





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ

FACULTAD DE MEDICINA

Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN PARA OBTENER EL DIPLOMA EN LA  
ESPECIALIDAD DE REUMATOLOGIA  
**MICROPARTÍCULAS EN SANGRE DE PACIENTES CON NEFRITIS LÚPICA**

**LUIS DANIEL HERNÁNDEZ LICONA**

DIRECTOR CLÍNICO  
**CARLOS ABUD MENDOZA**

DIRECTOR METODOLÓGICO  
**DAVID ALEJANDRO HERRERA VAN OOSTDAM**

© COPYRIGHT

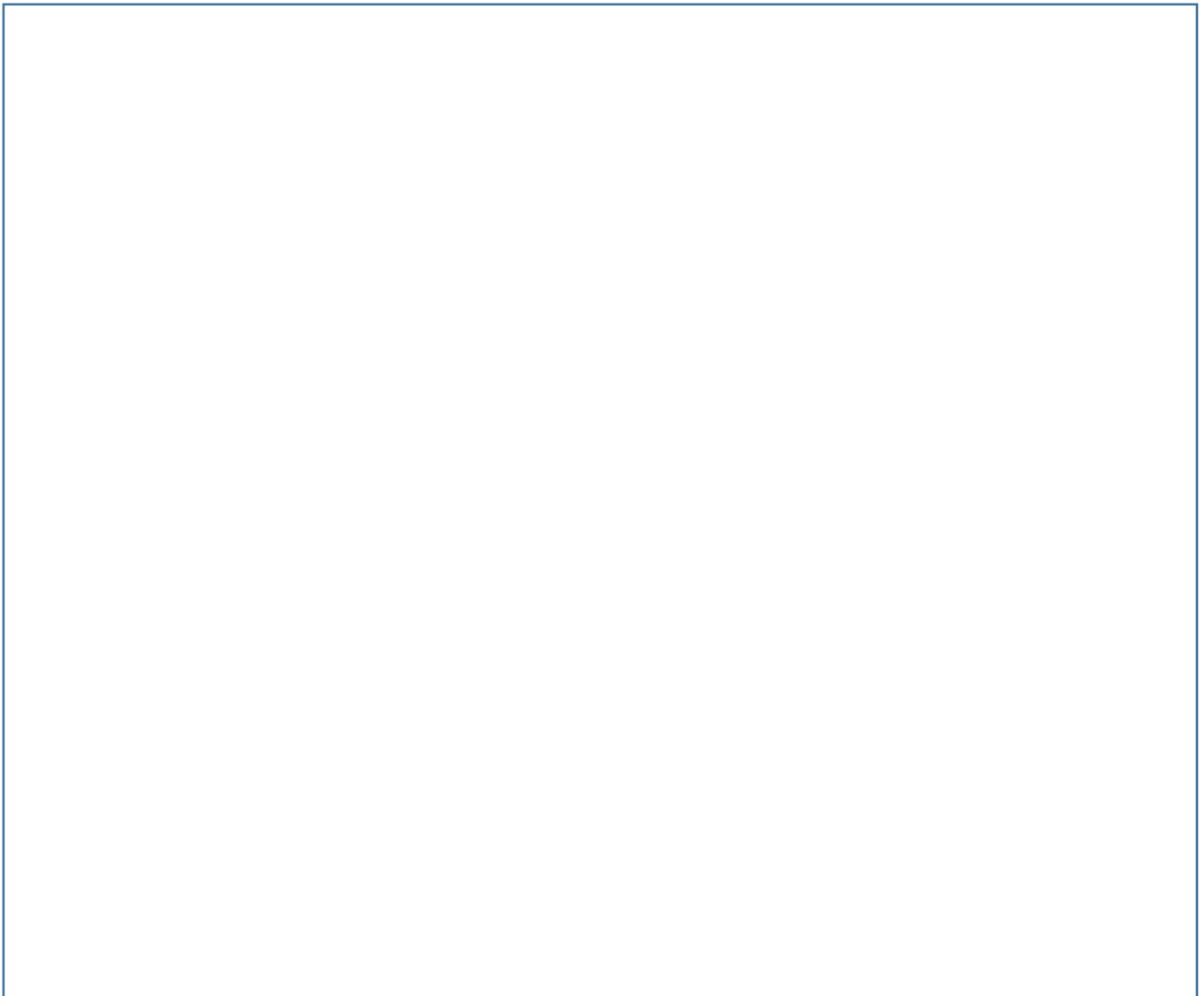
FEBRERO 2021



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SAN LUIS POTOSÍ  
FACULTAD DE MEDICINA  
ESPECIALIDAD EN REUMATOLOGIA

TÍTULO DE TESIS  
MICROPARTÍCULAS EN SANGRE DE PACIENTES CON NEFRITIS LÚPICA

PRESENTA  
LUIS DANIEL HERNÁNDEZ LICONA







## RESUMEN

**Objetivo:** Hay informes del potencial protagonismo de las micropartículas en sangre de pacientes con lupus eritematoso generalizado como biomarcador, aunque poco se conoce en nefritis lúpica. El objetivo del estudio fue determinar los niveles de micropartículas séricas en los pacientes con y sin nefritis lúpica.

**Sujetos y métodos:** Se realizó un estudio piloto, observacional, transversal y descriptivo. Se seleccionaron pacientes mediante muestreo no probabilístico, a conveniencia de la Unidad Regional de Reumatología y Osteoporosis en el Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto". Se determinaron micropartículas en suero y orina (CD3, CD14, CD19, CD41a, CD144); adicionalmente podocalixina en orina y se analizaron por subgrupos.

**Resultados:** Incluimos a 36 pacientes con lupus, 15 con nefritis y 21 sin afección renal. No se alcanzó significancia estadística para ninguna, sin embargo, hubo una tendencia para las micropartículas en orina CD41 (58ng/mmol vs 22.9ng/mmol,  $p=0.091$ ) y CD19 (75.8ng/mmol vs 38.3g/mmol,  $p=0.0709$ ) que se encuentran más elevadas en el grupo de nefritis.

**Conclusiones:** No se encontró diferencia estadística significativa para ninguna de las micropartículas evaluadas tanto en suero como en orina. Los resultados muestran que existe cierta tendencia de que las micropartículas plaquetarias pudieran tener utilidad clínica para diferenciar de los pacientes con y sin nefritis lúpica.



## **DEDICATORIAS**

A mis padres (Luis Javier Hernández Rodríguez y María San Juana Licona Gámez)  
por todo su esfuerzo.

A mi novia (Melissa Hernández Vega) por su apoyo incondicional.



## RECONOCIMIENTOS

A mis maestros y profesores adjuntos de la Unidad Regional de Reumatología y Osteoporosis, Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto" por todas las enseñanzas y críticas constructivas para ayudarme a ser mejor médico y persona.



## **AGRADECIMIENTOS**

A mis compañeros residentes de la Unidad Regional de Reumatología y Osteoporosis, Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto", quienes me apoyaron para localizar a los pacientes y en la toma de muestras de suero.

Al equipo de trabajo del laboratorio de inmunología, sobre todo Norma Alejandra Mendoza Pérez, Raquel Sánchez Gutiérrez y al Dr. González Amaro.



# ÍNDICE

<b>RESUMEN.....</b>	<b>I</b>
<b>DEDICATORIAS .....</b>	<b>II</b>
<b>RECONOCIMIENTOS.....</b>	<b>III</b>
<b>AGRADECIMIENTOS.....</b>	<b>IV</b>
<b>ANTECEDENTES. ....</b>	<b>2</b>
<b>JUSTIFICACIÓN. ....</b>	<b>1</b>
<b>HIPÓTESIS. ....</b>	<b>2</b>
<b>OBJETIVOS. ....</b>	<b>3</b>
<b>SUJETOS Y MÉTODOS.....</b>	<b>4</b>
<b>ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....</b>	<b>11</b>
<b>ÉTICA. ....</b>	<b>14</b>
<b>RESULTADOS. ....</b>	<b>15</b>
<b>DISCUSIÓN. ....</b>	<b>28</b>
<b>LIMITACIONES Y/O NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN. ....</b>	<b>31</b>
<b>CONCLUSIONES. ....</b>	<b>32</b>
<b>BIBLIOGRAFÍA. ....</b>	<b>33</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<i>¡Error! Marcador no definido.</i>

## **LISTA DE ABREVIATURAS Y SÍMBOLOS**

**MP:** Micropartículas

**LEG:** Lupus eritematoso generalizado

**NL:** Nefritis lúpica

**SLEDAI:** Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index

**TFG:** Tasa de filtrado glomerular

**RAC:** Relación albuminuria – creatinuria

**RIC:** Rango Inter cuartil

**Pts:** Pacientes

## ANTECEDENTES.

Las micropartículas (MP) son pequeñas vesículas unidas a la membrana que surgen de las células activadas (especialmente plaquetas) y moribundas y entran en la sangre para mostrar actividades proinflamatorias y protrombóticas. Los MP tienen un tamaño de 0.1-1.0  $\mu\text{m}$  y como reflejo de su origen celular, los MP contienen una amplia gama de moléculas de superficie, citoplasmáticas y nucleares que se incorporan a una estructura unida a la membrana cuando la partícula sale de la célula; Además, los MP pueden contener metabolitos de molécula pequeña (por ejemplo, taurina) presentes en el citoplasma celular. La superficie de las partículas también contiene moléculas de membrana de la célula de origen (por ejemplo, CD14 para macrófagos, CD61 y CD41 para plaquetas, y CD62E y CD144 para células endoteliales). (1)

Dentro de las propiedades biológicas de las MP se encuentran: 1) Tener naturaleza proinflamatoria y es consistente con la función de las MP como mega-DAMP que pueden promover la defensa del huésped, por un lado, o potenciar la autoinmunidad o inflamación, por el otro. Estas respuestas implican la activación de NF- $\kappa$ B y vías de señalización corriente abajo, como las proteínas quinasas activadas por mitógeno (MAP); 2) Inducción de citocinas y quimiocinas; 3) Expresión aumentada de moléculas de adhesión, sobre todo MP endoteliales (es decir, e-selectina, así como la molécula de adhesión intercelular-1), lo que puede conducir a la unión y activación de leucocitos y monocitos; 4) Las MP tienen un papel destacado en la hemostasia, lo que refleja su contenido de factor tisular; 5) Transferencia de información derivado de la presencia de ácidos nucleicos que sugiere la estimulación de las células mediante TLR y activación la respuesta inmune innata, así como inducción de nuevas respuestas genómicas en las células objetivos al transferir ARNm y miARN. (1)

Para medir la expresión de partículas, la citometría de flujo permite la determinación del número de partículas en función del tamaño, así como los marcadores de superficie que denotan la célula de origen. (1)

Los estudios en pacientes con una amplia gama de enfermedades reumáticas muestran un aumento en el número de MP en la sangre, con plaquetas y partículas endoteliales asociadas con manifestaciones vasculares. En enfermedades autoinmunes como el LEG y la AR, los MP también pueden contribuir a la patogénesis de la enfermedad mediante la formación de complejos inmunes. (1)

Es importante destacar que las MP de las células nucleadas contienen cromatina en una forma que puede reaccionar con el anti-ADN y otros anticuerpos antinucleosómicos para formar CI. Estos complejos pueden contribuir a la patogénesis del lupus al depositarse en el tejido, especialmente en el riñón, para inducir nefritis. Después de la absorción por las células dendríticas y fagocíticas, el ADN en estos complejos puede estimular la producción de citocinas mediante la interacción con TLR; un ejemplo de esto es la proteína de unión a galectina 3 (G3BP) y se ha demostrado que G3BP se localiza junto con complejos inmunes depositados en la nefritis lúpica. (2, 3)

El tratamiento actual de la NL es insuficiente; menos del 30% logran una remisión completa en 6 meses y 20% desarrollan enfermedad renal terminal en la primera década. Los datos clínicos y de laboratorio iniciales no predicen resultado renal incluida la proteinuria y los marcadores serológicos convencionales, en términos de función renal derivado del MAINTAIN Nefritis Trial, Euro-Lupus Nefritis Trial y análisis sus pos hoc. Varias investigaciones han demostrado una discordancia entre el resultado clínico e histológico; la mayoría de los estudios han demostrado que la actividad renal residual puede ser evidente en las biopsias repetidas de una proporción considerable de pacientes que han mostrado remisión completa (basado en proteinuria). (4)

En relación a los biomarcadores moleculares, las investigaciones incluyen evaluaciones de una sola molécula y exámenes de detección proteómica; los biomarcadores urinarios reciben un interés creciente por 2 razones: es probable que las moléculas en la orina se excreten directamente del riñón y las muestras de orina son fácilmente accesibles para su examen y la estandarización y comercialización de marcadores urinarios como herramientas diagnósticas y / o predictivas significaría, por lo tanto, un avance fundamental en el manejo de NL; ya que los

biomarcadores no invasivos utilizados actualmente carecen de suficiente sensibilidad y especificidad para detectar la inflamación renal activa. (4)

Hay informes del potencial protagonismo de MP en sangre de pacientes con lupus eritematoso generalizado (LEG), aunque poco se conoce de MP en nefritis lúpica (NL). Mobarrez y col optaron por medir MP en sangre de acuerdo a la expresión de fosfatidilserina (PS+/PS-) en pacientes con Lupus comparado con controles sanos. Si bien no encontraron relación de MP con actividad de la enfermedad, reportaron que la disminución de la función renal se asocia con números menores de micropartículas PS- y MP plaquetarias PS-. También observaron fuertes asociaciones positivas entre el número de MP plaquetarias que expresan CD40L y los niveles de Receptor de factor de necrosis tumoral (TNFR1 y / o TNFR2). La expresión de la superfamilia de receptores del factor de necrosis tumoral puede aumentar durante la inflamación y la apoptosis. Los TNFR también se han asociado con la actividad de la enfermedad en el LEG, en particular con la nefritis activa. (5)

En el 2020 se han publicado 2 estudios de potenciales biomarcadores para nefritis lúpica: Abdel-Rehim y col (6) investigaron el papel potencial de "IL-34" como un marcador temprano para NL silente en un estudio transversal, de casos y controles, de observación en Egipto; encontraron que cuanto mayor es el nivel sérico de IL-34, más activa es la enfermedad y los pts con antidsDNA positivos tenían niveles más altos de IL-34 en suero, sin embargo solo se analizó IL-34 sola sin compararlos con un amplio espectro de citocinas proinflamatorias; Mejia-Vilet y col (7) por su parte evaluaron de forma transversal y longitudinal 2 cohortes diferentes (una de ellas mexicana) "CD163", una proteína transmembrana que se expresa principalmente por macrófagos M2, los cuales se infiltran en los tejidos durante la "fase de curación" de la inflamación y observaron que CD163 urinario se asocia a gravedad clínica e histológica en nefritis lúpica y es probable que también diferencie entre las clases histológicas, por lo que podría apoyar a las decisiones terapéuticas, sin embargo no diferencia entre nefritis lúpica activa de otras enfermedades glomerulares inflamatorias.

Es de especial interés estudiar las micropartículas en plasma y orina: CD3, CD14, CD19, CD41a, CD144; adicionalmente podocalixina en orina.

El antígeno CD3 es un complejo de 5 cadenas polipeptídicas invariables,  $\gamma$ ,  $\delta$ ,  $\epsilon$ ,  $\zeta$  y  $\eta$ ; lo expresan los linfocitos T maduros y un subconjunto de timocitos. El CD3 forma parte de un complejo más grande que incluye el receptor de linfocitos T (RLT). El complejo CD3 asociado al RLT está implicado en el reconocimiento de péptidos unidos a la clase de histocompatibilidad mayor I y II durante la respuesta inmunitaria. La activación de los linfocitos T puede inducirse cuando se presenta un antígeno extraño al RLT. Un estudio del análisis del transcriptoma de las células T (CD3 +) de 14 pacientes con lupus eritematoso generalizado reveló un conjunto de genes (incluidos TNFRSF14 / HVEM, OAS2, MX1, C1orf86 / FAAP20, LINC00339 y FOS) asociados con nefritis lúpica. (9)

Se destaca el papel de los macrófagos en la inflamación y remodelación en modelos experimentales y en humanos con nefritis lúpica, se encuentran infiltrados de macrófagos renales residentes en el área peri glomerular y tubulointerstitial; macrófagos intrarrenales se activan de manera persistente. En nefritis crónica, hay infiltración intersticial por macrófagos que se asocia con daño tubular irreversible; en lupus murino el predominio es de macrófagos M1 y se asocian a enfermedad renal progresiva grave. La transferencia adoptiva de macrófagos M2 puede mejorar el lupus. (8) Los monocitos circulantes, los macrófagos inflamatorios y las células dendríticas (DC) surgen en la médula ósea de un progenitor mielóide común. Los monocitos de sangre periférica humana se pueden dividir fenotípicamente en tres subconjuntos CD14 + / CCR2 + / CD64 + (clásico), CD16 + / CX3CR1 + / CD14dim (patrullaje) y CD14 + / CD16 + (intermedio) con subconjuntos análogos en ratones definidos por CCR2 y CX3CR1 y alto, bajo y niveles intermedios de tinción Ly6C o Gr1. Los macrófagos renales en la enfermedad del lupus renal parecen originarse en parte de los monocitos Gr1lo de sangre periférica, que es el equivalente de las células CD16 + CX3CR1 + CD14dim humanas, también conocidas como monocitos "patrulleros". En el contexto de la lesión endotelial u otros estímulos inflamatorios, este subconjunto de monocitos se recluta para alimentar la inflamación y atraer otros tipos de células inmunes. (10)

La anormalidad de las células B desempeña un papel central en el desarrollo del LEG al contribuir a la sobreproducción de autoanticuerpos, citocinas y presentación

aumentada de autoantígenos a las células T. El compartimento de las células B está muy distorsionado en pacientes con LEG activo. Las células B transitorias y los plasmablastos aumentan considerablemente, mientras que las células B de memoria no conmutadas disminuyen en el LEG activo. Además, una población de células B de memoria atípicas (AtMs) que comparten fenotipos similares e identificados como CD19<sup>hi</sup> CD21<sup>lo</sup> CD27<sup>-</sup> IgD<sup>-</sup> se expanden en el LEG activo. Una mayor frecuencia de estos AtM se ha asociado con una alta actividad de la enfermedad y autoanticuerpos específicos de la enfermedad, como el anticuerpo anti-Smith (Sm), lo que sugiere que estas células están asociadas con el desarrollo de la enfermedad. En particular, se ha informado que una población ampliada de CD19<sup>hi</sup> AtMs en pacientes con LEG predice una respuesta clínica deficiente al tratamiento con Rituximab. (11)

El antígeno CD41 (GPIIb plaquetario; integrina IIb) es una glicoproteína transmembrana compuesta por dos cadenas GPIIb $\alpha$  (120 kDa) y GPIIb $\beta$  (23 kDa) unidas por un enlace disulfuro. El CD41 siempre se asocia de forma no covalente con CD61 (GPIIIa plaquetario, integrina  $\beta$ 3) para formar el complejo GPIIb-IIIa (CD41/CD61). El CD41 se expresa en plaquetas, megacariocitos y un pequeño subconjunto de células CD34<sup>+</sup>, lo que sugiere que CD41/CD61 es uno de los primeros marcadores del linaje megacariocito. Actúa como un receptor para el fibrinógeno, el factor von Willebrand (vWf), la fibronectina y la vitronectina, y media la adhesión y agregación plaquetaria. CD61 y CD41 son epítomos de la cadena de integrina alfa-IIb-beta-3 que está presente en las plaquetas, en micropartículas que surgen de la activación plaquetaria o en fragmentos de membrana que son detectables por IHC en tejidos fijados con formalina. Ambos marcadores proporcionan un método sensible para identificar agregados de plaquetas intravasculares. Se ha encontrado detección de CD41 + tanto en secciones glomerulares como extraglomerulares. Los trombos oclusivos recientes reaccionan con anti-CD41a y anti-CD61 y con anticuerpos anti-fibrina, mientras que los trombos oclusivos organizados reaccionan exclusivamente con anticuerpos anti-fibrina. (12) El CD144, también llamado cadherina 5, CDH5 o VE-cadherina es una proteína de 140 kDa perteneciente a la familia de las cadherinas de moléculas de adhesión

celular que interactúa de forma homofílica en la transmisión y formación de interacciones laterales en cis. La VE-cadherina es el componente principal de las uniones endoteliales adherentes y es específica de las células endoteliales. Está presente en todas las células endoteliales de todos los tipos de vasos. Se encuentra en los lugares de hendidura intercelular de la unión dentro del tejido endotelial. El CD144 no puede encontrarse en ningún otro tipo de célula. Se ha documentado la degradación de VE-cadherina (CD144) en nefritis lúpica. Un exceso de NET excede la capacidad fagocítica de las células endoteliales para NET y promueve la fuga vascular y la transición endotelial a mesenquimal a través de la degradación de VE-cadherina y la posterior activación de la señalización de  $\beta$ -catenina. En este contexto, los neutrófilos activados circulantes y la formación excesiva de NET se han asociado con inflamación de la pared de los vasos y placas ateroscleróticas en pacientes con LEG, independientemente del efecto de los factores de riesgo cardiovascular tradicionales. (13)

El principal antígeno de superficie de los podocitos es la podocalixina, una sialoglicoproteína altamente negativa situado en la parte apical de los procesos del pie podocítico e impide que el podocito se colapse debido a su alta carga negativa y la ausencia de esta proteína se ha informado tener efecto perjudicial sobre la filtración glomerular. En un estudio previo transversal realizado en 32 pacientes en el Cairo, Egipto, se consideró una asociación negativa significativa entre la puntuación de la podocalixina en inmunohistoquímica con la clase de nefritis lúpica y los parámetros de actividad del NIH (National Institutes of Health), como la infiltración leucocitaria, la proliferación endocapilar, la necrosis fibrinoide, los drepanocitos y el índice de actividad de la enfermedad, pero no el índice de cronicidad. (14)





## **JUSTIFICACIÓN.**

Aún existen muchos objetivos por alcanzar hablando de nefritis lúpica, así como tratamiento y pronóstico; el considerar las micropartículas en nefritis lúpica puede ser útil como biomarcador y en el diseño de nuevos tratamientos, así como factores pronósticos en estos pacientes.

Se realizó una búsqueda en la base de datos de PubMed y clinicaltrials.gov con los criterios “microparticles” y “lupus nephritis” obteniendo solo 13 resultados.

El interés por contestar la pregunta de investigación puede ser amplio en el campo de la reumatología. Se cuenta con apoyo financiero por parte del centro de reumatología. Debido a que existen múltiples biomarcadores con pobre rendimiento diagnóstico la búsqueda de otro biomarcador por medio de micropartículas es deseable. Hasta el momento no hay estudios que se hayan encontrado la asociación de micropartículas séricas y nefritis lúpica. Podríamos tener una perspectiva no solo un biomarcador diagnóstico, sino un biomarcador terapéutico y/o pronóstico. El tiempo de diagnóstico para nefritis lúpica pudiera ser menor comparado con la biopsia.



## **HIPÓTESIS.**

Los niveles de micropartículas séricas en pacientes con nefritis lúpicas son diferentes comparado con pacientes sin nefritis.

Muestra: Pacientes con nefritis lúpica  
Predictor: micropartículas

Objetivo: Existe diferencia



## **OBJETIVOS.**

Objetivo general:

“Determinar los niveles de micropartículas séricas en los pacientes con y sin nefritis lúpica”

Objetivos específicos:

“Determinar los niveles séricos de micropartículas en pacientes con LEG sin nefritis.”

“Determinar los niveles séricos de micropartículas en pacientes con nefritis lúpica.”

“Comparar los niveles entre los grupos. “

“Determinar micropartículas en orina de pacientes con y sin nefritis lúpica”

“Determinar si hay asociación entre el grado o la severidad de nefritis con el nivel de micropartículas séricas o en orina”

“Determinar si existe asociación entre SLEDAI con el nivel de micropartículas séricas o en orina”

“Determinar si hay asociación histológica con el nivel de micropartículas séricas o en orina”

## SUJETOS Y MÉTODOS.

Diseño del estudio: Estudio observacional, transversal, descriptivo y analítico de pacientes con lupus eritematoso generalizado; Se compararán pacientes con nefritis lúpica y sin nefritis lúpica.

Lugar de realización: La Unidad Regional de Reumatología y Osteoporosis, Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto".

Universo del estudio: Pacientes con diagnóstico de lupus eritematoso generalizado.

Criterios de selección:

- Criterios de inclusión:
  - Demográficos:
    - Ambos géneros.
    - Edad mayor de 16 años.
  - Características clínicas:
    - Cumplir con los criterios de clasificación del 2019 para Lupus eritematoso sistémico: European League Against Rheumatism and American College of Rheumatology classification o cumplir con los criterios *SLICC* (The Systemic Lupus International Collaborating Clinics) del 2012.
    - En el grupo de nefritis lúpica no restricción por el tipo de clase
    - Consentimiento Informado escrito firmado.
  - Características geográficas:

- Pacientes que pertenezcan a la Unidad Regional de *Reumatología y Osteoporosis, Hospital Central "Dr. Ignacio Morones Prieto"* en San Luis Potosí.
  - Características temporales:
    - Pacientes que acudan a consulta en el año 2017-2020.
- Criterios de exclusión:
  - Enfermedad renal no relacionada con LEG (p. Ej., Diabetes mellitus, otra enfermedad glomerular o tubulointersticial, enfermedad renovascular) o riñón trasplantado.
  - Otras enfermedades autoinmunes que no sean lupus: Artritis Reumatoide, Enfermedad inflamatoria intestinal.
  - Mujeres embarazadas o en periodo de lactancia.
  - Infección activa por VHB, infección por VHC, tuberculosis pulmonar, infección por VIH.
  - Abuso de alcohol: definido como el consumo que supera un volumen diario determinado (p. ej., tres bebidas al día) o una cantidad concreta por ocasión (p. ej., cinco bebidas en una ocasión, al menos una vez a la semana).
  - Uso de drogas ilegales o sustancias psicoactivas.
- Criterios de eliminación:
  - Expediente o registro de historia clínica incompleto.
  - Menos de 10 glomérulos en la biopsia renal.

Variables del estudio:

Variables de Control (confusoras)				
Variable	Definición operacional	Valores posibles	Unidades	Tipo de variable

Micropartículas	<p>Pequeñas vesículas unidas a la membrana que surgen de las células activadas y moribundas y entran en la sangre para mostrar actividades proinflamatorias y protrombóticas. Miden de 0.1-1.0 <math>\mu\text{m}</math>. Contienen una amplia gama de moléculas de superficie, citoplasmáticas y nucleares.</p>	0-infinito	ng/mmol	Continua
-----------------	---	------------	---------	----------

--	--	--	--	--

Creatinina	Producto de desecho del metabolismo normal de los músculos. Su elevación puede indicar deterioro de la tasa de filtración glomerular.	0-20	Mg/dl	Continua
Proteinuria	>0.5gr en 24 hrs o relación prot/crea > 0.5 o 3+ en tira reactiva	Positivo o negativo		Dicotómica
Anti dsDNA	Anticuerpos específicos de Lupus; Los niveles pueden traducir actividad de la enfermedad.	0-500	IU/mL	Continua
Niveles de C3, C4	Componentes del sistema de complemento. Los niveles disminuidos pueden traducir	0-200	Mg/dl	Continua

	actividad de la enfermedad.			
Sedimento urinario activo (15)	>5 eritrocitos por campo, > 5 leucocitos por campo en ausencia de infección o cilindros celulares limitado a eritrocitos o leucocitos.	Positivo o negativo		Dicotómica

Actividad de la enfermedad leve-Moderada	SLEDAI > 4.	Positivo o negativo		Dicotómica
Actividad de la enfermedad severa	SLEDAI > 13.	Positivo o negativo		dicotómica



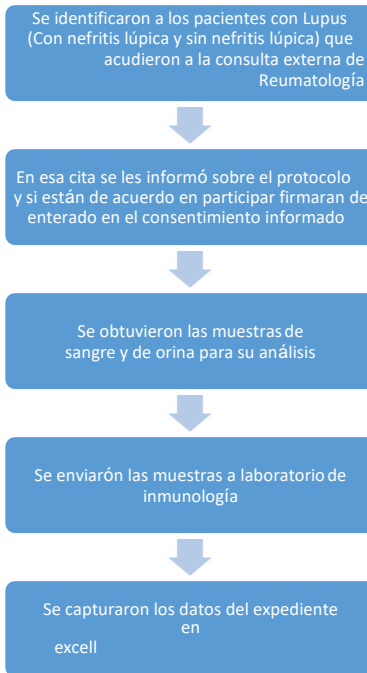
índice de Actividad	parámetro histopatológico de biopsia renal. Traduce inflamación en glomérulo.	0-24		Continua
índice de Cronicidad	parámetro histopatológico de biopsia renal. Traduce cicatrización en glomérulo.	0-12		Continua
Clase histológica renal de nefritis lúpica	Definidas por la International Society of Nephrology (ISN) y la Renal Pathology Society (RPS).	I: mesangial mínima II: proliferativa mesangial III: focal IV: difusa V: membranosa VI: esclerosante e Mixtas		Nominal
Edad	Tiempo transcurrido desde el nacimiento de un ser vivo hasta un	0 en adelante	Años	Continua

	momento concreto.			
Sexo	Conjunto de Características	Hombre y Mujer		Dicotómica
	biológicas, físicas, fisiológicas y anatómicas que definen a los seres humanos como hombre y mujer.			
Tiempo de evolución	Tiempo transcurrido entre el diagnóstico de Lupus o Nefritis lúpica hasta la fecha.	0 en adelante	Años	Continua
Uso de FARME				

(Metotrexato, Micofenolato de Mofetilo, Tacrolimus, Lefluonomida Hidroxicloroquina, Azatioprina, sulfasalazina)	En los últimos 3 meses previos a la toma de micropartículas	Si o No		Dicotómica
Uso de glucocorticoides	En los últimos 3 meses previos a la toma de micropartículas	Si o No		Dicotómica
Uso de biológico (Rituximab/Belimumab, inhibidores de TNF, abatacept, inhibidores JAK)	En los últimos 3 meses previos a la toma de micropartículas	Si o No		dicotómica

Muestreo: No probabilístico, a conveniencia. (Los primeros pacientes que lleguen con LEG-nefritis lúpica y LEG-sin nefritis lúpica que cumplan con los criterios de inclusión).

Plan de trabajo: Se determinaron mediante citometría de flujo micropartículas en plasma y orina: CD3, CD14, CD19, CD41a, CD144; adicionalmente podocalixina en orina y se analizaron por subgrupos.





## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

Cálculo del tamaño de la muestra: Al ser un estudio piloto se requirieron de 10 a 30 participantes, de acuerdo los estudios de Viechtbauer y Browne. (16, 17)

Se utilizó estadística descriptiva para características demográficas y variables categóricas. Para la comparación de variables categóricas, se utilizó la prueba exacta de Fisher o la prueba de chi-cuadrado, y las variables continuas se compararon utilizando la prueba de Mann-Whitney o la prueba t, según corresponda.



## **ÉTICA.**

Aspectos éticos: investigación con riesgo mínimo.

El protocolo fue evaluado el día 30 de septiembre del 2020 por el comité de investigación, con Registro en COFEPRIS 17 CI 24 028 093, así como por el Comité de Ética en Investigación del Hospital Central “Dr. Ignacio Morones Prieto”, con Registro CONBIOETICA-24-CEI-001-20160427 y fue dictaminado como APROBADO.

El número de registro es 32-20. Recibió la autorización del Comité de Ética en Investigación de la Unidad Médica Receptora de Residentes correspondiente.

## RESULTADOS.

### Características basales.

Incluimos a 36 pacientes con lupus, 15 con nefritis y 21 sin afección renal.

En el grupo de nefritis, 7 (46.6%) pacientes obtuvimos la muestra de micropartículas al momento de la biopsia renal. En el grupo sin afección renal 4 (19.04%) de ellos se obtuvieron muestras de micropartículas al momento del diagnóstico. La mediana de edad de los pacientes fue de 34.2 años en el grupo de nefritis y 37.7 años para el grupo sin nefritis. Solo hubo un paciente del género masculino para cada grupo (6.7 y 4.8% respectivamente).

La mediana del tiempo de evolución de lupus en el grupo de nefritis fue de 7 (RIC:7.5) y la mediana de años de nefritis lúpica fue de 4 (RIC: 2.5).

Las clases histológicas (*ISN/RPS*) de los pacientes se distribuyeron de la siguiente manera: Clase IV: 5 pacientes (33.3%), Clase V: 6 pacientes (40%), Clase III: 0 pacientes, Clase Mixta III/V: 1 paciente (6.6%), Clase Mixta IV/V: 3 pacientes (20%).

No se pudo realizar un análisis estadístico del índice de actividad y cronicidad por falta de datos. **Tabla 1**

### *Actividad de la enfermedad y parámetros de función renal.*

La actividad de la enfermedad medida por SLEDAI fue de 10 (RIC: 7.0) para el grupo de nefritis y de 6 (RIC:5.0) para el grupo sin nefritis (P=0.0423). **Tabla 2**

Se clasificaron en remisión (SLEDAI <4) a 2 (13.3%) pacientes con nefritis y a 5 (23.8%) pacientes sin nefritis. Se clasificó con actividad severa (SLEDAI > 12) a 2 (13.3%) pacientes con nefritis solamente.

La mediana de creatinina en el grupo de nefritis fue de 1.0 (RIC: 0.635) y la mediana de TFG fue de 90 (RIC: 41). La relación albuminuria-creatinuria estuvo disponible solo en 10 pacientes (66.6%) y con una mediana en estos pacientes de 1980.5mg/gr (RIC: 2561). **Tabla 2**

#### *Manifestaciones clínicas.*

Ningún paciente presentó convulsiones, psicosis, síndrome orgánico cerebral, trastorno visual, trastorno de pares craneales, evento cerebrovascular, vasculitis, miositis o pericarditis.

Con respecto a las manifestaciones hematológicas, la trombocitopenia fue más frecuente en el grupo sin nefritis (23.8% vs 0%,  $p=0.04$ ).

Como era esperado las manifestaciones renales como proteinuria, piruria y hematuria se presentaron exclusivamente en el grupo con nefritis lúpica.

No hubo diferencia estadística con úlceras orales, erupción cutánea, pleuresía, leucopenia, fiebre, cefalea, artritis o alopecia.

En todos los pacientes con nefritis se valoró la proteinuria por tira reactiva y se distribuyeron de la siguiente manera: Valor de <30: 4 pacientes (26.6%), Valor de 100-200: 5 pacientes (33.3%), Valor de >300: 6 pacientes (40%). **Tabla 3**

#### *Serología.*



Todos los pacientes con anticuerpos antinucleares por IFI positivos. No se encontraron datos suficientes en el expediente para realizar análisis sobre complemento y anti-dsDNA.

### *Tratamiento.*

Encontramos diferencia significativa en el tratamiento recibido entre ambos grupos, en los cuales una mayor proporción de pacientes sin nefritis se trataron con prednisona a dosis bajas (85.7 vs 53.3%,  $P=0.032$ ), metotrexato (71.4% vs 6.7%,  $p=0.00011$ ) y azatioprina (23.8% vs 0%,  $p=0.041$ ).

El grupo con nefritis recibieron con mayor frecuencia tacrolimus (46.7 vs 0%,  $p=0.0004$ ), micofenolato Mofetilo (80 vs 4.8%,  $p < 0.0001$ ) y una tendencia a utilizar dosis altas de prednisona (26.7 vs 4.8,  $p=0.06$ ).

No hubo diferencia estadística con el uso de hidroxicloroquina (73.3 y 85.7%), prednisona dosis moderada (13.3 vs 4.8%) o ciclofosfamida (6.7 vs 0%). Solo 2 (13.3%) pacientes recibieron algún biológico (Rituximab) en el grupo de nefritis.

### **Tabla 3**

### *Micropartículas*

En el grupo de nefritis, se obtuvieron muestras de suero y orina para el análisis de micropartículas en 13/15 (86.6%) pacientes. En el grupo sin nefritis, se obtuvieron muestras de suero para el análisis de micropartículas en 17/21 pacientes (80.9%) y muestras de orina en 19/21 (90.47%).

No observamos alguna diferencia significancia entre los grupos, sin embargo, hubo una tendencia de CD41 urinario (58ng/mmol vs 22.9ng/mmol,  $p=0.091$ ) y CD19 (75.8ng/mmol vs 38.3g/mmol,  $p=0.07$ ) a estar más elevadas en pacientes con nefritis; y en menor consideración podocalixina en orina (77.1ng/mmol [RIC: 25.7] vs 54.5ng/mmol [RIC: 25.6],  $p=0.192$ ) y CD144 en orina (73.4ng/mmol [RIC: 25.7] vs 57.6ng/mmol [RIC: 27.85],  $p=0.1467$ ). **Tabla 4, Figura 2A-D**

En un subanálisis de los pacientes con nefritis lúpica, se compararon los pacientes que tenían proteinuria en rango nefrótico (6/15 pacientes) con los que no tenían rango nefrótico al momento de la medición de micropartículas (9/15 pacientes); nuevamente, no se alcanzó significancia estadística para ninguna, sin embargo, la tendencia se marcó para CD41 sérico (61.5ng/mmol vs 7.8ng/mmol,  $p=0.065$ ).

**Tabla 5, Figura 3B**

Clase de Nefritis lúpica (ISN/RP): Numero de pacientes					
	III	IV	V	Mixta III/V	Mixta IV/V
<b>Grupo Nefritis</b>	0	5	6	1	3

Cuadro 1. Clase de nefritis lúpica

Variable continua	Nefritis lúpica	Sin nefritis	Valor de p
<b>Años de Lupus, mediana (RIC)</b>	7 (7.5)	4 (5)	0.47
<b>Tasa de filtrado glomerular, mediana (RIC)</b>	90 (41)	120 (15)	0.00006169
<b>SLEDAI, mediana (RIC)</b>	10 (7)	6 (5)	0.0423
<b>Creatinina, mediana (RIC)</b>	1 (0.635)	0.62 (0.18)	0.009704
<b>Edad, mediana (RIC)</b>	29 (22)	39 (14)	
<b>Años de nefritis lúpica, mediana (RIC)</b>	4 (2.5)		
<b>Albuminuria-creatinuria, mediana (RIC)</b>	1980.5 (2561)		

Tabla 2. Actividad de la enfermedad y parámetros de función renal

Variable categórica	Nefritis lúpica	Pts Sin nefritis	Valor de p
<b>Masculino, n (%)</b>	1 (6.7)	1 (4.8)	0.8
<b>Ulceras, n (%)</b>	5 (33.3)	9 (42.9)	0.56
<b>Complemento bajo, n (%)</b>	1 (6.7)	0 (0)	0.23
<b>Trombocitopenia, n (%)</b>	0 (0)	5 (23.8)	0.04
<b>Rash, n (%)</b>	3 (20)	9 (42.9)	0.15
<b>Proteinuria 0-30, n (%)</b>	4 (26.6%)	0 (0)	0.004
<b>Proteinuria 100-200, n (%)</b>	5 (33.3%)	0 (0)	0.001
<b>Proteinuria &gt; 300, n (%)</b>	6 (40%)	0 (0)	0.0004
<b>Pleuresía, n (%)</b>	1 (6.7)	0 (0)	0.23
<b>Piuria, n (%)</b>	3 (20)	0 (0)	0.032
<b>Leucopenia, n (%)</b>	1 (6.7)	4 (19)	0.28
<b>Hematuria, n (%)</b>	5 (33.3)	0 (0)	0.0043
<b>Fiebre, n (%)</b>	1 (6.7)	4 (19)	0.28
<b>Cefalea, n (%)</b>	1 (6.7)	0 (0)	0.23
<b>Artritis, n (%)</b>	8 (53.3)	14 (66.7)	0.41
<b>Alopecia, n (%)</b>	5 (33.3)	10 (47.6)	0.39

<b>Prednisona dosis moderada, n (%)</b>	2 (13.3)	1 (4.8)	0.359
<b>Prednisona dosis baja, n (%)</b>	8 (53.3)	18 (85.7)	0.032
<b>Prednisona dosis alta, n (%)</b>	4 (26.7)	1 (4.8)	0.06
<b>Tacrolimus, n (%)</b>	7 (46.7)	0 (0)	0.0004
<b>Rituximab, n (%)</b>	2 (13.3)	0 (0)	0.08
<b>Metotrexato, n (%)</b>	1 (6.7)	15 (71.4)	0.00011
<b>Mofetil de micofenolato, n (%)</b>	12 (80)	1 (4.8)	0.0000035
<b>Hidroxicloroquina, n (%)</b>	11 (73.3)	18 (85.7)	0.35
<b>Ciclofosfamida, n (%)</b>	1 (6.7)	0 (0)	0.23
<b>Azatioprina, n (%)</b>	0 (0)	5 (23.8)	0.041

Tabla 3. Manifestaciones clínicas y tratamiento

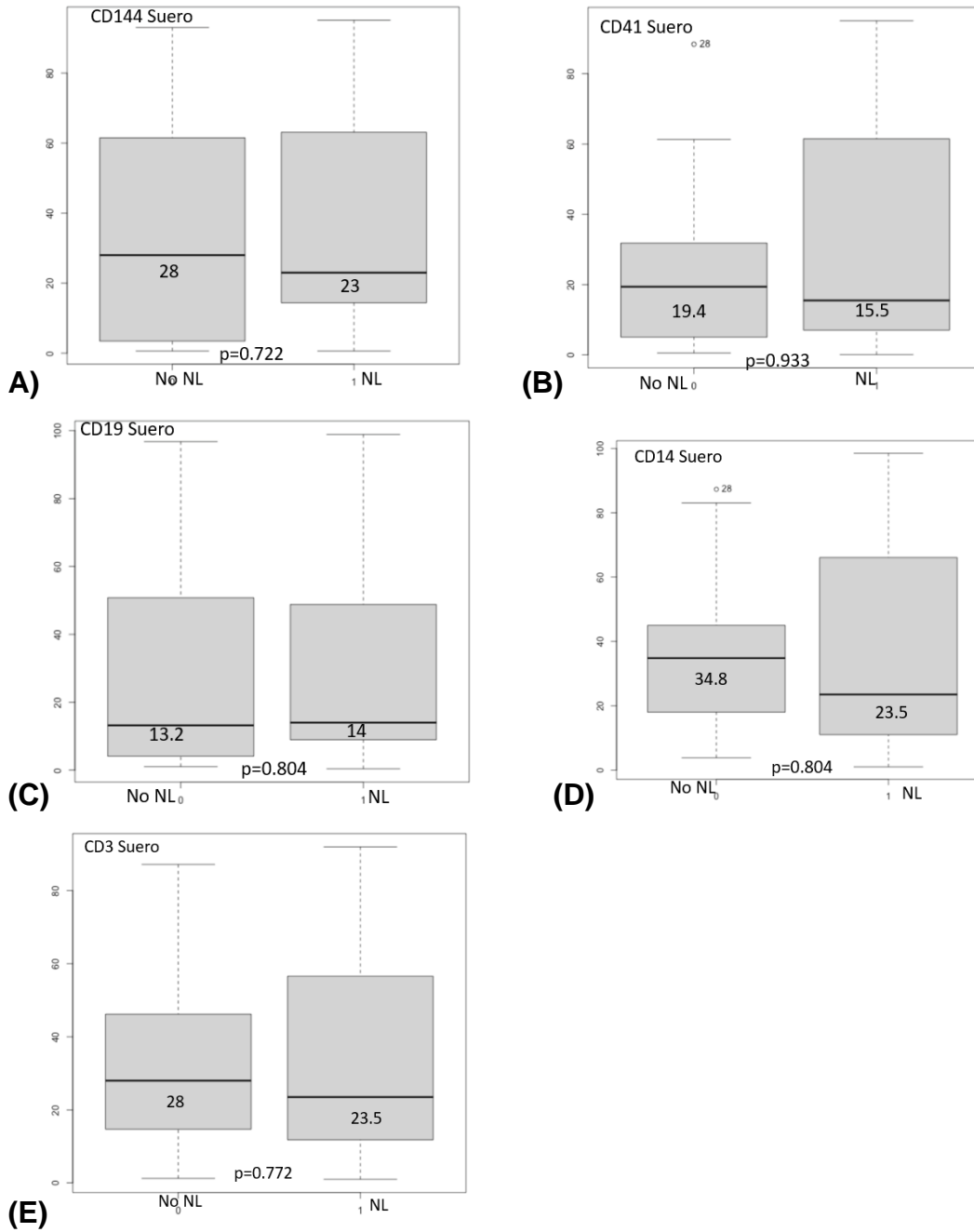
Variable	Nefritis lúpica	Sin nefritis	Valor de p
<b>Podocalixina (RIC)</b>	77.1 (25.7)	54.5 (25.6)	0.192
<b>CD144 Suero (RIC)</b>	23 (48.7)	28 (58.04)	0.722
<b>CD144 Orina (RIC)</b>	73.4 (25.7)	57.6 (27.85)	0.1467
<b>CD41 Suero (RIC)</b>	15.5 (54.47)	19.4 (26.75)	0.933
<b>CD41 Orina (RIC)</b>	58 (54.9)	22.9 (31.95)	0.091
<b>CD19 Suero (RIC)</b>	14 (39.84)	13.2 (46.7)	0.804
<b>CD19 Orina (RIC)</b>	75.8 (60.7)	38.3 (25.15)	0.0709
<b>CD14 Suero (RIC)</b>	23.5 (55.1)	34.8 (27)	0.804
<b>CD14 Orina (RIC)</b>	76.2 (43.8)	57.1 (21.3)	0.223
<b>CD3 Suero (RIC)</b>	23.5 (44.8)	28 (31.5)	0.772
<b>CD3 orina (RIC)</b>	53.5 (34.2)	49.5 (22.9)	0.4428

Tabla 4. Micropartículas en suero y orina.

Variable	Nefrótico	Sin nefrótico	Valor de p
<b>Podocalixina (RIC)</b>	73.3 (23.3)	58 (95.6)	0.7308
<b>CD144 Suero (RIC)</b>	16.6 (94.5)	24.8 (86.7)	0.9433
<b>CD144 Orina (RIC)</b>	64.9 (81.9)	81.6 (61.8)	0.1807
<b>CD41 Suero (RIC)</b>	61.5 (87.2)	7.8 (61.6)	0.06527
<b>CD41 Orina (RIC)</b>	53.7 (78.4)	73.2 (90.1)	0.6282
<b>CD19 Suero (RIC)</b>	27.8 (94.9)	13.8 (82.7)	0.6216
<b>CD19 Orina (RIC)</b>	70.8 (73.8)	76.9 (82.3)	0.5338
<b>CD14 Suero (RIC)</b>	48.9 (92.7)	21.6 (83.1)	0.5237
<b>CD14 Orina (RIC)</b>	66.3 (68.9)	84 (63.5)	0.366
<b>CD3 Suero (RIC)</b>	53.9 (82.9)	19 (80)	0.3543
<b>CD3 orina (RIC)</b>	58.2 (45.5)	53.5 (68.7)	0.6678

Tabla 5. Niveles de micropartículas en suero y orina de pacientes con NL; comparación de proteinuria en rango nefrótico vs no nefrótico.

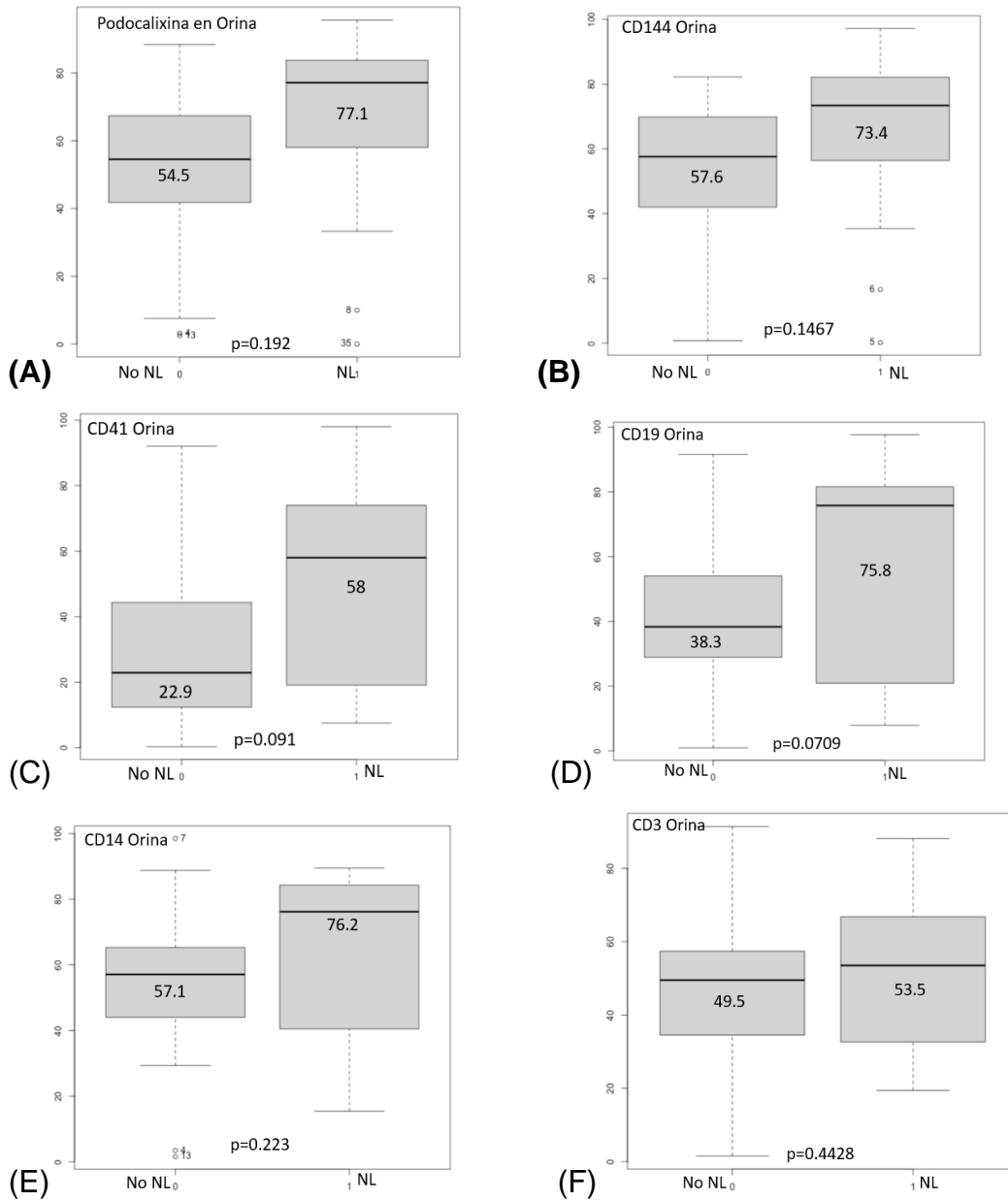
**Figura 1. Gráficas (Niveles de Micropartículas en suero).**



NL = nefritis lúpica. No NL: No nefritis lúpica



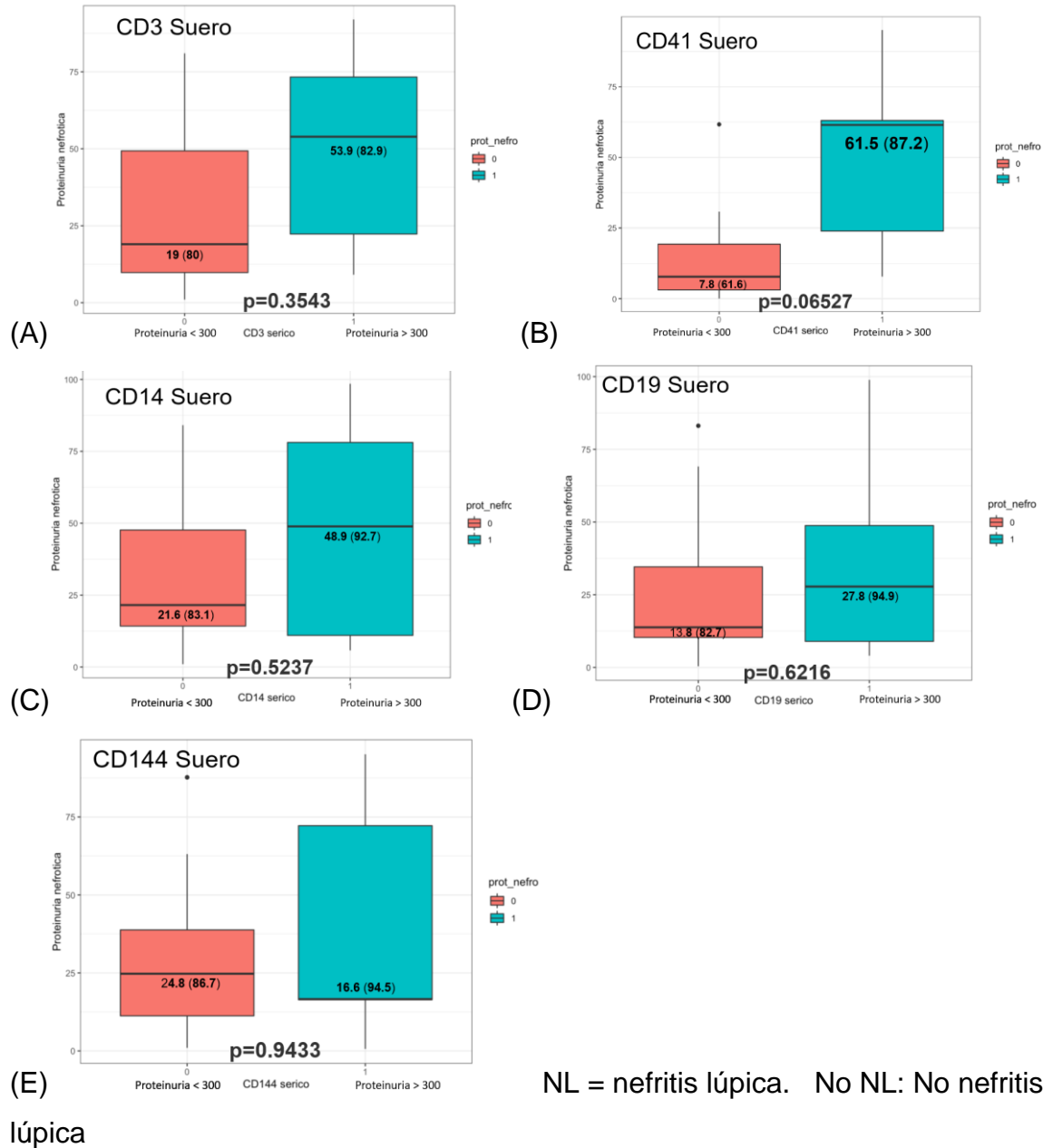
**Figura 2: Gráficas (Niveles de Micropartículas en orina).**



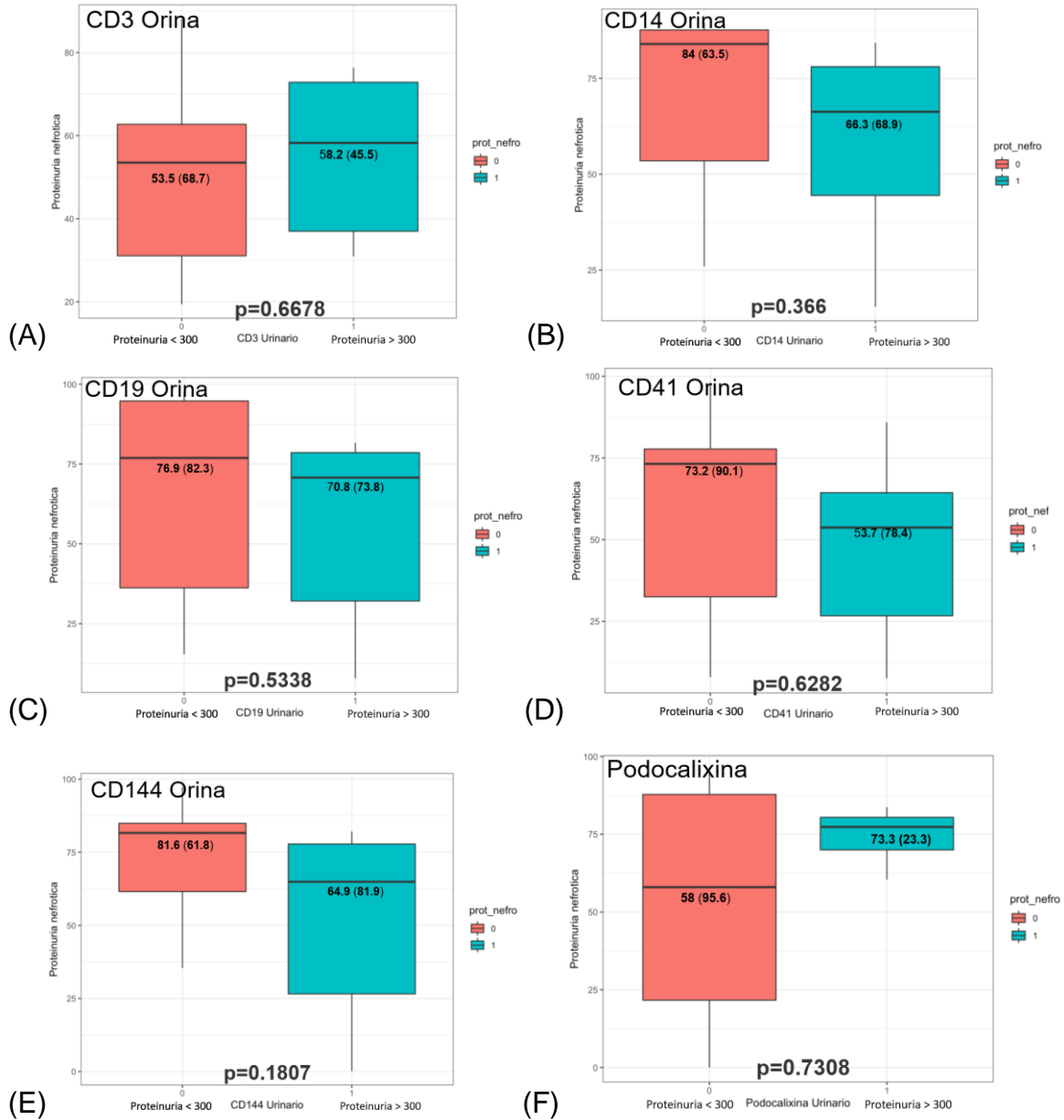
NL = nefritis lúpica.

No NL: No nefritis lúpica

**Figura 3. Gráfica (Niveles de micropartículas en suero de pacientes con NL; comparación de proteinuria en rango nefrótico vs no nefrótico)**



**Figura 4. Gráfica (Niveles de micropartículas en orina de pacientes con NL; comparación de proteinuria en rango nefrótico vs no nefrótico)**



NL = nefritis lúpica. No NL: No nefritis lúpica

## DISCUSIÓN.

Al ser un estudio piloto, el objetivo general se cumplió y se analizaron MPs en pacientes con y sin nefritis lúpica. No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre las diferentes MPs de los pacientes con y sin nefritis lúpica por lo que la hipótesis principal del estudio no se comprobó, esto posiblemente derivado del pequeño tamaño de la muestra y del momento específico en el que se midieron las MPs (no en todos los pacientes se midieron al momento del diagnóstico o biopsia renal) sin embargo, en nuestros resultados, si se reconoce una tendencia y un potencial papel como biomarcador de nefritis lúpica a las MPs plaquetarias (CD41). Las plaquetas liberan MPs en respuesta a la estimulación fisiológica por trombina o colágeno, mediadores infecciosos (como virus o lipopolisacáridos), apoptosis, complejos inmunes o el complejo de ataque de membrana del complemento C5b-9. Las MPs pueden participar en diversas actividades, incluida la coagulación, la función vascular, la proliferación celular, la inflamación y la comunicación intercelular. Aunque las micropartículas de varios linajes celulares están presentes en la circulación, las derivadas de las plaquetas, que están marcadas por la expresión superficial de CD41 (integrina  $\alpha 2b$  o GPIIb), son las más abundantes. (18) En relación con las MPs plaquetarias (CD41) en suero, es difícil hacer comparaciones directas con estudios previos, por la diferentes metodologías y poblaciones específicas de cada uno; en nuestros resultados no encontramos diferencia significativa entre los pacientes con o sin nefritis. De la misma forma, Nielsen y col, tuvieron el interés de caracterizar MPs plaquetarias en suero de sujetos sanos y pacientes con LEG y encontraron niveles más bajos de MPs

derivadas de plaquetas, de leucocitos y de células endoteliales en pacientes con LEG vs sujetos sanos; cabe destacar que hubo diferencias en la población con LEG, solo el 17% tenía afección renal y la actividad de la enfermedad media medida por SLEDAI fue menor (6), adicionalmente, hubo diferencias en la medición de MPs ya que utilizaron anexina V por su capacidad de unión a fosfatidilserina o anticuerpos dirigidos a marcadores de membrana y no midieron directamente CD41 o MPs en orina. (19)

Por el contrario, Fortin y col, parecen haber encontrado utilidad de las MPs plaquetarias (CD41) en suero, en un estudio en el que participaron 191 mujeres con LEG y destacaron una correlación positiva entre SLEDAI-2K y CD41 que contiene IgG (formando complejos inmunes) con/sin fosfatidilserina, sin embargo, hubo diferencias en la población que estudiaron con nuestro estudio, la edad media de los pacientes con LEG fue mayor (48.6 años), incluyeron pacientes con hipertensión (30%) y diabetes (3%), la actividad de la enfermedad media medida por SLEDAI fue de menor (2.0) y una mayor duración de la enfermedad (16 años); de igual forma no midieron MPs en orina. (20)

Uno de los objetivos secundarios del estudio era determinar la asociación entre las micropartículas con el SLEDAI, clase histológica o la severidad de la nefritis; se realizó un subanálisis de los pacientes con nefritis lúpica que tenían proteinuria en rango nefrótico contra los que no tenían rango nefrótico al momento de la medición de micropartículas y se encontró una tendencia de las micropartículas plaquetarias (CD41) en suero a encontrarse en valores más altos en el rango nefrótico, sin embargo con un RIC amplio por tratarse de una muestra pequeña; esto concuerda con el análisis realizado por Fortin y col sobre la utilidad de CD41 en suero como marcador de actividad, aunque no especifican en su estudio el porcentaje de

pacientes incluidos con nefritis lúpica o el nivel de proteinuria que tenían los pacientes. (20)

Por su parte, Mobarrez y col emparejaron 280 pacientes con LEG con controles sanos y midieron MPs en suero por citometría de flujo; Observaron que las MP plaquetarias que contienen CD40L y sobre todo C4d que pueden llegar elevarse hasta 10 veces más en LEG comparado con los controles. No realizaron mediciones de MPs en orina o CD41. (5)

Recientemente, Mejia-Villet y col encontraron hallazgos prometedores en relación con CD163u, una micropartícula proveniente de linaje monocítico/macrofágico y observaron que se asocia a gravedad clínica e histológica, con cierta utilidad para identificar la actividad de NL, sin embargo, no diferencia entre NL activa y otras enfermedades glomerulares inflamatorias; no midieron otras MPs. Por nuestra parte, analizamos CD14 del linaje monocítico/macrofágico sin encontrar diferencia estadísticamente significativa. (7)

En relación a CD19, solo se observó una tendencia a presentar valores más elevados en pacientes con nefritis comparados con aquellos sin nefritis, al medir MPs en orina y, a diferencia de lo que uno pudiera esperar sobre este biomarcador en LEG, los ensayos clínicos hasta el momento no respaldan su uso; Dieker y col exploraron el rol de las MPs sobre la netosis concluyendo que tanto CD3 como CD19 fueron negativos para las micropartículas apoptóticas en LEG, siendo principalmente originadas por células endoteliales (CD31); este hallazgo fue a nivel sérico y no midieron MPs en orina. (21)

Los estudios de micropartículas en enfermedades autoinmunes se limitan generalmente a la medición de una solo biomarcador, ya sea en suero u orina, y no



siempre hacen la comparación entre subpoblaciones específicas; Siendo este el primer estudio que evalúa de forma simultánea micropartículas de diversos tipos celulares (endoteliales [CD144], plaquetarias [CD41], linfocitos B [CD19], monocitos/macrófagos [CD14], linfocitos T [CD3], podocitos [podocalixina]) en suero y en orina en el contexto de lupus eritematoso generalizado con y sin nefritis lúpica, lo que representa el verdadero valor de este estudio.

Se espera que nuestros resultados sean el heraldo de un ensayo más amplio y con menos limitaciones que confirmen nuestros hallazgos, con el objetivo de identificar un potencial biomarcador en nefritis lúpica.

## **LIMITACIONES Y/O NUEVAS PERSPECTIVAS DE INVESTIGACIÓN.**

Se trata de un estudio piloto, por lo que contó con un pequeño número de pacientes, que no permite hacer inferencias sobre subpoblaciones específicas. Únicamente se realizó la medición de micropartículas de forma transversal, en un centro único y no en todos se obtuvieron muestras al momento del diagnóstico o al momento de la biopsia renal. No se emparejaron los pacientes contra un grupo control o contra otra enfermedad autoinmune, y algunos datos como estudios inmunológicos o datos histológicos específicos no se encontraban en el expediente.



## **CONCLUSIONES.**

No se encontró diferencia estadísticamente significativa para ninguna de las MPs evaluadas tanto en suero como en orina. Sin embargo, los resultados muestran que existe cierta tendencia a que las MPs plaquetarias (CD41) pudieran tener utilidad clínica; ya que su medición en orina pudiese distinguir entre pacientes con y sin nefritis lúpica, y su medición en suero de pacientes con nefritis lúpica podría discernir entre aquellos con y sin rango nefrótico.



## BIBLIOGRAFÍA.

- 1) Pisetsky, D. S., Ullal, A. J., Gauley, J., & Ning, T. C. Microparticles as mediators and biomarkers of rheumatic disease. *Rheumatology*, (2012).51(10), 1737–1746. doi:10.1093/rheumatology/kes028
- 2) Pisetsky D<sup>1</sup> The role of microparticles in the pathogenesis of SLE: a new look at an old paradigm. *Lupus Sci Med*. 2017 Oct 6;4(1):e000220. doi: 10.1136/lupus-2017-000220.
- 3) Nielsen CT, Østergaard O, Rekvig OP, et al. Galectin-3 binding protein links circulating microparticles with Electron dense glomerular deposits in lupus nephritis. *Lupus* 2015; 24:1150–60.
- 4) Parodis I1,2, Tamirou F3,4, Houssiau FA3,4. Prediction of prognosis and renal outcome in lupus nephritis. *Lupus Sci Med*. 2020 Feb 18;7(1):e000389. doi: 10.1136/lupus-2020-000389.
- 5) Mobarrez F<sup>1</sup>, Vikerfors A<sup>1</sup>, Gustafsson JT<sup>1</sup>, Gunnarsson I<sup>1</sup>, Zickert A<sup>1</sup>, Larsson A<sup>2</sup>. Microparticles in the blood of patients with systemic lupus erythematosus (SLE): 25;6:36025. doi: 10.1038/srep36025.
- 6) Abdel-Rehim, A. S., Mohamed, N. A., & Shakweer, M. M. Interleukin-34 as a marker for subclinical proliferative lupus nephritis. Departamento de Medicina Interna, Alergia e Inmunología Clínica, Facultad de Medicina, Universidad Ain Shams, El Cairo, Egipto. *Lupus* 2020; 0(0): 1–10. <https://doi.org/10.1177/0961203320914976>
- 7) Mejia-Vilet, J. M., Zhang, X. L., Cruz, C., Cano-Verduzco, M. L., Shapiro, J. P., Nagaraja, H. N. Urinary Soluble CD163: a Novel Noninvasive Biomarker of Activity

for Lupus Nephritis. *Journal of the American Society of Nephrology* (2020), ASN.2019121285. doi:10.1681/asn.2019121285

8) Frangou E, Georgakis S, Bertias G, Update on the cellular and molecular aspects of lupus nephritis. *Clin Immunol.* 2020; 216:108445. doi:10.1016/j.clim.2020.108445.

9) Bradley SJ, Suarez-Fueyo A, Moss DR, Kyttaris VC, Tsokos GC. T Cell Transcriptomes Describe Patient Subtypes in Systemic Lupus Erythematosus. *PLoS One.* 2015;10(11):e0141171. Published 2015 Nov 6. doi:10.1371/journal.pone.0141171.

10) Maria NI, Davidson A. Renal Macrophages and Dendritic Cells in SLE Nephritis. *Curr Rheumatol Rep.* 2017;19(12):81. doi:10.1007/s11926-017-0708-y

11) Wu C, Fu Q, Guo Q, et al. Lupus-associated atypical memory B cells are mTORC1-hyperactivated and functionally dysregulated. *Ann Rheum Dis.* 2019;78(8):1090-1100. doi:10.1136/annrheumdis-2019-215039.

12) Galindo-Izquierdo M., Gonzalo-Gil E., Toldos O., Pablos-Álvarez J.L. Biomarkers of Renal Microthrombosis in Lupus Nephritis. En: Patel VB, Preedy VR. *Biomarkers in Kidney Disease.* 1st ed. London: Springer; 2016. p 811-829

13) Pieterse E, Rother N, Garsen M, et al. Neutrophil Extracellular Traps Drive Endothelial-to-Mesenchymal Transition. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2017;37(7):1371-1379. doi:10.1161/ATVBAHA.117.309002.

14) Behairy MA, Shakweer MM, El Said TW, ElGharbawy NH. Value of immunohistochemical expression of podocalyxin in active lupus nephritis. *Nefrologia.* 2018;38(1):64-72. doi:10.1016/j.nefro.2017.06.008

15) Hahn BH, McMahon MA, Wilkinson A, et al. American College of Rheumatology guidelines for screening, treatment, and management of lupus nephritis. *Arthritis Care Res (Hoboken).* 2012;64(6):797-808. doi:10.1002/acr.21664

- 16) Viechtbauer W, Smits L, Kotz D, et al. A simple formula for the calculation of sample size in pilot studies. *J Clin Epidemiol.* 2015;68(11):1375-1379. doi:10.1016/j.jclinepi.2015.04.014
- 17) Browne, R.H. On the use of a pilot sample for sample size determination. *Statist. Med* (1995), 14: 1933-1940. doi:10.1002/sim.4780141709
- 18) Linge P, Fortin PR, Lood C, Bengtsson AA, Boilard E. The non-haemostatic role of platelets in systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Rheumatol.* 2018 Mar 21;14(4):195-213. doi: 10.1038/nrrheum.2018.38.
- 19) Nielsen CT, Østergaard O, Johnsen C, Jacobsen S, Heegaard NH. Distinct features of circulating microparticles and their relationship to clinical manifestations in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2011 Oct;63(10):3067-77. doi: 10.1002/art.30499.
- 20) Fortin PR, Cloutier N, Bissonnette V, Aghdassi E, Eder L, Simonyan D. Distinct Subtypes of Microparticle-containing Immune Complexes Are Associated with Disease Activity, Damage, and Carotid Intima-media Thickness in Systemic Lupus Erythematosus. *J Rheumatol.* 2016 Nov;43(11):2019-2025. doi: 10.3899/jrheum.160050.
- 21) Dieker J, Tel J, Pieterse E, Thielen A, Rother N, Bakker M. Circulating Apoptotic Microparticles in Systemic Lupus Erythematosus Patients Drive the Activation of Dendritic Cell Subsets and Prime Neutrophils for NETosis. *Arthritis Rheumatol.* 2016 Feb;68(2):462-72. doi: 10.1002/art.39417.



Universidad Autónoma de San Luis Potosí  
Facultad de Medicina  
Tesis para obtener el Diploma de la Especialidad en Reumatología