and Autoimmune Disease. *Clin Microbiol Rev*. 2006 Jan;19(1):80 LP – 94.
41. Smyth MJ, Sedgwick JD. Delayed kinetics of tumor necrosis factor-mediated bystander lysis by peptide-specific CD8+ cytotoxic T lymphocytes. *Eur J Immunol*. 1998 Dec;28(12):4162–9.
42. Monneaux F, Muller S. Epitope spreading in systemic lupus erythematosus: identification of triggering peptide sequences. *Arthritis Rheum*. 2002 Jun;46(6):1430–8.
43. Campisi L, Barbet G, Ding Y, Esplugues E, Flavell RA, Blander JM. Apoptosis in response to microbial infection induces autoreactive TH17 cells. *Nat Immunol*. 2016;17(9):1084–92.

Cómo citar este capítulo:

Hoyos-Acosta, An J. (2020). El rol de las infecciones en Lupus Eritematoso Sistémico: Mecanismos Moleculares de Patogenicidad. En: G. Aroca Martínez y E. Navarro Quiroz (Edit.) *Avances investigativos en Nefritis Lúpica* (pp.145-158) Barranquilla: Ediciones Universidad Simón Bolívar.