



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ
FACULTAD DE MEDICINA
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Correlación de la acantocituria con el índice de actividad de la nefritis lúpica estimado en la biopsia renal.

Tesis de maestría

Marco Ulises Martínez Martínez

Director de Tesis

M. en C. Dr. Francisco Javier Valadez Castillo

Asesores

Dr. Carlos Abud Mendoza

QFB Lilia María de Guadalupe Llamazares Azuara

Dr. David Martínez Galla

M. en A. Peter B. Mandeville

M. en S. P. Dr. Jaime Antonio Borjas García

San Luis Potosí, S.L.P., Marzo 2016

Director de tesis	
M. en C. Dr. Francisco Javier Valadez Castillo	
Asesores	
Dr. Carlos Abud Mendoza	
QFB Lilia María de Guadalupe Llamazares Azuara	
Dr. David Martínez Galla	
M. en S. P. Dr. Jaime Antonio Borjas García	
Sinodales	
Dr. David Alejandro Herrera van Oostdam	
Dr. Alejandro Chevaile Ramos	
M. en C. Ma. del Pilar Fonseca Leal Jefa de Investigación y Desarrollo Clínico de la Facultad de Medicina.	M. en C. Mauricio Pierdant Pérez Coordinador de la Maestría en Ciencias en Investigación Clínica

ÍNDICE

Abreviaturas.....	6
ANTECEDENTES:.....	7
Papel de la biopsia renal. Importancia de la clasificación.....	7
Eritrocitos dismórficos, el acantocito como dismórfico glomerular.....	10
JUSTIFICACIÓN:.....	13
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:.....	14
HIPÓTESIS:.....	14
OBJETIVOS:.....	14
Objetivo general.....	14
Objetivos específicos.....	14
Objetivos secundarios.....	14
METODOLOGÍA.....	14
Diseño:.....	14
Lugar de realización:.....	15
Universo del estudio:.....	15
Criterios de inclusión:.....	15
Criterios de exclusión:.....	15
Criterios de eliminación:.....	15
Técnica de muestreo:.....	15
Tabla 3. Descripción de las variables:.....	16
Tamaño de la muestra:.....	16
ANÁLISIS ESTADÍSTICO:.....	16
PLAN DE TRABAJO:.....	17
Biopsia renal:.....	17
Recolección de datos:.....	18
ASPECTOS ÉTICOS.....	18
RECURSOS FINANCIEROS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD.....	19
Recursos humanos.....	19
Recursos y espacios físicos.....	20
Factibilidad.....	20
RESULTADOS.....	21
Correlación acantocituria con actividad de la nefritis lúpica.....	22
Acantocituria y diferentes clases de nefritis lúpica.....	22
Predicción de actividad de la enfermedad (modelo de regresión).....	26
DISCUSIÓN:.....	27
REFERENCIAS:.....	30
ANEXO 1. CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO DE LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO, SLICC.(6).....	36
ANEXO II. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	39
ANEXO II.I CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PACIENTE PEDIATRICO.....	41
ANEXO III. PROCEDIMIENTO DE BIOPSIA RENAL.....	43
ANEXO IV. CONTEO DE ERITROCITOS.....	44
Cuenta eritrocitaria total.....	44
Porcentaje de acantocitos:(58–61).....	44
Cuenta de acantocitos por ml:.....	44
Relación Proteínas/Creatinina:(62).....	44
ANEXO V. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES.....	45

ANEXO VI. RECOLECCION DE DATOS BIOPSIA RENAL Y ERITROCITOS DISMÓRFICOS ...	46
ANEXO VII. ANÁLISIS DE CONCORDANCIA	47

Abreviaturas

Abreviatura	Significado
ACR	Colegio Americano de Reumatología
antiDNA	Anticuerpos dirigidos contra ácido desoxirribonucleico
BA	Bland y Altman
CD	Marcadores de diferenciación
CONACYT	Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología
Cr	Creatinina
CXCR3	Receptor de quimiocina 3
DMT	Eritrocitos dismórficos glomerulares totales
EKG	Electrocardiograma
EULAR	Liga Europea Contra el Reumatismo
FCT-B	Factor de crecimiento transformante beta
FCVE	Factor de crecimiento vascular endotelial
IC	Intervalos de confianza
IF	Inmunofluorescencia
Ig	Inmunoglobulinas
IP-10	Proteína 10 productora de interferón
ISN	Sociedad Internacional de Nefrología
LES	Lupus eritematoso sistémico
MCP-1	Proteína 1 quimio atrayente de monocitos
ME	Microscopía electrónica
MEC	Componente de la matriz extracelular
mg/g	Miligramos/gramo
mg/L	Miligramos/litro
MO	Microscopía óptica
NGAL	Lipocalina del neutrófilo asociada a gelatinasa
NL	Nefritis lúpica
NL	Nefritis lúpica
PAS	Ácido peryodico de Schiff
Pr	Proteínas
PrCr	Relación proteína/creatinina
ROC	receiver operating characteristic
RPS	Sociedad de Patología Renal
sICAM-1	Moléculas de adhesión intercelular-1
SLICC	Grupo Colaborativo Internacional Clínico de Lupus Sistémico
sVCAM-1	Moléculas de adhesión celular vascular 1
TNF	Factor de necrosis tumoral
TWEAK	Citocina de la familia del TNF WEAK
VDRL	Prueba serológica para la sífilis por sus siglas en inglés

ANTECEDENTES:

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmune sistémica, que afecta principalmente a mujeres jóvenes.(1) La afección renal (nefritis lúpica), se presenta en el 30% al inicio del LES y hasta en 60% durante la evolución,(2) siendo esta —junto con la enfermedad cardiovascular e infecciones— una de las principales causas de morbi-mortalidad en pacientes con LES.(3) La mortalidad por nefritis lúpica es mas del doble que en los que no la desarrollan y en aquellos con clases proliferativas, es aún mayor.(4)

Papel de la biopsia renal. Importancia de la clasificación.

La biopsia renal es importante para el diagnóstico del lupus, la clasificación de la nefropatía, así como para establecer o modificar tratamiento y pronóstico.(5)

En cuanto al diagnóstico, los criterios del Grupo Colaborativo Internacional (SLICC por sus siglas en Inglés) describen que un paciente se puede clasificar como LES si presenta 4 de los criterios clínicos o inmunológicos, pero que incluya al menos un criterio clínico y un inmunológico (ver anexo). La biopsia renal compatible con LES, en presencia de anticuerpos antinucleares o antiDNA permite clasificar al paciente como LES en ausencia de otros criterios clínicos.(6)

En el 2003, la Sociedad Internacional de Nefrología (ISN por sus siglas en Inglés) y la Sociedad de Patología Renal (RPS por sus siglas en Inglés) se reunieron para actualizar la clasificación de la nefritis lúpica,(7,8) basados en la clasificación previa de 1982 auspiciada por la Organización Mundial de la Salud.(7) La clasificación se muestra en la siguiente tabla:

Tabla 1. Clasificación de la Nefritis Lúpica ISN/RSP 2003

CLASE	Características histológicas
Clase I	a) Glomérulos normales (MO, IF, ME)
	b) Glomérulos normales con MO pero con depósitos en IF y/o ME
Clase II	Alteraciones mesangiales puras (mesangiopatía)
	a) Mesangio ensanchado y/o hiper celularidad leve (+)
	b) Hiper celularidad moderada (++)
Clase III	Glomerulonefritis focal y segmentaria (asociada con alteraciones mesangiales leves o moderadas)
	a) Con lesiones necrotizantes activas
	b) Con lesiones activas y esclerosas
	c) Con lesiones esclerosas

Clase IV	Glomerulonefritis difusa (proliferación mesangial grave, endocapilar y/o membranoproliferativa, y/o extensos depósitos subendoteliales). Hay depósitos mesangiales siempre y subepiteliales con frecuencia y pueden ser numerosos
	a) Sin lesiones segmentarias
	b) Con lesiones necrotizantes activas
	c) Con lesiones activas y esclerosas
	d) Con lesiones esclerosas
Clase V	Glomerulonefritis membranosa
	a) Pura
	b) Asociada con lesiones de clase II (a o b)
	c) Asociada con lesiones de clase III (a, b o c)
	d) Asociada con lesiones de clase IV (a, b, c o d)
Clase VI	Glomeruloesclerosis avanzada

Abreviaturas: MO: micorscopia óptica, IF: inmunofluorescencia, ME: microscopia electrónica

Los pacientes con nefritis lúpica proliferativa (las clases III o IV) o membranosa (clase V) requieren dosis altas de esteroides en mezcla con ciclofosfamida o micofenolato de mofetil, en contraste, pacientes con clases I y II no requieren tratamiento adicional.(5,9)

La decisión terapeutica es crucial, si el paciente es subtratado puede evolucionar hacia la falla renal. Por el contrario, el exceso de tratamiento puede inducir complicaciones como infecciones y eventos adversos asociados con medicamentos.(10)

En 1984, Austin et al.,(11,12) en un estudio que incluyó de forma inicial 102 pacientes con nefritis lúpica, seleccionó 72 individuos con las formas proliferativas (clases III y IV), propusieron índices de actividad y cronicidad que se muestran en la tabla 2; después de 4 años de seguimiento, ocurrió falla renal en el 29.4% de los pacientes con indice de actividad alta y solo en 10.9% de los de actividad baja . El índice de cronicidad permite clasificar a los pacientes en cronicidad baja (menor o igual a un punto) moderada (puntaje de 2 a 3) y alta puntaje mayor a 4 con riesgo de falla renal a 4 años de 0%, 17.4 % y 35% respectivamente.

Tabla 2. Índices de actividad y cronicidad sugeridos por Austin (11,12)

Índice de actividad (0-24)	
- Hiper celularidad endocapilar	(0-3)
- Infiltración de leucocitos	(0-3)
- Depósitos hialinos subendoteliales	(0-3)
- Kariorexis/Necrosis fibrinoide	(0-3)
- Semilunas epiteliales	(0-3) x 2
- Inflamación intersticial	(0-3) x 2
Índice de cronicidad (0-12)	
- Esclerosis glomerular	(0-3)
- Semilunas fibrosas	(0-3)

- Atrofia tubular	(0-3)
- Fibrosis intersticial	(0-3)

Con base en lo anterior el Consenso Internacional sugiere que la biopsia renal debe ser informada aparte de la clase de nefritis (descrito en la tabla 1) con actividad y cronicidad (Austin 1984)(11,12) lo cual se describe en la tabla 2.

La aceptación de los índices ha generado controversias, debido a que los estudios que contrastan a los índices tienen pocos pacientes, con tratamientos diferentes y seguimiento corto.(13–15)

Por mencionar un ejemplo de controversia, Esdaile y colegas en 1989,(14) publicaron un estudio que incluyó 87 pacientes con nefritis lúpica. Inicialmente, concluyeron que la utilidad clínica de los índices de actividad y cronicidad en la biopsia era limitada; sin embargo en una publicación subsecuente,(16) a 11.9 años de seguimiento de los mismos pacientes, los autores modificaron su percepción y consideraron a los índices como buenos predictores de falla renal después de realizar un análisis multivariado

Otros estudios mas recientes que incluyen mayor número de pacientes concuerdan en la capacidad de los índices para predecir deterioro en la función renal.(17)

Algunos autores han propuesto otros índices, sin embargo no ha sido posible demostrar superioridad en relación al índice descrito.(18–20)

Una vez que se ha establecido el diagnóstico histopatológico, es necesario repetir la biopsia renal para evaluar la respuesta al tratamiento, suspenderlo en aquellos en quienes ha disminuído el índice de actividad y cronicidad; o bien, adecuarlo en los que se detecta persistencia.(21)

La evaluación de actividad y cronicidad permite determinar con mayor objetividad los cambios en biopsias repetidas y evaluar la respuesta al tratamiento.(8) Alsuwaida y colegas incluyeron 77 pacientes con lupus,(22) a los que se les realizaron biopsias repetidas a los 6 meses (al terminar el período de inducción). En este estudio, el índice de actividad en la segunda biopsia ayudó a predecir el riesgo de recaída renal en un seguimiento promedio de 10 años. Los pacientes que duplicaron los niveles de creatinina tenían índices de actividad > 0 al momento de la segunda biopsia. El riesgo relativo de duplicar la concentración sérica de creatinina en los pacientes con índice de actividad de 1-2 fue de 1.4 (intervalos de confianza al 95% (IC): 1.1-1.8), y para los pacientes con índice de actividad > 2 fue de 1.68 (IC: 1.3-2.2). En cuanto al índice de cronicidad en la segunda biopsia: ninguno de los pacientes con índices menor de 3 duplicaron la creatinina sérica, mientras que los pacientes con índice de cronicidad entre 3-6 el 40.8% duplicaron la creatinina RR 1.69 (IC: 1.34-2.13); los pacientes con cronicidad mayor o igual a 7 el 54.2% duplicaron la creatinina RR: 2.18 (IC: 1.41-3.37).

La sobrevivida renal a 10 años fue 100% para los pacientes con índice de cronicidad < 3, 73% para los pacientes con índice de cronicidad entre 3-6 y 55% para los pacientes con cronicidad mayor o igual a 7.(22) Este y otros estudios han confirmado la utilidad de la biopsia renal en el pronóstico.(23)

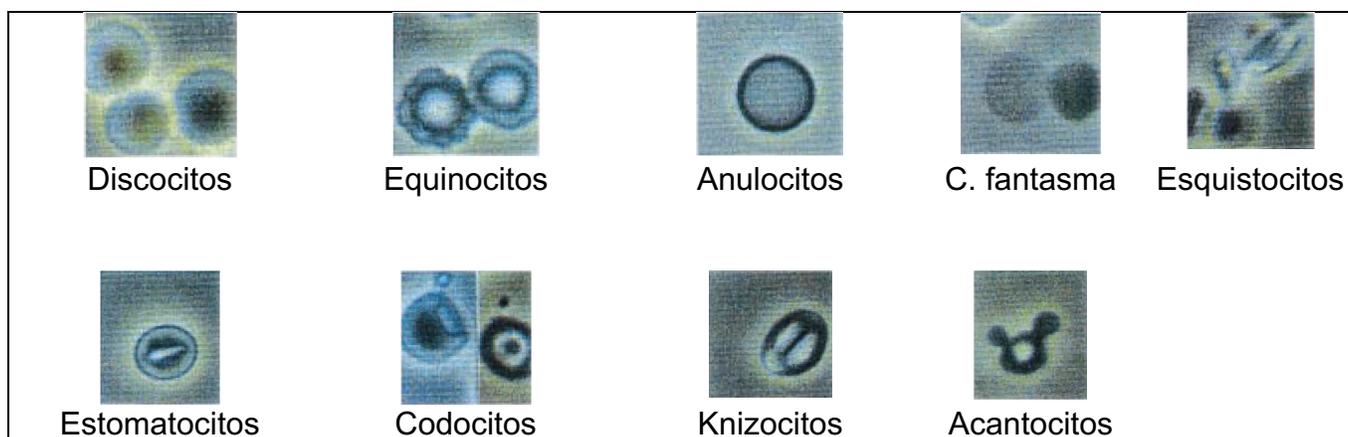
En resumen la biopsia renal antes y después de tratamiento en pacientes con nefritis lupica que continúan con manifestaciones urinarias (vgr. proteinuria) aporta información útil al reumatólogo para ofrecer la mejor alternativa terapéutica .

Eritrocitos dismórficos, el acantocito como dismórfico glomerular

La eritrocituria o hematuria microscópica se define como mas de 2 eritrocitos evaluados en un campo de alto poder en la orina.(24)

La hematuria es un marcador temprano de glomerulonefritis, esta puede ser eumórfica o dismórfica. Existen nueve formas de eritrocitos dismórficos descritos como se muestran en la siguiente figura.(25)

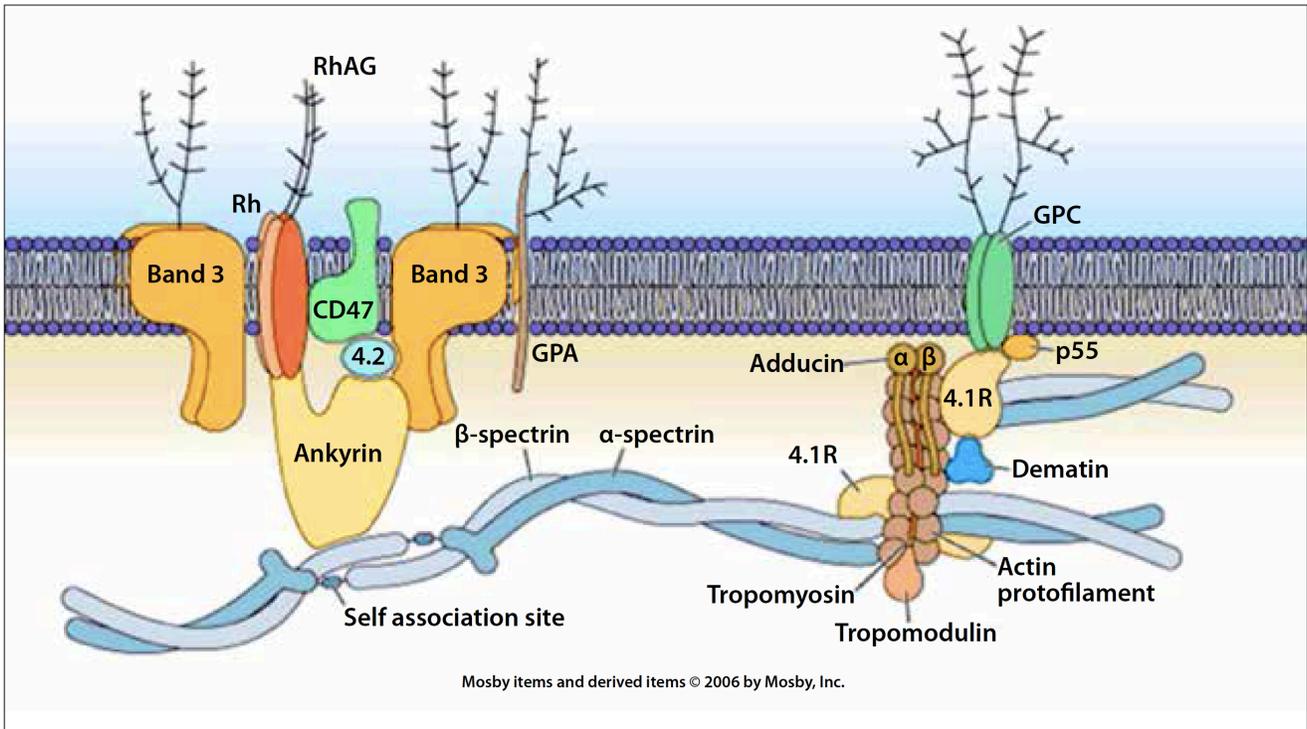
Figura 1. Eritrocitos dismórficos en orina. Modificado y traducido de Wandel y Köhler.(25)



La membrana del eritrocito puede variar su morfología para pasar por los capilares glomerulares que son muy delgados.(25)

La membrana del eritrocito consta de una bicapa lipídica sostenida por una red proteica que funciona como membrana del citoesqueleto. El componente mas importante de la red de proteínas es la espectrina, una molécula de alto peso molecular con actividad tipo-distrofina.(26) La forma del eritrocito depende del ambiente celular, su estado metabólico y la edad de la célula.(25)

Figura 2. Membrana del eritrocito.



El acantocito, es el eritrocito dismórfico característico de las glomerulonefritis; cuando se encuentran más del 4% de acantocitos en la orina de un paciente, indica glomerulonefritis.(27) El resto de los eritrocitos dismórficos descritos en la figura 2, pueden producirse por otras alteraciones en la orina (como pH, osmolaridad y densidad urinaria) y no por el paso del eritrocito a través de la membrana basal glomerular dañada.(27)

El dismorfismo eritrocitario de los acantocitos en la orina de pacientes con glomerulonefritis es provocado por la distorsión que sufre el citoesqueleto del eritrocito al pasar inicialmente por la membrana basal glomerular, endotelio, podocitos y posteriormente por los túbulos renales.(27)

Los acantocitos se pueden distinguir fácilmente en el microscopio de alto poder por eritrocitos que tienen protrusiones en forma de vesículas (25) como se muestran en la siguiente figura.



Figura 3. Acanthocito en campo de alto poder. Obtenido de Saad. (28)

De acuerdo a Huussen et al., la presencia de más del 4% de acantocitos en orina son 100% específicos de enfermedad glomerular.(29)

Por otra parte, encontrar más del 40% de todos los eritrocitos dismórficos ha mostrado sensibilidad y especificidad de 80% o mas para el diagnóstico de enfermedad glomerular.

La microscopía de contraste de fase es el método de elección para la búsqueda de eritrocitos dismórficos, alcanza una sensibilidad del 90% y especificidad del 100% en comparación con la microscopía de luz que muestra sensibilidad del 82% y especificidad del 100%, (29) cuando se utiliza como estándar la microscopia electrónica. Este método es reproducible y sencillo de realizar.(30)

JUSTIFICACIÓN:

Las biopsias seriadas de riñón son el único indicador disponible en la actualidad para evaluar la respuesta al tratamiento. Es necesario encontrar un biomarcador que indique la respuesta al tratamiento en los casos de nefritis lúpica y disminuya el número de biopsias renales necesarias por paciente.

La presencia de acantocitos en orina está identificada como un marcador de glomerulonefritis; la nefritis lúpica es un estado de alteración glomerular, y consideramos que a mayor grado de lesión glomerular, puede aumentar el número de acantocitos en la orina de los pacientes afectados. Para nuestro conocimiento, no existe estudio que evalúe el número de acantocitos en orina de pacientes con LES y correlacione con el grado de actividad de la nefritis lúpica.

Nuestro estudio propone investigar la relación de la acantocituria con la actividad de la enfermedad. Es un biomarcador que puede ofrecer las siguientes ventajas:

- Económico: La biopsia renal tiene un costo total en nuestro hospital de aproximadamente 9000 pesos. El costo de la cuenta de acantocitos es de 300 pesos.
- No requiere hospitalización: La biopsia renal requiere hospitalización por 24 a 48 hrs, el estudio propuesto solo requiere una muestra de orina.
- Evita complicaciones: De la biopsia renal: 1) Sangrado en el sitio de la punción y a nivel renal lo que puede prolongar la hospitalización y requerir cirugía abdominal en caso de sangrado mayor; 2) Dolor; 3) Infecciones. La cuenta de acantocitos urinarios es un procedimiento prácticamente inocuo.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:

¿Que correlación existe entre la acantocituria y el índice de actividad en la biopsia renal de pacientes con nefritis lúpica?

HIPÓTESIS:

Existe correlación positiva entre la acantocituria con la actividad de la nefritis lúpica en la biopsia renal.

OBJETIVOS:

Objetivo general

Evaluar la correlación entre la actividad de la enfermedad en la biopsia renal de pacientes con nefritis lúpica, con la acantocituria determinada en el sedimento urinario.

Objetivos específicos

- Determinar la actividad en la biopsia renal en pacientes con nefritis lúpica.
- Determinar la acantocituria en orina de pacientes con nefritis lúpica.
- Evaluar la correlación que existe entre la acantocituria y la actividad de la nefritis lúpica.

Objetivos secundarios

- Determinar si la acantocituria distingue las formas proliferativas (clase III o IV) de las demás clases de nefritis lúpica.
- Evaluar correlación entre el índice de actividad de la nefritis lúpica con la eritrocituria (total= dismórficos y no dismórficos) determinada en el sedimento urinario.
- Evaluar correlación entre el índice de actividad de la nefritis lúpica con la leucocituria determinada en el sedimento urinario.
- Evaluar correlación entre el índice de actividad de la biopsia renal con la relación proteína creatinina en la orina.
- Realizar un modelo para predecir la actividad de la nefritis lúpica en la biopsia basado en el conteo de eritrocitos, porcentaje de acantocitos, leucocituria y la relación proteína/creatinina en la orina.

METODOLOGÍA

Diseño:

Estudio transversal analítico prolectivo.

Lugar de realización:

Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”

Universo del estudio:

Pacientes de cualquier edad con nefritis lúpica

Criterios de inclusión:

1. Ambos sexos
2. Pacientes con diagnóstico establecido de LES de acuerdo con los criterios SLICC del Colegio Americano de Reumatología (ACR por sus siglas en Inglés) y la Liga Europea Contra el Reumatismo (EULAR por sus siglas en Inglés)—Ver anexo—. (6)
3. Nefritis lúpica definida como proteinuria mayor de 500 mg en 24 hrs o relación urinaria de proteínas/creatinina mayor a 500 mg/g.
4. Que sea sometido a biopsia renal.
5. Que el paciente o tutor—en el caso de menores de edad— firmen consentimiento informado.

Criterios de exclusión:

1. Infección de vías urinarias
2. Menstruación

Criterios de eliminación:

Características de la muestra de orina

1. Densidad urinaria < 1.010
2. pH >7.0

Características de la biopsia renal

3. Que la biopsia renal tenga menos de 10 glomérulos para la evaluación de la microscopia de luz.

Técnica de muestreo:

Muestreo consecutivo no aleatorio.

Tabla 3. Descripción de las variables:

VARIABLES:

Código	Variable	Escala de medición	Valores posibles	Unidades
actividad	Actividad de la nefritis lúpica	Continúa	0-24 (Tabla 2)	-
acantocitos	Porcentaje de acantocitos	Continúa	0 - 100	Porcentaje
eritrocitos	Conteo total de eritrocitos	Continúa	0-Infinito	Conteo de eritrocitos en el sedimento urinario
totalacantocitos	Conteo total de Acantocitos	Continúa	0-Infinito	Conteo, obtenida de multiplicar el total de eritrocitos por el porcentaje de acantocitos
prcr	Índice proteína/creatinina	Continúa	0-infinito	mg/g
leucocitos	Conteo total de leucocitos	Continúa	0-infinito	Conteo de leucocitos en el sedimento urinario

Se mediran otras variables aparte de las principales las cuales se muestran en la hoja de recolección de datos.

Tamaño de la muestra:

Se calculó el tamaño de muestra para un $\alpha = 0.05$ ($Z_\alpha = 1.645$) unilateral, $\beta = 0.20$ ($Z_\beta = 0.84$), un coeficiente de correlación esperado de 0.4 (r)—es la correlación mínima esperada de acuerdo a estudios en biomarcadores previos—, de acuerdo a la siguiente fórmula (31):

$$N = [(Z_\alpha + Z_\beta) \div C]^2 + 3$$

$$\text{Donde } C = 0.5 \times \ln [1(1+r)/(1-r)]$$

El tamaño de muestra se calculó basado en esta fórmula en el programa R con la función `pwr.r.test` del paquete "pwr", con las características especificadas. El tamaño de muestra mínimo requerido es de 37 pacientes.

Debido a que uno de los objetivos secundarios es la realización de un modelo de regresión el cual será:

$$\text{actividad} \sim \text{eritrocitos} + \text{acantocitos} + \text{leucocitos} + \text{proteinau}$$

Para evitar sobreparametrización, considerando la actividad como variable continúa, se requieren al menos 10-20 repeticiones por cada grado de libertad por lo que el tamaño de la muestra requerido para evitar sobre-parametrización es mínimo de 40 a 80 repeticiones.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO:

Las variables categóricas se expresan como porcentajes, las continuas como media o

mediana de acuerdo a la distribución, las medidas de dispersión se expresan como desviación estándar o rango intercuartílico según corresponda.

Se realizaron pruebas de concordancia con el coeficiente de correlación intraclase, coeficiente de correlación de Linn, y la prueba de Bland & Altman para evaluar concordancia entre dos evaluaciones en diferente tiempo por el mismo nefropatólogo debido a que no existe otro en la región; además, el mismo análisis se realizó para evaluar la concordancia entre dos observadores de las cuentas de acantocitos para comprobar la fiabilidad de las mediciones.

Se evaluó la correlación existente entre la actividad de la nefritis en la biopsia renal con las diversas variables como la cuenta de acantocitos totales, la eritrocituria total y la leucocituria por medio de la Rho de Spearman.

Se realizaron comparaciones para distinguir las formas proliferativas de nefritis lúpica con las formas no proliferativas, se compararon las variables continuas con U de Mann Whitney, se realizaron curvas ROC para evaluar el área bajo la curva y distinguir cual de las variables pudiera ser más útil para distinguir estos tipos de nefritis lúpica. Realizamos finalmente un árbol de regresión el cual pudiera ser de utilidad para distinguir las formas con componente proliferativo, membranoso puro u otras clases de nefritis lúpica.

Se realizó un modelo de regresión lineal de acuerdo con la ecuación ya descrita.

Todo el análisis estadístico se realizó en el programa R version 3.2.2 (2015-08-14) y R Studio versión 0.99.486– © 2009-2013 RStudio, Inc. para Mac.

PLAN DE TRABAJO:

Después de haber aceptado participar en el estudio y firmado consentimiento informado, se solicitó al paciente, la mañana de la biopsia renal, una muestra de orina de 10 ml para evaluar cuenta eritrocitaria, eritrocitos dismórficos (acantocitos) en el microscopio de alto poder y relación proteína/creatinina. Tomamos una muestra de sangre para evaluar creatinina sérica. (Ver anexo IV para evaluar el conteo de acantocitos, eritrocitos y relación proteína/creatinina)

Biopsia renal:

Se realizó la biopsia renal de acuerdo a la técnica ya conocida (ver anexo III), previa firma de consentimiento informado y bajo anestesia local.(32)

Microscopía de luz: Se envió un fragmento de la biopsia renal para la examinación a través de microscopía de luz, los tejidos fueron fijados en formaldehido por 2 a 4 horas y posteriormente embebidos en parafina para ser cortados a 3 micrones. Estos tejidos fueron teñidos con hematoxilina-eosina, ácido peryodico de Schiff (PAS) y tricrómico de Masson.

Recolección de datos:

Los datos de la orina y creatinina sérica, fueron recolectados a partir del laboratorio renal con el conteo total de eritrocitos por ml, acantocitos y otros eritrocitos dismórficos.

ASPECTOS ÉTICOS

Se obtuvo autorización del Comité de Ética del Hospital Central Dr. Ignacio Morones Prieto, para la realización del estudio. (Autorización 84-14)

Las maniobras diagnósticas que se utilizaron se consideran de riesgo menor por lo que no transgreden las normas de la Conferencia de Helsinki de 1964 y su revisión de 2013.

Se obtuvo el consentimiento de los pacientes a través de un documento en donde se especifica el objetivo del estudio, los métodos y las técnicas utilizadas.

Se aseguró la confidencialidad de los datos obtenidos.

Debido a que se realizaron estudios en humanos, y pacientes menores de edad y pacientes adultos, este estudio se apega a lo que se considera y concierne a la Ley General de Salud de México en cuyo Título Quinto Capítulo único, investigación para la salud Artículo 100, referente a la investigación en seres humanos, en los apartados III y IV, se señala que “podrá efectuarse solo cuando exista una razonable seguridad de que no expone a riesgos ni daños innecesarios al sujeto en experimentación” y que “se deberá contar con el consentimiento por escrito” en el caso de niños se deberá contar consentimiento informado por escrito de la madre o tutor del niño en quien se realizara la investigación, o de su representante legal en caso de incapacidad legal de aquel, una vez enterado de los objetivos de la experimentación y de las posibles consecuencias positivas o negativas para la salud.

Lo anterior coincide con lo dispuesto en la Ley de Salud del Estado de San Luis Potosí, en el artículo 84, fracciones III “Podrá efectuarse solo cuando exista una razonable seguridad de que no expone a riesgos, ni daños innecesarios al sujeto en experimentación”.

La carta de consentimiento informado fue diseñada conforme a los lineamientos establecidos en la siguiente normatividad:

1. Norma Oficial Mexicana NOM-012-SSA3-2012. Que establece los criterios para la ejecución de proyectos de investigación para la salud en seres humanos.
2. Código Civil Mexicano. Obligaciones en general sobre el consentimiento informado Artículos 1803 y 1812.

Padres y/o tutores de los pacientes menores firmaron o colocaron su huella digital, en caso

de no saber escribir, en la carta de consentimiento informado en donde se les dió a conocer de manera escrita y a la vez verbal, acerca de la investigación, el tratamiento a realizarse y los riesgos-beneficios que este implica.

Asimismo se tomaron en cuenta las consideraciones señaladas en el Código de Núremberg y lo mencionado en la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial en cuestiones éticas donde señala que “Para tomar parte en un proyecto de investigación, los individuos deben de ser participantes voluntarios e informados”. También menciona que “debe de respetarse el derecho de los participantes en la investigación a proteger su integridad. Tomar toda clase de precauciones para resguardar la intimidad de los individuos, la confidencialidad de la información del ser humano y para reducir al mínimo las consecuencias de la investigación sobre su integridad física y mental”.

Otro aspecto a considerar que es relevante es que los participantes recibieron toda la información necesaria como son método, beneficios calculados, riesgos previsibles y así como también se resolverán todas sus dudas e inquietudes que pudiera tener, en caso de que hubiera algún inconveniente con el tratamiento se realizó el tratamiento correctivo adecuado. Pudieron tomar la decisión de dar consentimiento de participar o no en la investigación y de retirar su consentimiento en cualquier momento, sin exponerse a represalias.

Los datos obtenidos fueron capturados para su análisis y por cuestiones de ética fueron manejados con absoluta discreción.

RECURSOS FINANCIEROS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD

Recursos humanos

Se cuenta en el Hospital Central con la Unidad de Nefrología y Transplantes, donde los nefrólogos están enterados y de acuerdo con el proyecto de investigación. Se cuenta con un Nefropatólogo (Dr. Martínez Galla) y el personal del Laboratorio Renal de la Facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de San Luis Potosí para la realización de la cuenta de

eritrocitos dismórficos.

Recursos y espacios físicos

Se cuenta con la Unidad de Nefrología y Transplantes del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”, espacio donde se realizaron las biopsias renales guiadas por ultrasonido. Se contó con: el Laboratorio Renal que fue donde se procesaron las muestras de orina y el área de Patología donde se examinaron las biopsias renales.

Factibilidad

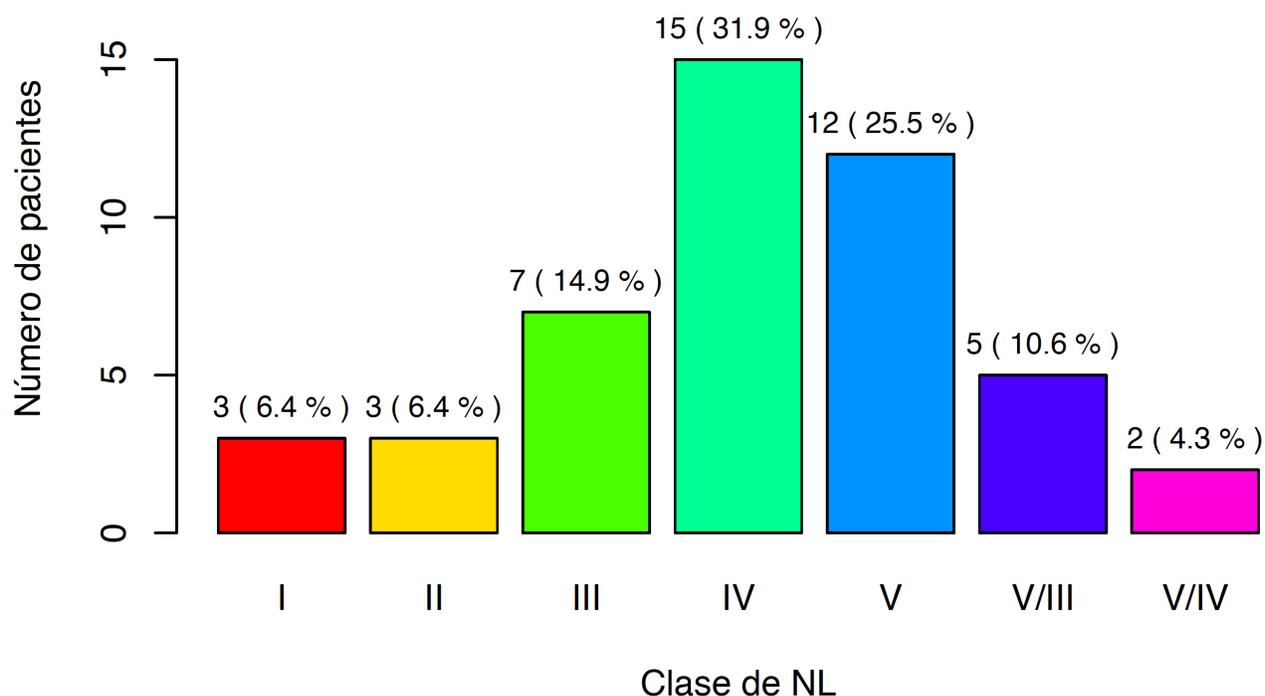
Estudio terminado.

RESULTADOS

Ver anexo VII para análisis de concordancia.

Incluimos 47 pacientes con nefritis lúpica a quienes realizamos biopsia renal, 33 (70.2%) mujeres; la figura 1 muestra el número de pacientes de acuerdo a la clase de nefritis lúpica (Figura 4).

Figura 4. Numero y porcentaje de pacientes biopsiados de acuerdo a la clase de nefritis lúpica.



La siguiente tabla muestra otras características evaluadas:

Tabla 4. Características basales:

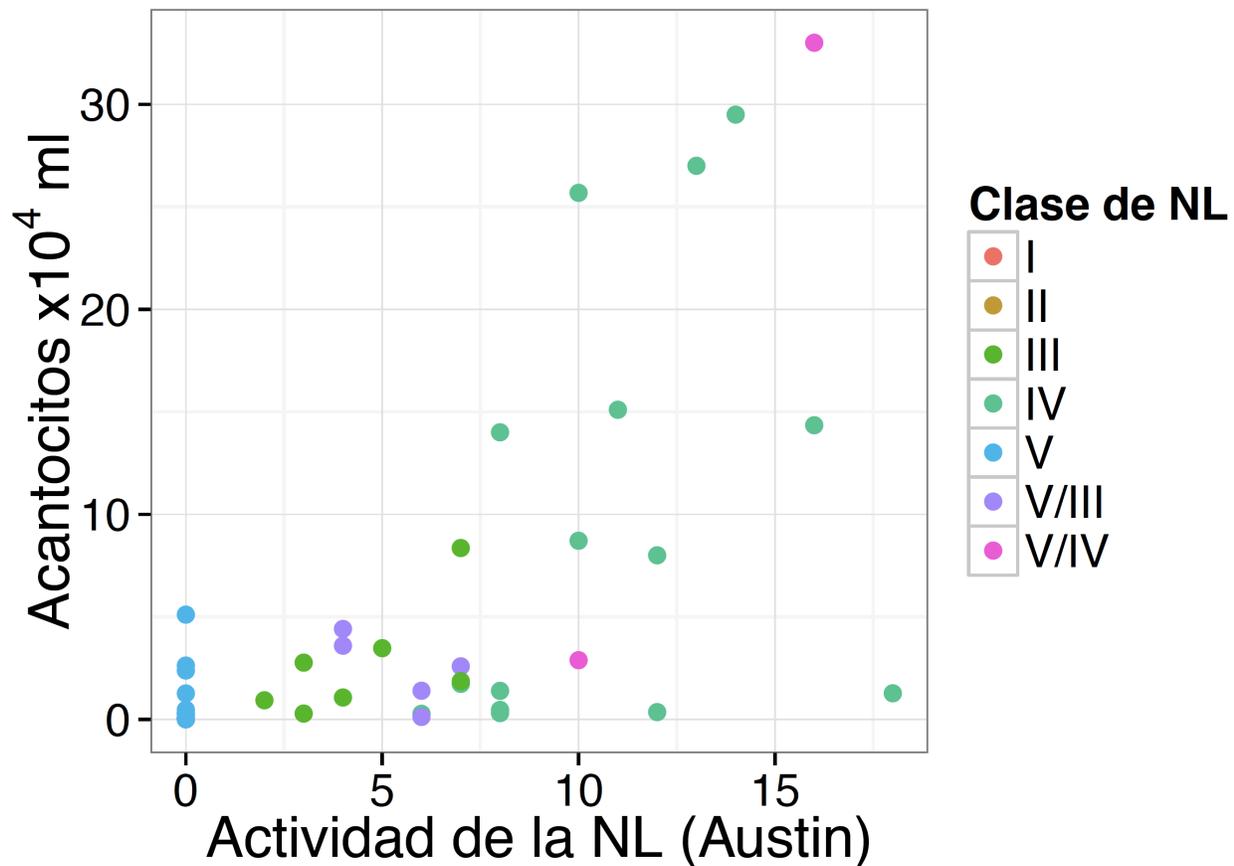
	Media	DE	Mediana	IQR
Edad años	33.6	16.1	34	21
Creatinina mg/dl	1.6	1.3	1.2	1
Eritrocitos x10 ⁴ /ml	29.5	32.7	13.5	42
Leucocitos x10 ³ /ml	10.3	17.3	2.7	9.8
Relación PrCr mg/mg	4	3.8	2.8	4.9
Actividad	5.2	5.3	4	8
Cronicidad	1.8	2.2	1	3
Acantocitos x10 ⁴ /ml	4.9	8.3	1.3	3.7
DMT x10 ⁴ /ml	10.5	16.2	3.5	10.5

Abreviaturas: PrCr: relación proteína/creatinina en orina, DMT: eritrocitos dismórficos glomerulares totales

Correlación acantocituria con actividad de la nefritis lúpica

La correlación entre la actividad de la NL y el conteo total de acantocitos fue de 0.68 (IC: 0.49-0.81), valor de $p < 0.0001$. La figura 5 muestra la dispersión de los puntos, de acuerdo a la clase de nefritis lúpica.

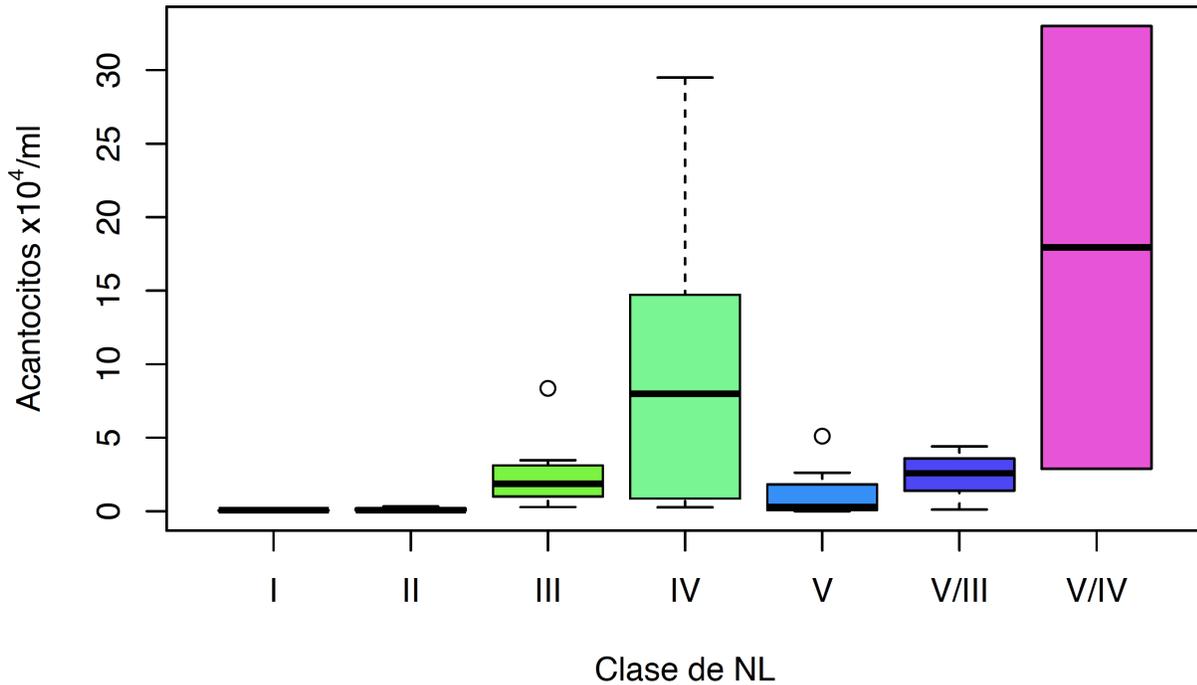
Figura 5. Conteo de acantocitos de acuerdo a la clase de NL.



Acantocituria y diferentes clases de nefritis lúpica

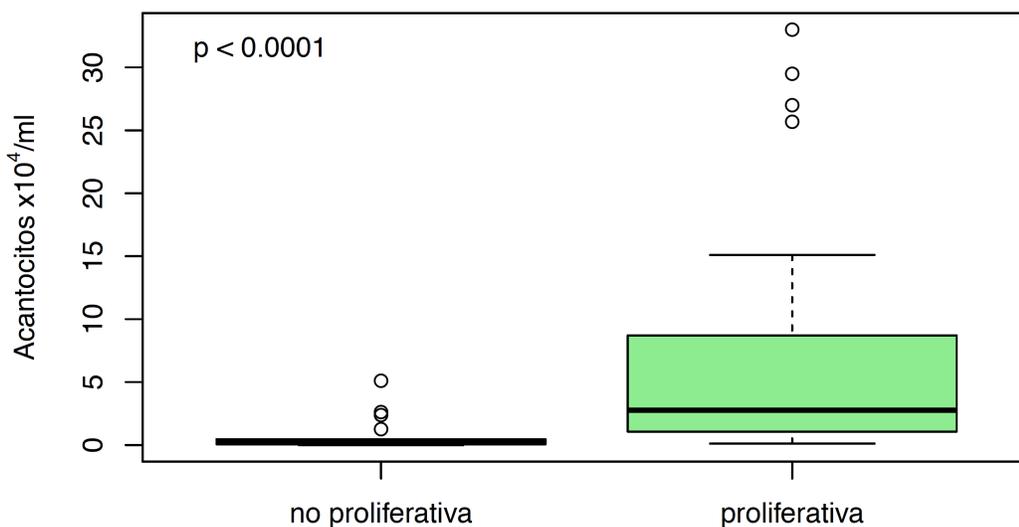
El primer objetivo secundario fue determinar si la acantocituria distingue las clases proliferativas (nefritis lúpicas clase III o IV) de las demás clases de nefritis lúpica. La figura 6 muestra la acantocituria de acuerdo a las clases de nefritis lúpica. Se distingue en la figura como las clases I y II son las que tuvieron menor cantidad de acantocitos, seguidas de las membranosas puras (clase V) y las clases con mayor cantidad de acantocitos fueron las formas proliferativas (clases III, IV, V/III, V/IV).

Figura 6. Acantocituria de acuerdo a las clases de nefritis lúpica.



Al comparar las medianas de las formas proliferativas y las no proliferativas, existieron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.0001$), las formas proliferativas tienen mayor número de acantocitos. (Figura 7)

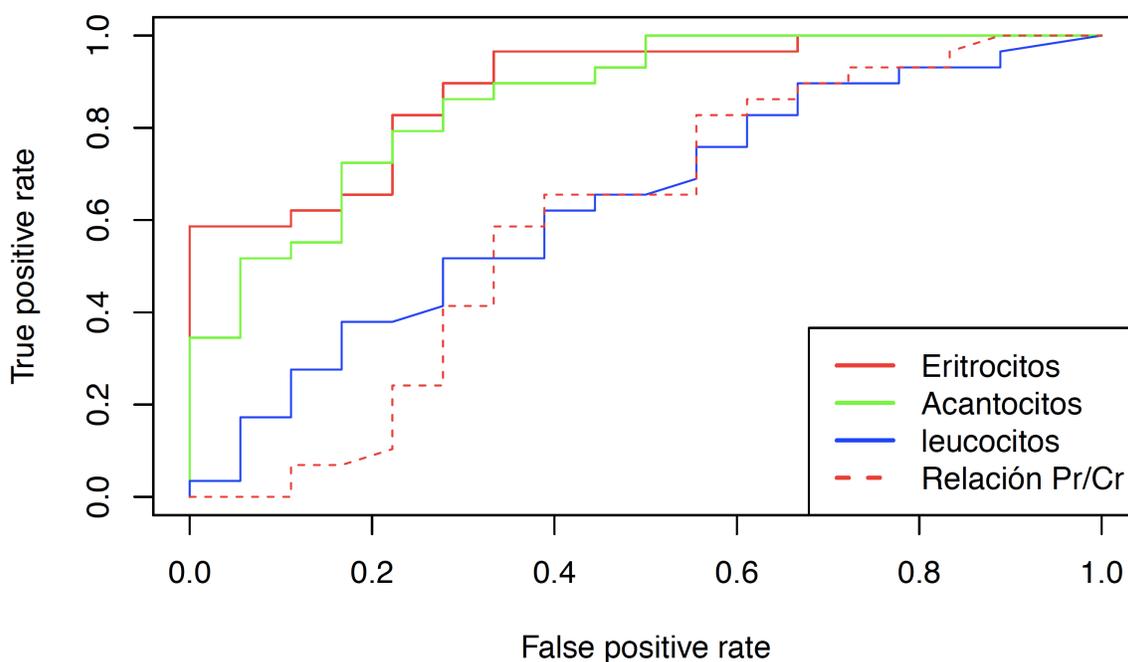
Figura 7. Diferencias en acantocituria de acuerdo a las formas proliferativas (III, IV, V/III, V/IV) o no proliferativas (otras clases) de nefritis lúpica.



Realizamos curvas ROC basados en eritrocitos/ml, acantocitos/ml, leucocitos/ml y relación proteína creatinina para distinguir las formas proliferativas de las no proliferativas (figura 8).

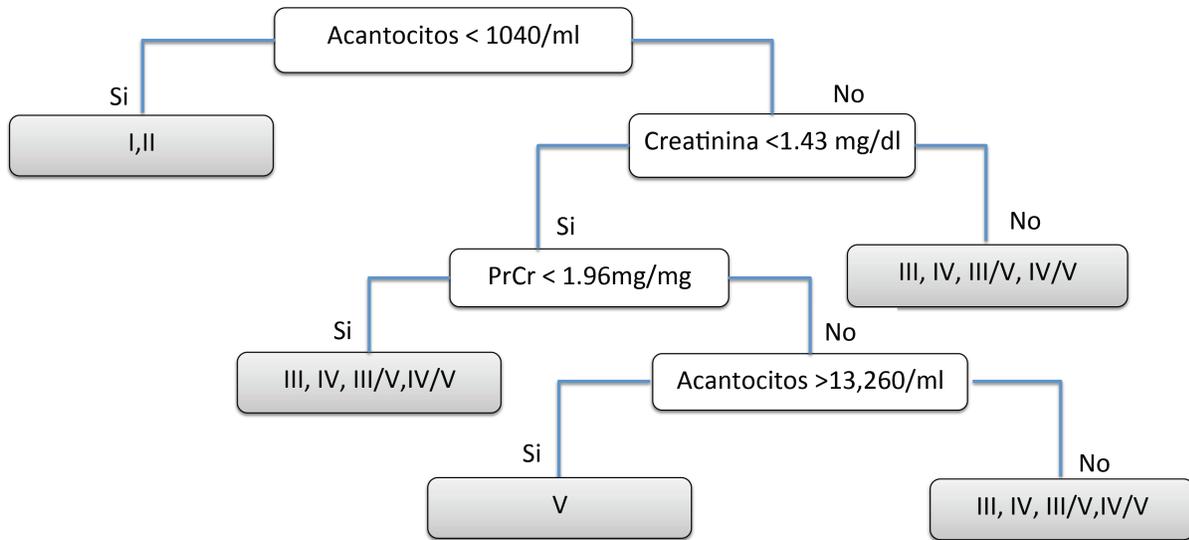
Las mejores áreas bajo la curva fueron para eritrocitos y acantocitos; el área bajo la curva para eritrocitos fue de 0.887 y para acantocitos de 0.8621, lo cual se muestra en la siguiente figura; al comparar las curvas ROC no existieron diferencias estadísticamente significativas entre las curvas de acantocitos y eritrocitos. El mejor punto en la curva ROC para distinguir las formas proliferativas de las no proliferativas para eritrocitos fue de 4.6×10^4 eritrocitos/ml con sensibilidad para detectar formas proliferativas de 96.6% y especificidad de 66.7%; para los acantocitos el mejor punto de corte fue de 0.3382×10^4 acantocitos/ml con sensibilidad de 86.2% y especificidad de 72.2%.

Figura 8. Curva ROC que evalúa el área bajo la curva de acantocitos, eritrocitos, leucocitos y relación proteína creatinina para distinguir las formas proliferativas de las no proliferativas.



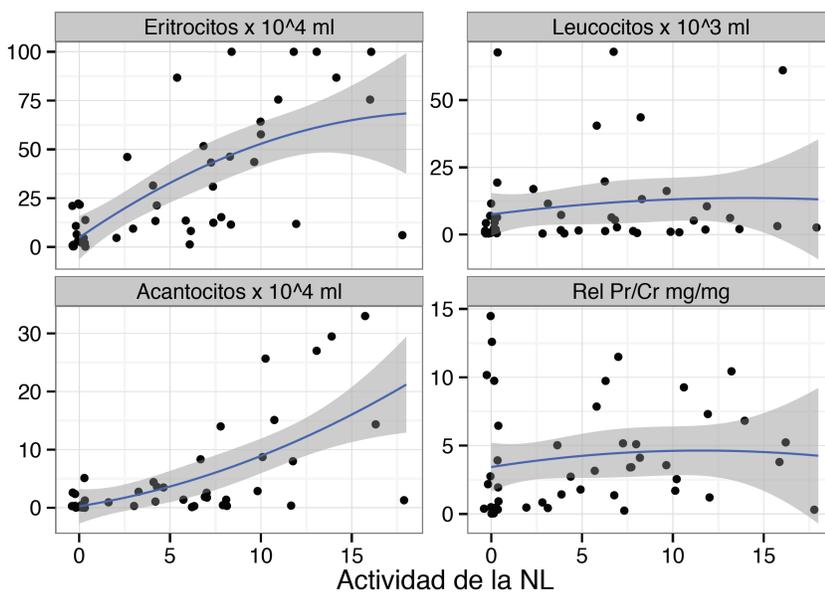
Realizamos un árbol de regresión en el programa R basado en el paquete “tree”, para tratar de distinguir 3 formas de nefritis lúpica: las formas proliferativas (III, IV, III/V, IV/V), la clase membranosa pura (clase V) de otras formas de nefritis lúpica. el modelo inicial fue: $\text{formaNL} \sim \text{Acantocitos} + \text{Relación proteína creatinina} + \text{creatinina sérica}$ (Figura 9). Este árbol de clasificación pudo distinguir de forma correcta en la validación con los mismos datos al 80.85% de los casos.

Figura 9. Árbol de regresión para distinguir las formas proliferativas, membranosa pura de las otras clases de NL basado en la acantocituria, relación proteína creatinina y creatinina sérica.



La correlación entre el número de eritrocitos con la actividad de la enfermedad fue de 0.70602 (0.53-0.83), con $p < 0.0001$; la correlación entre la actividad de la nefritis lúpica y la cuenta de leucocitos fue de 0.2231 (-0.07 – 0.48) con valor de p de 0.1318. La correlación de la actividad de la nefritis lúpica y proteinuria fue de 0.2443 (-0.05-0.50), con valor de p 0.09787. La siguiente figura muestra la dispersión de puntos de las determinaciones (Figura 10).

Figura 10. Dispersión de los diferentes puntos y con líneas de regresión. Las líneas de regresión fueron graficadas con relación cuadrática la cual fue encontrada en el análisis de regresión.



Predicción de actividad de la enfermedad (modelo de regresión)

Se realizó un modelo de regresión para predecir la actividad de la nefritis basado en el conteo de eritrocitos, porcentaje de acantocitos, leucocituria y la relación proteína/creatinina en la orina como modelo inicial, los datos se centraron antes de cualquier procedimiento. Se probó multicolinealidad con la función vif del paquete car en R, todas las variables fueron menores a 2 por lo que todas fueron incluidas en el modelo máximo, se evaluó curvilinearidad con el paquete mgcv , se incluyó como cuadrático el porcentaje de acantocitos y la relación proteína creatinina (ver figura 10). Se redujo el modelo eliminando las variables que no fueron significativas, quedando solamente significativa el conteo de eritrocitos, obteniendo una R^2 ajustada de 44.8%, probamos finalmente los requisitos de normalidad y homogeneidad de las varianzas los cuales se cumplieron para el modelo final. Se realizó validación del modelo con bootstrap con 300 repeticiones, con R^2 de 41.86%.

Se buscaron outliers en los datos, encontrándose 2, los cuales fueron eliminados y se probó nuevamente el modelo con los pasos descritos previamente: los datos se centraron antes de cualquier procedimiento, se realizó el modelo de regresión para predecir la actividad de la nefritis basado en el conteo de eritrocitos, porcentaje de acantocitos, leucocituria y la relación proteína/creatinina en la orina como modelo inicial. Se probó multicolinealidad con la función vif del paquete car en R, todas las variables fueron menores a 2 por lo que todas fueron incluidas en el modelo máximo, se evaluó curvilinearidad con el paquete mgcv , se incluyó como cuadrático el porcentaje de acantocitos y la relación proteína creatinina. Se redujo el modelo eliminando las variables que no fueron significativas, quedando solamente significativos el conteo de eritrocitos y la relación proteína creatinina con función cuadrática, como sigue:

$$\text{Actividad} \sim 4.7778 + \text{eritrocitos} \times 10^4 * (0.1051) + \text{PrCr} * (2.0117) + \text{PrCr}^2 * (-9.0588)$$

Este modelo obtuvo una R^2 ajustada de 70.9%, probamos finalmente los requisitos de normalidad y homogeneidad de las varianzas los cuales se cumplieron para el modelo final. Se realizó validación del modelo con bootstrap con 300 repeticiones, con R^2 de 68.4%.

El mejor modelo de acuerdo a la R^2 es el modelo sin outliers, este modelo sería el mas adecuado a utilizar, como se describirá en la discusión lo mejor será validar este modelo con datos diferentes y evaluar que la R^2 se mantenga y así darle la validez externa que requiere.

DISCUSIÓN:

Nuestro estudio propone un biomarcador de actividad de la nefritis lúpica, además que también puede servir como biomarcador para distinguir formas proliferativas de formas no proliferativas de NL.

Tabla 5. Biomarcadores seleccionados de la literatura

Autor-referencia	Biomarcadores y numero de pacientes	Resultados	Comentarios
Avihingsanon Y, et al. Kidney Int. 2006 Feb;69(4):747–53.(33)	26 pacientes con NL todos biopsiados, IP-10, CXCR3, FCT-B, FCVE, la molécula y RNAm de los biomarcadores en orina.	RNAm de quimiocinas y de IP-10 fueron mas altos en clase 4. Clases IV y VI niveles elevados de mRNA de TGFB y VEGF. Curvas ROC para detectar clases IV	Tuvieron seguimiento de los biomarcadores y las muestras fueron la mañana de la biopsia
Ben-Yehuda et al. J Autoimmun. 1995 Apr;8(2):279–91.(34)	22 pacientes con LES, 12 sanos, 11/22 NL y solo 9 biopsia: Ac contra laminina MEC	Niveles elevados de Ac en orina de pacientes con nefritis	
Ilhan Bicer, et al. Rheumatol Int. 2003 Sep;23(5):221–5.(35)	51 pacientes con NL, 12 con AR y 21 controles: Glucosaminoglicanos y heparán sulfato	Glucosaminoglicanos elevados en LES y AR	Las muestras no fueron tomadas al momento de las biopsias
Chan RWY, et al. Lupus. 2006 Jan;15(5):262–7.(36)	12 pacientes con NL activa, 17 pacientes con NL en remisión, 12 LES sin NL : Mononucleares CD3, CD20, CD56	CD3 correlacionó con SLEDAI en 9111 pacientes con biopsia renal los mononucleares, CD3 y CD20 buena correlación con índice de actividad	Pocos pacientes riesgo de la correlación sea por puntos con "apalancamiento"
Enghard P, et al. Ann Rheum Dis. 2014 Jan;73(1):277–83.(37)	147 LES, 31 otras nefropatías y 20 controles, solo 25 con biopsia reciente CD3 y CD4	CD4 >800/100 ml exclusivamente en la clase IV con AUC de 0.9969 y buena sensibilidad y especificidad	Solo 2 pacientes tenían clase V por eso el AUC tan grande
Guan J, et al. Lupus. 2012 Oct;21(11):1190–5.(38)	12 NL (todos con biopsia), 10 con GMN pauci-inmune y 6 controles: ICAM-1	ICAM-1 reducido en pacientes con NL y correlacionó inversamente con la función renal	
Hammad A. et al Lupus. 2013 Apr;22(5):486–91.(39)	32 niños con LES y 15 controles 22 con NL, 10 sin NL: NGAL en orina	Elevada en LES Vs controles y en NL vs no NL, correlación con SLEDAI (0.5), sensibilidad de 91% y especificidad de 70% para proliferativa (>10.07)	La gráfica muestra alto apalancamiento
Howe HS et al. Int J Rheum Dis. 2012 Mar;15(1):13–6.(40)	121 pacientes asiáticos y 19 controles sVCAM-1, sICAM-1	sICAM y sVCAM elevados en pacientes con LES vs controles. sVCAM correlacionó con rSLAM-R	
Marks SD, et al. Pediatr Nephrol. 2010 Nov;25(11):2283–8.(41)	25 niños y adolescentes con LES, 13 con NL y controles sin NL. MCP-1	Niveles elevados de MCP-1 en pacientes con NL y correlación con BILAG	
Miranda JM et al., Lupus. 1998 Jan;7(6):387–91.(42)	26 con NL: Prolactina sérica y urinaria	Los niveles séricos y urinarios de prolactina fueron mas altos en pacientes con enfermedad "severa"	La definición de enfermedad severa es extraña
Schwartz N, et al Arthritis Res Ther. 2009 Jan;11(5):R143.(43)	83 pacientes con LES, 55 con NL activa TWEAK	Correlación de TWEAK con SLEDAI renal	Actividad de la NL fue medida por SLEDAI o BILAG
Singh RG, et al Lupus. 2012 Oct;21(11):1214–8.(44)	20 pacientes con NL con biopsia MCP-1 urinaria	Niveles elevados de MCP-1 en NL severa y en recaída	La definición de NL leve, moderada o severa se basó en los hallazgos del EGO y la creatinina
Sompam P 2012, J Proteomics. 2012 Jun 18;75(11):3240–7.(45)	10 pacientes con NL, 5 activa y 5 inactiva : glioproteína Zn alfa 2 urinaria	Elevada en NL activa	No definen NL activa
Suzuki M, et al. Pediatr Nephrol. 2007 Dec;22(12):2047–57.(46)	32 niños con LES Multiples proteínas	Correlacionan con SLEDAI	NL activa definida por SLEDAI-2K renal
Suzuki M, et al. Pediatr Nephrol. 2008 Mar;23(3):403–12.(47)	85 niños con LES NGAL urinario	Correlación con SLEDAI renal	Actividad medida por SLEDAI
Watson L Lupus. 2012 Apr;21(5):496–501.(48)	60 pacientes con lupus juvenil: MCP-1 y glicoproteína ácida alfa-1 (AGP)	Los pacientes con alta actividad renal tenían niveles elevados de MCP-1 y AGP	Actividad renal definida por BILAG
Chan RW-Y. Nephrol Dial Transplant. 2006 Jun;21(6):1534–40(49)	88 pacientes con LES, 29 con nefritis no lúpica y 10 controles sanos, solo 13 con biopsia RANTES (quimiocina que promueve quimioatracción)	RANTES elevado en pacientes con NL activa, correlación con SLEDAI y renal SLEDAI	
Xuejing Z, et al J Biomed Biotechnol. 2012 Jan;2012:359647.(50)	46 casos con biopsia TWEAK y MCP-1	TWEAK correlacionó con el índice de actividad (r=0.825) , índice de actividad glomerular (0.754) y el índice de actividad tubulointersticial. TWEAK y MCP-1 elevados en NL actual	

Abreviaturas: IP-10: proteína 10 productora de interferón, CXCR3: receptor de quimiocina 3, FCT-B: factor de crecimiento transformante beta, FCVE: factor de crecimiento vascular endotelial, MEC: componente de la matriz extracelular, NGAL: lipocalina del neutrófilo asociada a gelatinasa, sVCAM-1: moléculas de adhesión celular vascular 1, sICAM-1: moléculas de adhesión intercelular-1, MCP-1: proteína 1 quimioatrayente de monocitos, TWEAK: citocina de la familia del TNF WEAK, NL: nefritis lúpica.

La tabla 5 muestra los diversos estudios que evalúan diferentes moléculas como biomarcadores de NL, (33,51,34–40,52,41,53,42–45,47,46,48,54,50), sin embargo, de la lista de múltiples biomarcadores, solo dos artículos utilizan la correlación del biomarcador con la biopsia (37,50): Enghard y cols.,(37) proponen a los linfocitos CD4 en orina como biomarcador para las clases proliferativas y distinguirlos de las no proliferativas, sin embargo de este estudio hay que destacar que solo dos pacientes tenían clase V (no proliferativa) y solo 25 pacientes tenían biopsia renal, situaciones que debilitan el poder de sus observaciones. Por ejemplo el área bajo la curva que reportan de casi el 100% puede ser debida a que casi todos los pacientes tenían formas proliferativas. El estudio de Xuejing y cols.,(50) informa que la molécula TWEAK (molécula parecida al TNF debil inductor de apoptosis) correlaciona con la actividad de la enfermedad en la biopsia renal en 46 pacientes con NL, es un estudio con metodología y resultados parecidos al nuestro, pero utilizan una molécula que requiere de técnica especial y que no está disponible para laboratorios clínicos.

Nuestro estudio propone a los eritrocitos y los acantocitos como biomarcadores de actividad pero también pueden distinguir entre las diversas clases de NL. Las curvas ROC muestran áreas bajo la curva mayores al 85% y el árbol de regresión muestra error de clasificar a los 3 grupos de NL menores al 20% lo cual es una fortaleza para nuestro estudio, ya que para nuestro conocimiento, ningún estudio clasifica las formas proliferativas, membranosas y las clases I y II en otro grupo con un biomarcador, como si lo hace el árbol de regresión de nuestro estudio.

El modelo de regresión sin outliers, tiene una R^2 ajustada de 70.9%, el cual fue posible la validación por bootstrap con R^2 de 68.4%, por lo cual el modelo final que incluyó eritrocitos y proteinuria con relación caudrática, puede explicar el 70.9% de la actividad de la biopsia renal,

Una debilidad de nuestro estudio es que no tenemos el tamaño de muestra para hacer la validación de nuestros resultados y predecir las diversas formas en proliferativas y no proliferativas, además de la validación del modelo de regresión. Esta desventaja fue solucionada parcialmente con el uso de “bootstrap” en R, que es una forma de validación estadística aceptada en la literatura.

Nuestro estudio propone a los acantocitos como un biomarcador barato, fácil de realizar en casi cualquier centro, el cual pudiera ser útil en el seguimiento a la respuesta al tratamiento.

Las mediciones fueron contadas de forma manual, sin embargo la reproducibilidad de las mediciones fueron evaluadas y la concordancia entre dos evaluadores fue satisfactoria.

Las perspectivas futuras, son evaluar el seguimiento de estos pacientes, y analizar si son los acantocitos, y los eritrocitos, marcadores de pronóstico desde la evaluación basal de pacientes con nefritis lúpica, además de validar el modelo de regresión con un grupo diferente de pacientes.

En la actualidad, el seguimiento sugerido por las guías de nefritis lúpica es que el tratamiento debe ser establecido con base a la histopatología de la biopsia renal, además sugiere que de no tener respuesta al tratamiento, repetir la biopsia renal. (55) El biomarcador propuesto, puede ser útil en pacientes en los que esté contraindicada la realización de una segunda biopsia, así como en la evaluación de la respuesta al tratamiento; el incremento en la cuenta

de acantocitos en orina, pudiera indicar pobre respuesta al tratamiento como lo muestra la correlación con la actividad de nefritis lúpica de nuestro estudio.

CONCLUSIONES:

Nuestro estudio propone un biomarcador que correlaciona con la actividad de la nefritis lúpica, puede también sugerir las clases de nefritis lúpica y puede identificar la actividad de la nefritis lúpica basado en eritrocituria y la relación urinaria proteína/creatinina.

Este biomarcador puede ser de utilidad para seguimiento de pacientes con nefritis lúpica y ayudar a establecer tratamiento en pacientes que por algún motivo no se puede realizar una biopsia renal.

REFERENCIAS:

1. Tsokos GC. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*. 2011 Dec 1;365(22):2110–21.
2. Rajashekar A, Perazella MA, Crowley S. Systemic diseases with renal manifestations. *Prim Care*. 2008 Jun;35(2):297–328, vi – vii.
3. Rahman A. Management of cardiovascular risk factors in patients with systemic lupus erythematosus. *Acta Reum Port*. 33(1):13–5.
4. Mok CC, Kwok RCL, Yip PSF. Effect of renal disease on the standardized mortality ratio and life expectancy of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2013 Aug;65(8):2154–60.
5. Mittal B, Rennke H, Singh AK. The role of kidney biopsy in the management of lupus nephritis. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2005 Jan;14(1):1–8.
6. 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.
7. Weening JJ, D'Agati VD, Schwartz MM, Seshan S V, Alpers CE, Appel GB, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *J Am Soc Nephrol*. 2004 Feb;15(2):241–50.
8. Markowitz GS, D'Agati VD. The ISN/RPS 2003 classification of lupus nephritis: an assessment at 3 years. *Kidney Int*. 2007 Mar;71(6):491–5.
9. Xiong W, Lahita RG. Pragmatic approaches to therapy for systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Rheumatol*. Nature Publishing Group; 2014 Mar;10(2):97–107.
10. Doria A, Briani C. Lupus: improving long-term prognosis. *Lupus*. 2008 Mar;17(3):166–70.
11. Austin HA, Muenz LR, Joyce KM, Antonovych TA, Kullick ME, Klippel JH, et al. Prognostic factors in lupus nephritis. Contribution of renal histologic data. *Am J Med*. 1983 Sep;75(3):382–91.

12. Austin HA, Muenz LR, Joyce KM, Antonovych TT, Balow JE. Diffuse proliferative lupus nephritis: identification of specific pathologic features affecting renal outcome. *Kidney Int.* 1984 Apr;25(4):689–95.
13. Giannico G, Fogo AB. Lupus nephritis: is the kidney biopsy currently necessary in the management of lupus nephritis? *Clin J Am Soc Nephrol.* 2013 Jan;8(1):138–45.
14. Esdaile JM, Levinton C, Federgreen W, Hayslett JP, Kashgarian M. The clinical and renal biopsy predictors of long-term outcome in lupus nephritis: a study of 87 patients and review of the literature. *Q J Med.* 1989 Sep;72(269):779–833.
15. Schwartz MM, Bernstein J, Hill GS, Holley K, Phillips EA. Predictive value of renal pathology in diffuse proliferative lupus glomerulonephritis. Lupus Nephritis Collaborative Study Group. *Kidney Int.* 1989 Nov;36(5):891–6.
16. Esdaile JM, Abrahamowicz M, MacKenzie T, Hayslett JP, Kashgarian M. The time-dependence of long-term prediction in lupus nephritis. *Arthritis Rheum.* 1994 Mar;37(3):359–68.
17. Contreras G, Pardo V, Cely C, Borja E, Hurtado A, De La Cuesta C, et al. Factors associated with poor outcomes in patients with lupus nephritis. *Lupus.* 2005 Jan;14(11):890–5.
18. Hill GS, Delahousse M, Nochy D, Tomkiewicz E, Rémy P, Mignon F, et al. A new morphologic index for the evaluation of renal biopsies in lupus nephritis. *Kidney Int.* 2000 Sep;58(3):1160–73.
19. Hill GS, Delahousse M, Nochy D, Rémy P, Mignon F, Méry JP, et al. Predictive power of the second renal biopsy in lupus nephritis: significance of macrophages. *Kidney Int.* 2001 Jan;59(1):304–16.
20. Wu L-H, Yu F, Tan Y, Qu Z, Chen M-H, Wang S-X, et al. Inclusion of renal vascular lesions in the 2003 ISN/RPS system for classifying lupus nephritis improves renal outcome predictions. *Kidney Int.* 2013 Apr;83(4):715–23.
21. Moroni G, Pasquali S, Quaglini S, Banfi G, Casanova S, Maccario M, et al. Clinical and prognostic value of serial renal biopsies in lupus nephritis. *Am J Kidney Dis.* 1999 Sep;34(3):530–9.
22. Alsuwaida A, Husain S, Alghonaim M, AlOudah N, Alwakeel J, Ullah A, et al. Strategy for second kidney biopsy in patients with lupus nephritis. *Nephrol Dial Transplant.* 2012 Apr;27(4):1472–8.

23. Austin HA, Boumpas DT, Vaughan EM, Balow JE. Predicting renal outcomes in severe lupus nephritis: contributions of clinical and histologic data. *Kidney Int.* 1994 Feb;45(2):544–50.
24. Cohen RA, Brown RS. Clinical practice. Microscopic hematuria. *N Engl J Med.* 2003 Jun 5;348(23):2330–8.
25. Wandel E, Köhler H. Acanthocytes in urinary sediment--a pathognomonic marker? *Nephrol Dial Transplant.* 1998 Jan;13(1):206–7.
26. Pasricha S-R. The red cell membrane, part 1: the role of the red cell membrane. *Clin Adv Hematol Oncol.* 2014 Aug;12(8):533–5.
27. Tesser Poloni JA, Bosan IB, Garigali G, Fogazzi GB. Urinary red blood cells: not only glomerular or nonglomerular. *Nephron Clin Pract.* 2012 Jan;120(1):c36–41; discussion c41.
28. Saad TF. Images in clinical medicine. Dysmorphic urinary erythrocytes. *N Engl J Med.* 1996 May 30;334(22):1440.
29. Huussen J, Koene RAP, Hilbrands LB. The (fixed) urinary sediment, a simple and useful diagnostic tool in patients with haematuria. *Neth J Med.* 2004 Jan;62(1):4–9.
30. van der Snoek BE, Hoitsma AJ, van Weel C, Koene RA. [Dysmorphic erythrocytes in urinary sediment in differentiating urological from nephrological causes of hematuria]. *Ned Tijdschr Geneeskd.* 1994 Apr 2;138(14):721–6.
31. Cohen J. *Statistical power analysis for the behavioral sciences.* 2nd Editio. Statistical power analysis for the behavioral sciences. Hillsdale, NJ: Lawrence Erlbaum; 1988.
32. Korbet SM. Percutaneous renal biopsy. *Semin Nephrol.* 2002 May;22(3):254–67.
33. Avihingsanon Y, Phumesin P, Benjachat T, Akkasilpa S, Kittikowit V, Praditpornsilpa K, et al. Measurement of urinary chemokine and growth factor messenger RNAs: a noninvasive monitoring in lupus nephritis. *Kidney Int.* 2006 Feb;69(4):747–53.
34. Ben-Yehuda A, Rasooly L, Bar-Tana R, Breuer G, Tadmor B, Ulmansky R, et al. The urine of SLE patients contains antibodies that bind to the laminin component of the extracellular matrix. *J Autoimmun.* 1995 Apr;8(2):279–91.

35. Biçer I, Aksu K, Parildar Z, Tanyalçin T, Doğanavşargil E, Kutay FZ. Increased excretions of glycosaminoglycans and heparan sulfate in lupus nephritis and rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int.* 2003 Sep;23(5):221–5.
36. Chan RWY, Lai FMM, Li EKM, Tam LS, Chung KY, Chow KM, et al. Urinary mononuclear cell and disease activity of systemic lupus erythematosus. *Lupus.* 2006 Jan;15(5):262–7.
37. Enghard P, Rieder C, Kopetschke K, Klocke JR, Undeutsch R, Biesen R, et al. Urinary CD4 T cells identify SLE patients with proliferative lupus nephritis and can be used to monitor treatment response. *Ann Rheum Dis.* 2014 Jan;73(1):277–83.
38. Guan J, Wang G, Tam L-S, Kwan BC-H, Li EK-M, Chow K-M, et al. Urinary sediment ICAM-1 level in lupus nephritis. *Lupus.* 2012 Oct;21(11):1190–5.
39. Hammad A, Mosaad Y, Elhanbly S, Youssef H, El Refaaey A, Elhousseini F, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of severe lupus nephritis in children. *Lupus.* 2013 Apr;22(5):486–91.
40. Howe HS, Kong KO, Thong BYH, Law WG, Chia FLA, Lian TY, et al. Urine sVCAM-1 and sICAM-1 levels are elevated in lupus nephritis. *Int J Rheum Dis.* 2012 Mar;15(1):13–6.
41. Marks SD, Shah V, Pilkington C, Tullus K. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 correlates with disease activity in lupus nephritis. *Pediatr Nephrol.* 2010 Nov;25(11):2283–8.
42. Miranda JM, Prieto RE, Paniagua R, Garcia G, Amato D, Barile L, et al. Clinical significance of serum and urine prolactin levels in lupus glomerulonephritis. *Lupus.* 1998 Jan;7(6):387–91.
43. Schwartz N, Rubinstein T, Burkly LC, Collins CE, Blanco I, Su L, et al. Urinary TWEAK as a biomarker of lupus nephritis: a multicenter cohort study. *Arthritis Res Ther.* 2009 Jan;11(5):R143.
44. Singh RG, Usha, Rathore SS, Behura SK, Singh NK. Urinary MCP-1 as diagnostic and prognostic marker in patients with lupus nephritis flare. *Lupus.* 2012 Oct;21(11):1214–8.
45. Somparn P, Hirankarn N, Leelahavanichkul A, Khovidhunkit W, Thongboonkerd V, Avihingsanon Y. Urinary proteomics revealed prostaglandin H(2)D-isomerase, not Zn-

- α 2-glycoprotein, as a biomarker for active lupus nephritis. *J Proteomics*. 2012 Jun 18;75(11):3240–7.
46. Suzuki M, Ross GF, Wiers K, Nelson S, Bennett M, Passo MH, et al. Identification of a urinary proteomic signature for lupus nephritis in children. *Pediatr Nephrol*. 2007 Dec;22(12):2047–57.
 47. Suzuki M, Wiers KM, Klein-Gitelman MS, Haines KA, Olson J, Onel KB, et al. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of disease activity in pediatric lupus nephritis. *Pediatr Nephrol*. 2008 Mar;23(3):403–12.
 48. Watson L, Midgley A, Pilkington C, Tullus K, Marks S, Holt R, et al. Urinary monocyte chemoattractant protein 1 and alpha 1 acid glycoprotein as biomarkers of renal disease activity in juvenile-onset systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 2012 Apr;21(5):496–501.
 49. Chan RW-Y, Lai FM-M, Li EK-M, Tam L-S, Chow K-M, Li PK-T, et al. Messenger RNA expression of RANTES in the urinary sediment of patients with lupus nephritis. *Nephrology (Carlton)*. 2006 Jun;11(3):219–25.
 50. Xuejing Z, Jiazhen T, Jun L, Xiangqing X, Shuguang Y, Fuyou L. Urinary TWEAK level as a marker of lupus nephritis activity in 46 cases. *J Biomed Biotechnol*. 2012 Jan;2012:359647.
 51. Li Y, Fang X, Li Q-Z. Biomarker profiling for lupus nephritis. *Genomics Proteomics Bioinformatics*. Beijing Institute of Genomics, Chinese Academy of Sciences and Genetics Society of China; 2013;11(3):158–65.
 52. Ghobrial EE, El Hamshary AA, Mohamed AG, Abd El Raheim YA, Talaat AA. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 as a biomarker of lupus nephritis activity in children. *Saudi J Kidney Dis Transpl*. Jan;26(3):507–15.
 53. Alzawawy A, Zohary M, Ablordiny M, Eldalie M. Estimation of monocyte-chemoattractantprotein-1 (Mcp-1) level in patients with lupus nephritis. *Int J Rheum Dis*. 2009 Dec;12(4):311–8.
 54. Chan RW-Y, Lai FM-M, Li EK-M, Tam L-S, Chow K-M, Li PK-T, et al. The effect of immunosuppressive therapy on the messenger RNA expression of target genes in the urinary sediment of patients with active lupus nephritis. *Nephrol Dial Transplant*. 2006 Jun;21(6):1534–40.
 55. Kesson AM, Talbott JM, Gyory AZ. Microscopic examination of urine. *Lancet*. 1978 Oct

14;2(8094):809–12.

56. STERNHEIMER R, MALBIN B. Clinical recognition of pyelonephritis, with a new stain for urinary sediments. *Am J Med.* 1951 Sep;11(3):312–23.
57. Flores-Rodríguez-Araceli. Evaluación de la precisión y confiabilidad de los métodos usados para el análisis del sedimento urinario. Tesis Profesional para Licenciatura de QFB. Universidad Autónoma de San Luis Potosí; 2000.
58. Fairley KF, Birch DF. Hematuria: a simple method for identifying glomerular bleeding. *Kidney Int.* 1982 Jan;21(1):105–8.
59. Mohammad KS, Bdesha AS, Snell ME, Witherow RO, Coleman D V. Phase contrast microscopic examination of urinary erythrocytes to localise source of bleeding: an overlooked technique? *J Clin Pathol.* 1993 Jul;46(7):642–5.
60. Fairley KF, Birch DF. Microscopic urinalysis in glomerulonephritis. *Kidney Int Suppl.* 1993 Jul;42:S9–12.
61. Martínez-Alanis KL. Utilidad de la Morfología Eritrocitaria en la tipificación de la hematuria microscópica. Tesina para Grado de Especialidad en Ciencias Químico-Biológicas. Universidad Autónoma de San Luis Potosí; 2008.
62. Meola JM, Vargas MA, Brown HH. Simple procedure for measuring total protein in urine. *Clin Chem.* 1977 Jun;23(6):975–7.

ANEXO 1. CRITERIOS DE DIAGNÓSTICO DE LUPUS ERITEMATOSO SISTÉMICO, SLICC.(6)

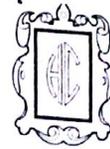
El diagnóstico de lupus eritematoso sistémico se establece al presentar 4 de los 17 criterios propuestos que incluya al menos un criterio clínico y un inmunológico. O nefritis confirmada por biopsia compatible con LES y presencia de anticuerpos antinucleares positivos o antiDNA de doble cadena.

CRITERIOS CLÍNICOS	CRITERIOS INMUNOLÓGICOS
<p>1. LUPUS CUTÁNEO AGUDO Eritema malar lúpico Lupus ampolloso Necrosis epidérmica tóxica como variante de LES Eritema lúpico maculopapular Eritema lúpico fotosensible ó lupus cutáneo subagudo</p> <p>2. LUPUS CUTÁNEO CRÓNICO Lupus discoide clásico -Localizado -Generalizado Lupus hipertrófico (verrucoso) Paniculitis lúpica (lupus profundo) Lupus mucoso Lupus eritematoso tumidus Lupus pernio Sobreposición lupus discoide/liquen plano</p> <p>3. ULCERAS ORALES: Paladar Bucales Lengua Nasales (en ausencia de otras causas)</p> <p>4. ALOPECIA NO CICATRIZANTE</p> <p>5. SINOVITIS EN DOS Ó MAS ARTICULACIONES</p> <p>6. SEROSITIS Pleuresía típica > 1 día ó derrame pleural ó frote pleural Dolor pericárdico típico (dolor al recostarse que mejora al inclinarse hacia adelante) > 1 día</p>	<p>1. Anticuerpos antinucleares</p> <p>2. ANTIDNA de doble cadena</p> <p>3. ANTI SM</p> <p>4. ANTICUERPOS ANTIFOSFOLIPIDOS (cualquiera de) Anticoagulante lúpico VDRL falso positivo Anticardiolipinas (IgM, IgG o IgA) título medio o alto AntiB2 glicoproteína (IgA, IgM o IgG)</p> <p>5. COMPLEMENTO BAJO C3, C4 o CH50</p> <p>6. COOMBS DIRECTO POSITIVO En ausencia de anemia hemolítica</p>

<p>ó derrame pericárdico ó frote pericárdico ó pericarditis por EKG</p> <p>7. RENAL Proteína/creatinina en orina o orina de 24 horas representando > 500 mg de proteína/24 horas ó Cilindros hemáticos</p> <p>8. NEUROLÓGICO Convulsiones Psicosis Mononeuritis múltiple Mielitis Neuropatía craneal o periférica Estado confusional agudo</p> <p>9. ANEMIA HEMOLITICA</p> <p>10. LEUCOPENIA O LINFOPENIA Leucopenia <4000/mm³ al menos una vez en ausencia de otras causas como Felty, fármacos e hipertensión portal Linfopenia <1000 en alguna ocasión en ausencia de otras causas como esteroides, fármacos e infección</p> <p>11. TROMBOCITOPENIA</p>	
---	--



Hospital Central
"Dr. Ignacio Morones Prieto"



San Luis Potosí, S.L.P. a Jueves 18 de Septiembre de 2014.

Dr. Marco Ulises Martínez Martínez
Investigador Principal:

Por este conducto se le comunica que el Comité de Ética en Investigación y el Comité de Investigación de esta Institución, *revisaron y aprobaron* su protocolo de estudio clínico denominado:

"Correlación de la cuenta de acantocitos urinarios con el índice de actividad estimado en el biopsia renal de pacientes con nefritis lúpica proliferativa"

El número de registro es: **84- 14**, el cual deberá agregar a la documentación subsecuente, que presente a este comité.

De igual forma, pido sea tan amable de comunicarnos la fecha de inicio de su proyecto, la evolución y el informe final pertinente.

Atentamente,

Dr. Carlos Gilberto Alonso Rivera
Presidente
Comité de Ética en Investigación y Comité de Investigación
Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto"

Hospital Central
Dr. Ignacio Morones Prieto

18 SET. 2014

**COMITE DE ETICA
EN INVESTIGACION**
SAN LUIS POTOSI, S.L.P.

C.C.P. Archivo

"2014, Año de Octavio Paz"

ANEXO II. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.

Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”

Comité de Investigación y Ética.

Título: Correlación de la acantocituria con el índice de actividad estimado en la biopsia renal de pacientes con nefritis lúpica proliferativa.

San Luis Potosí, S.L.P. Fecha: _____

Está usted siendo invitado a participar en este estudio de investigación debido a que como su médico le ha explicado usted requiere de una biopsia renal para decidir el tratamiento que va seguir de su enfermedad.

Justificación y Objetivo del estudio:

El estudio al que usted está siendo invitado (a), pretende evaluar los cambios que existen en la orina con los hallazgos de la biopsia de su riñón.

Ventajas:

Las potenciales ventajas de este estudio es que de encontrarse relación de la orina con la biopsia, posteriormente la orina servirá de un marcador que pudiera sustituir la biopsia renal y en lo subsecuente no requerir de biopsia del riñón para decidir el tratamiento, será de utilidad para pacientes posteriores o incluso para usted no requerir otra biopsia en el futuro.

Potenciales riesgos y molestias

Este estudio no agregará ningún procedimiento invasivo a lo que se hace habitualmente en la biopsia de riñón, por lo que no le causará molestia extra a usted. Solo requerimos una muestra de orina la mañana del día de su biopsia con las características que el investigador le indicará.

Participación o retiro

En cualquier momento y sin necesidad de dar ninguna explicación, puede revocar el consentimiento que ahora presta.

Privacidad y confidencialidad: Se dará la debida confidencialidad con un código numérico en estos documentos, sin la publicación, identificación o divulgación de sus datos personales.

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a los investigadores:

Dr. Marco Ulises Martínez Martínez

Unidad Regional de Reumatología y Osteoporosis, Hospital Central “Dr. Ignacio Morones

Prieto", Carranza 2395, Colonia Universitaria, C.P. 78290, Tel 444 8 34 27 81.

Nombre y firma del paciente

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

TESTIGO 1

TESTIGO 2

Nombre, Dirección, Relación y Firma

Nombre, Dirección, Relación y Firma

ANEXO II.I CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PACIENTE PEDIATRICO.

Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto"

Comité de Investigación y Ética.

Título: Correlación de la acantocituria con el índice de actividad estimado en la biopsia renal de pacientes con nefritis lúpica proliferativa.

San Luis Potosí, S.L.P. Fecha: _____

Su hijo (a) está siendo invitado a participar en este estudio de investigación debido a que como su médico le ha explicado su hijo requiere de una biopsia renal para decidir el tratamiento que va seguir de su enfermedad.

Justificación y objetivo del estudio:

El estudio al que su hijo está siendo invitado (a), pretende evaluar los cambios que existen en la orina con los hallazgos de la biopsia de su riñón.

Ventajas:

Las potenciales ventajas de este estudio es que de encontrarse relación de la orina con la biopsia, posteriormente la orina servirá de un marcador que pudiera sustituir la biopsia renal y en lo subsecuente no requerir de biopsia del riñón para decidir el tratamiento, será de utilidad para pacientes posteriores o incluso para su hijo (a) para no requerir otra biopsia en el futuro.

Potenciales riesgos y molestias

Este estudio no agregará ningún procedimiento invasivo a lo que se hace habitualmente en la biopsia de riñón, por lo que no le causará molestia extra a su hijo (a). Solo requerimos una muestra de orina la mañana del día de su biopsia con las características que el investigador le indicará.

Participación o retiro

En cualquier momento y sin necesidad de dar ninguna explicación, puede revocar el consentimiento que ahora presta.

Privacidad y confidencialidad: Se dará la debida confidencialidad con un código numérico en estos documentos, sin la publicación, identificación o divulgación de sus datos personales.

Por medio de la presente acepto que mi hijo (a):

participe en el proyecto de investigación previamente mencionado.

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a los investigadores:

Dr. Marco Ulises Martínez Martínez.

Unidad Regional de Reumatología y Osteoporosis, Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”, Carranza 2395, Colonia Universitaria, C.P. 78290, Tel 444 8 34 27 81.

Nombre y firma del padre o tutor

Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

TESTIGO 1

TESTIGO 2

Nombre, Dirección, Relación y Firma

Nombre, Dirección, Relación y Firma

ANEXO III. PROCEDIMIENTO DE BIOPSIA RENAL.

Después de obtener consentimiento informado, se colocará una vía percutánea, el paciente se colocará en posición prona y se colocará una almohada bajo el abdomen. De preferencia será tomada de riñón derecho. El ultrasonografista localiza el polo inferior del riñón, el transductor se coloca en posición contralateral al sitio de punción. Se lava el sitio de la biopsia de la forma habitual, se anestesia con lidocaína al 1%. Se introduce la aguja especial y se toman dos a 3 biopsias. Una biopsia será enviada en formol y la otra en solución de Michel ® la cual preserva la inmunofluorescencia.

El paciente permanecerá en observación las siguientes 6 horas como mínimo. Evaluando la TA cada 15 minutos las primeras 2 horas y si las constantes vitales son normales se medirá cada hora las siguientes 4 horas.

ANEXO IV. CONTEO DE ERITROCITOS

Cuenta eritrocitaria total

Se centrifugarán 10 ml de orina en un tubo de centrifuga graduado a 2500 rpm durante 5 min. Se aspirará el sobrenadante con una pipeta Pasteur hasta dejar 1 ml del sedimento, se agregará 1 gota del colorante Sternheimer-Malbin, y con la pipeta Pasteur se homogeniza el sedimento con la tinción.

Se pondrá una gota en una cámara de Neubauer (cuentaglóbulos) y se efectuará el recuento de los eritrocitos. Se observará al microscopio con seco fuerte (40x). La precisión intraensayo es del 85-97% y la confiabilidad inter-ensayo es del 84-94%. (55–57)

Porcentaje de acantocitos:(58–61)

Se centrifugarán 10 ml de orina a 1500 rpm, se aspirará el sobrenadante y se diluirá con 9.5 ml de sl salina isotónica. Se colocará una gota en un portaobjetos cubriéndola con un cubreobjetos, se observará la preparación al microscopio de contraste de fase con el objetivo 40X, se contarán por lo menos 100 eritrocitos dos veces, identificándolos como eumórficos, dismórficos glomerulares (acantocitos) y dismórficos no glomerulares.(58–60)

Cuenta de acantocitos por ml:

Se multiplicará la cuenta total de eritrocitos (cuenta eritrocitaria total) por el porcentaje de eritrocitos dismórficos glomerulares (acantocitos) para así obtener la cuenta total de acantocitos.

Relación Proteínas/Creatinina:(62)

Se realiza en la misma muestra de orina que para examen general de orina y morfología eritrocitaria:

Determinación de la cuantificación de proteínas totales: método turbidimétrico de ácido salicílico.

Determinación de la cuantificación de creatinina: método cinético – Jaffe. Automatizado

CALCULO:

Indice Pr/Cr = Proteínas totales (mg/L) / Creatinina (mg/L) = X mg/g Cr

Valores de referencia: 0-200 mg/g Cr

ANEXO V. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Actividades	Agosto- Septiembre 2014	Octubre- Diciembre 2014	Enero – Septiembre 2015	Octubre – Diciembre 2015
Elaboración del protocolo de investigación	★★★★★			
Aprobación del Comité de Ética	★★★★★			
Obtención de la muestra		★★★★★	★★★★★	
Análisis de los resultados				★★★★★
Discusión y conclusiones				★★★★★
Entrega de tesis				★★★★★

ANEXO VI. RECOLECCION DE DATOS BIOPSIA RENAL Y ERITROCITOS DISMÓRFICOS

ID	nombre	paterno	materno	Evolución del lupus			
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>			
Sexo	procedencia	edad	fecha bx				
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>				
Clase de Nefritis lúpica	Actividad	Proliferación glomerular	Infiltrado PMN	cariorexis	medias lunas celulares	depósitos hialinos	Infiltrado intersticial
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
Cronicidad	Esclerosis glomerular	Medias lunas fibrosas	Atrofia tubular	Fibrosis intersticial	IgG	IgA	
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	
IgM	C3	C1q	fibrinógeno	kappa	lambda	Microangiopatía trombótica	vasculopatía lúpica
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
densidad urinaria	pH	proteínas EGO g/L	eritrocitos	leucocitos			
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>			
cr	tasa filt glom	mexsledai	CH50				
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>				
aDNA	acIg	acIm	ab2G	ab2M	afsG	afsM	
<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>	

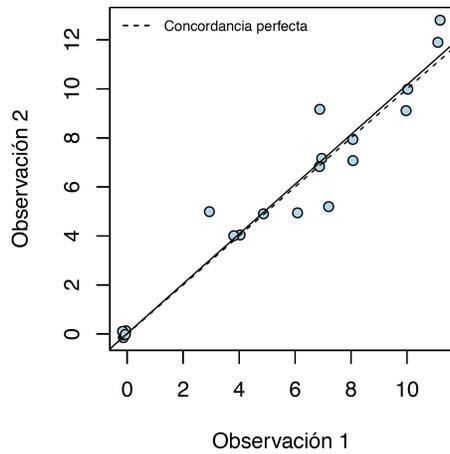
ANEXO VII. ANÁLISIS DE CONCORDANCIA

1. Patología. Actividad. Un patólogo examina cortes histológicos en tiempos diferentes, hace diagnóstico de índice de actividad (0-24)

Coefficiente de correlación intraclase: 0.97 (0.92 - 0.99), $p < 0.001$

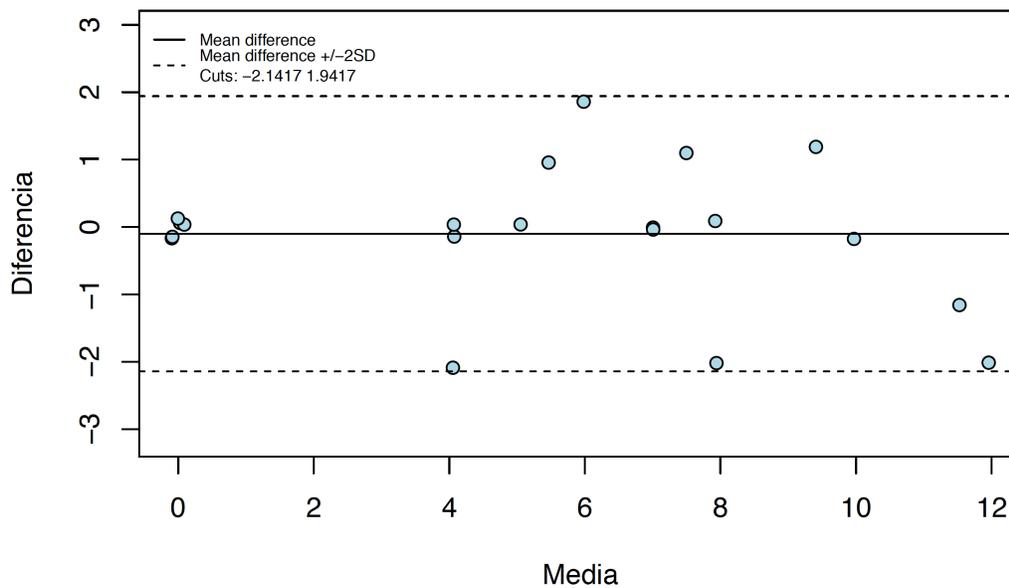
Coefficiente de correlación de Linn: 0.9666 (0.9191- 0.9864)

Concordancia Actividad



Análisis de Bland y Altman

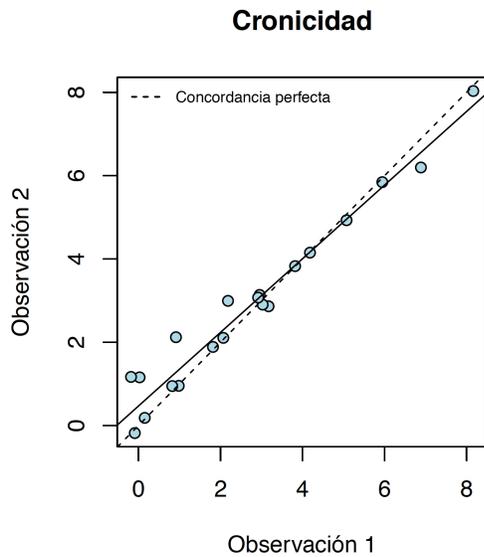
B & A Actividad



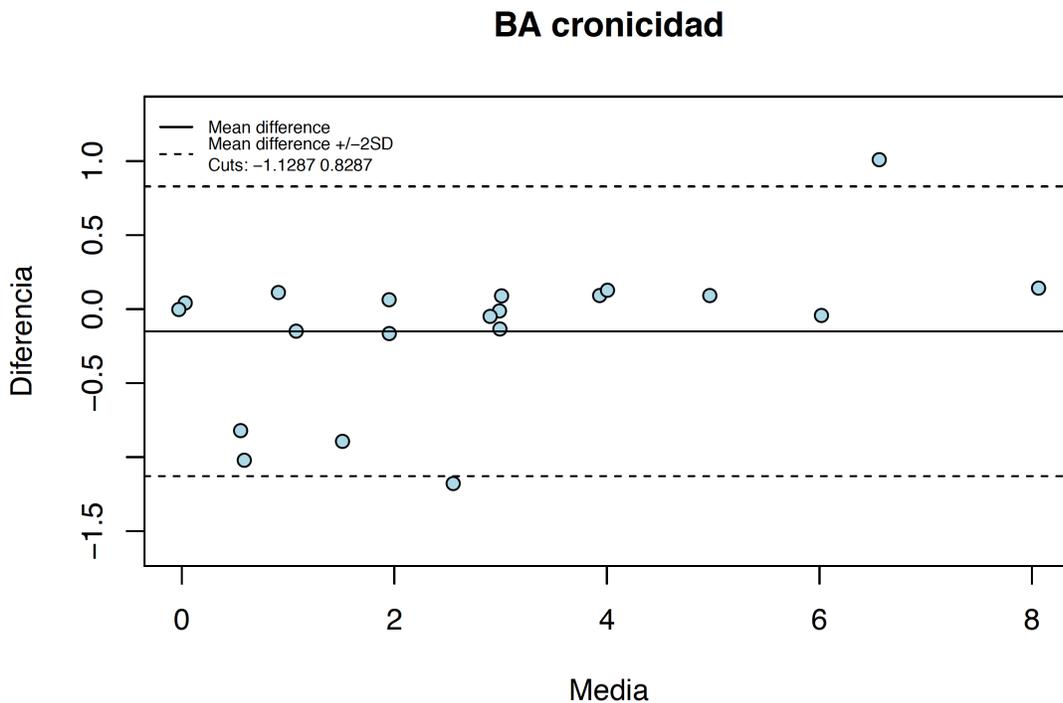
2. Patología. Cronicidad. (Índice de 0-12)

Coefficiente de correlación intraclase: 0.98 (0.94 - 0.99), $p < 0.001$

Coefficiente de correlación de Linn: 0.974 (0.942- 0.9884)



Análisis de Bland y Altman

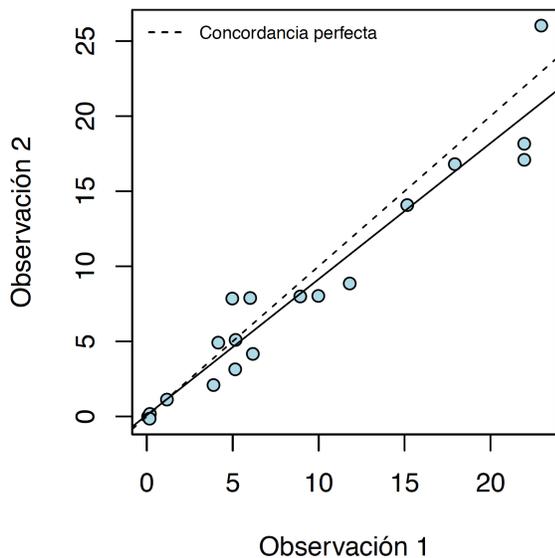


3. Eritrocitos dismórficos glomerulares, dos evaluadores observan 21 muestras, en diferentes tiempos con cantidades conocidas de acantocitos. Los clasifican como acantocitos o eritrocitos normales.

Coeficiente de correlación intraclase: 0.96 (0.90 - 0.98), $p < 0.001$

Coeficiente de correlación de Linn: 0.979 (0.9- 0.9826)

Acantocitos



BA Acantocitos

