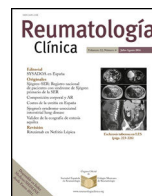




Sociedad Española
de Reumatología -
Colegio Mexicano
de Reumatología

Reumatología Clínica

www.reumatologiaclinica.org



Original

Transferrina y ceruloplasmina en orina de pacientes con lupus eritematoso sistémico. ¿Son útiles para diferenciar pacientes con nefritis lúpica?

Tomás Urrego^a, Blanca Ortiz-Reyes^a, Adriana L. Vanegas-García^{b,c}, Carlos H. Muñoz^{b,c}, Luis A. González^b, Gloria Vásquez^{a,b} y José A. Gómez-Puerta^{a,d,*}

^a Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

^b Grupo de Reumatología, Facultad de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia

^c Hospital Universitario San Vicente Fundación, Medellín, Colombia

^d Servicio de Reumatología, Hospital Clínic, Barcelona, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 22 de septiembre de 2017

Aceptado el 8 de febrero de 2018

On-line el xxx

Palabras clave:

Transferrina
Ceruloplasmina
Nefritis
Biomarcadores
Lupus eritematoso sistémico

R E S U M E N

Antecedentes y objetivo: El diagnóstico de la nefritis lúpica (NL) se suele hacer con la biopsia renal, que es una técnica invasiva que conlleva múltiples riesgos. Por lo tanto, han surgido diferentes biomarcadores en orina como posibles alternativas para el diagnóstico de la NL. Sin embargo, los estudios de biomarcadores en orina de pacientes latinoamericanos con lupus eritematoso sistémico (LES) son escasos; por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar el valor diagnóstico de la transferrina (TF) y la ceruloplasmina (CP) en orina, para diferenciar los pacientes que tienen compromiso renal de aquellos que no.

Materiales y métodos: Se incluyeron prospectivamente pacientes con diagnóstico de LES de acuerdo a los criterios del *American College of Rheumatology* (ACR). Se excluyeron los pacientes con otra enfermedad autoinmune concomitante, infección activa (de vías urinarias o sistémica), terapia de reemplazo renal, infección por virus de la inmunodeficiencia humana y embarazo. A cada paciente se le tomó una muestra de orina. El diagnóstico de NL se realizó mediante los criterios ACR para la definición de NL. La actividad y la cronicidad de la NL en la biopsia renal fueron medidas con el índice de Austin. La determinación de los niveles de TF y CP se realizó con kits comerciales de ELISA. Se utilizó la prueba t de Student y la prueba U de Mann Whitney para comparar los datos. Para determinar las asociaciones entre las variables se utilizaron los coeficientes de correlación de Spearman. Por último, se construyeron curvas ROC.

Resultados: Se incluyeron 120 pacientes con LES, de los cuales el 85% fueron de sexo femenino. El 76% fueron de raza mestiza. Presentaron una edad media de $32,8 \pm 12,1$ años, y una media del SLEDAI de $8,4 \pm 8,9$, y un 64% presentaron compromiso renal. Los niveles de ambos biomarcadores fueron significativamente mayores en pacientes con NL comparados con aquellos sin NL. De igual manera, los niveles de ambos biomarcadores fueron significativamente mayores en pacientes con NL activa comparados con aquellos con NL inactiva. Los niveles de TF fueron significativamente mayores en pacientes afro-latinoamericanos. Por otro lado, las concentraciones de TF se correlacionaron con el SLEDAI y el rango de proteinuria, y las concentraciones de TF y CP se correlacionaron entre sí. Las curvas ROC para ambos biomarcadores mostraron un buen valor diagnóstico de la NL.

Conclusiones: En nuestra cohorte de pacientes con LES encontramos que la TF y la CP son potenciales biomarcadores para el diagnóstico de la NL e, incluso, de la actividad de la NL.

© 2018 Elsevier España, S.L.U. y

Sociedad Española de Reumatología y Colegio Mexicano de Reumatología. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jgomezpuerta@mail.harvard.edu (J.A. Gómez-Puerta).

<https://doi.org/10.1016/j.reuma.2018.02.002>

1699-258X/© 2018 Elsevier España, S.L.U. y Sociedad Española de Reumatología y Colegio Mexicano de Reumatología. Todos los derechos reservados.

Utility of urinary transferrin and ceruloplasmin in patients with systemic lupus erythematosus for differentiating patients with lupus nephritis

A B S T R A C T

Keywords:

Transferrin
Ceruloplasmin
Nephritis
Biomarkers
Systemic lupus erythematosus

Background and objective: Diagnosis of lupus nephritis (LN) is usually based on renal biopsy, which is an invasive technique that involves multiple risks. Therefore, different biomarkers have emerged as alternatives for the diagnosis of LN. Nonetheless, studies regarding urinary biomarkers in Latin American patients are limited. The objective of this study was to assess the diagnostic value of urinary transferrin and ceruloplasmin to differentiate patients who have renal involvement from those who do not.

Materials and methods: Systemic lupus erythematosus (SLE) patients that met the revised American College of Rheumatology (ACR) classification criteria were recruited. Patients with another autoimmune disease, active infection (urinary tract or systemic infection), renal replacement therapy, human immunodeficiency virus infection or pregnancy were excluded. A urine sample was collected from each patient. LN was diagnosed according to ACR criteria. The activity and chronicity of LN were measured using the Austin indices. Urinary transferrin and ceruloplasmin levels were measured using commercial enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kits. Mann-Whitney U test and Student's t-test were used to compare data. Spearman's rank correlation was used to determine associations. Lastly, receiver operating characteristic (ROC) curves were created.

Results: The study involved 120 SLE patients. In all, 85% were female, 76% mestizo, the mean age was 32.8 ± 12.1 years and mean systemic lupus erythematosus disease activity index (SLEDAI) was 8.4 ± 8.9 ; 64% had renal involvement. Urinary levels of the two biomarkers were significantly higher in patients with LN compared to those without LN. Similarly, urinary levels of both biomarkers were significantly higher in patients with active LN compared to those with inactive LN. Furthermore, urinary transferrin levels were significantly higher in Afro-Latin American patients. On the other hand, urinary transferrin levels correlated with SLEDAI and proteinuria, and transferrin and ceruloplasmin levels correlated with each other. The diagnostic value of ROC curves for these urinary biomarkers for LN were good.

Conclusions: In our cohort of SLE patients, we found that transferrin and ceruloplasmin were potential biomarkers for LN, and can even differentiate active LN.

© 2018 Elsevier España, S.L.U. and Sociedad Española de Reumatología y Colegio Mexicano de Reumatología. All rights reserved.

Introducción

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad crónica de carácter autoinmune que compromete múltiples órganos. Aunque puede afectar a ambos sexos, hay una gran incidencia en el sexo femenino, especialmente mujeres en edad reproductiva, con una relación de 9 mujeres por cada hombre que padece la enfermedad¹. Entre los compromisos de órgano está el riñón, siendo documentada la nefritis lúpica (NL) hasta en un 50% de los pacientes, y difiere en gravedad y agresividad de acuerdo a la raza, puesto que los pacientes de raza hispánica o afroamericana tienen mayores tasas de enfermedad renal crónica terminal^{1,2}. Actualmente, la técnica de referencia para el diagnóstico de la NL es la biopsia renal y el subsecuente análisis histopatológico de la muestra³. Sin embargo, es un método invasivo no exento de riesgos. Por lo tanto, en la última década se han estado investigando múltiples biomarcadores en sangre y orina como candidatos para el diagnóstico de una manera no invasiva de la NL, y a su vez, para diferenciar la actividad de la misma. Entre dichos posibles biomarcadores de diagnóstico y/o actividad de la NL se encuentran la transferrina (TF) y la ceruloplasmina (CP)⁴.

La TF es una proteína miembro de la superfamilia de transferrina: en promedio pesa 76-81 kDa, puede unirse a dos átomos de hierro férrico y tiene gran importancia regulando múltiples procesos, puesto que la mayoría de hierro que circula libremente hacia los tejidos para suplir las necesidades del mismo lo hace unido a la TF, siendo la porción de hierro más dinámica que hay en el organismo, ya que se ajusta a las necesidades tisulares; dicho ajuste se debe a que su captación es mediada por receptores, especialmente

el receptor de TF 1 (TfR1)⁵. La TF, además, es filtrada en el glomérulo y posteriormente es recaptada por el TfR1, que está expresado en la membrana apical de las células del túbulo proximal, distal y colector, representando un mecanismo por el cual las células tubulares puedan obtener el hierro necesario para su metabolismo⁶.

Por otro lado, la CP es una proteína de 122 kDa que porta la gran mayoría de cobre circulante; tiene una función de oxidasa de hierro, y dicha función está directamente relacionada con la TF, ya que la CP se encarga de oxidar hierro ferroso a hierro férrico para que este pueda unirse posteriormente a la TF⁷. En el LES se ha evidenciado que los niveles de moléculas asociadas al metabolismo del hierro, como la ferritina, pueden estar incrementados, debido a que esta puede ser inducida por citoquinas proinflamatorias como IL-6, TNF- α e IL-1 α ⁸.

Como ya se mencionó anteriormente, es necesario hallar alternativas diagnósticas a la biopsia renal, por los riesgos que la misma conlleva. De otro lado, los estudios de biomarcadores en orina en pacientes latinoamericanos con LES son escasos⁹.

El posible papel de las concentraciones urinarias de TF y la CP como biomarcadores de actividad de la NL ha sido documentado anteriormente por Suzuki et al.¹⁰, reportando niveles significativamente mayores de TF y CP en pacientes con mayor actividad renal.

Por lo anterior, nos planteamos medir las concentraciones de TF y CP en muestras de orina en población colombiana con LES con el fin de analizar las correlaciones entre dichos biomarcadores y las medidas de actividad de la enfermedad y determinar el valor discriminativo de dichos biomarcadores en la NL.

Materiales y métodos

Pacientes

Se incluyeron de manera prospectiva 120 pacientes con diagnóstico de LES según los criterios del *American College of Rheumatology* (ACR) (1982/1997)¹¹ en el Hospital Universitario San Vicente Fundación, entre marzo de 2015 y marzo de 2016. Se excluyeron los pacientes con otra enfermedad autoinmune concomitante, infección activa (de vías urinarias o sistémica), terapia de reemplazo renal, infección por virus de la inmunodeficiencia humana y embarazo. Todos los pacientes otorgaron consentimiento informado previamente a la toma de la muestra, y esta investigación fue aprobada por el comité de bioética del Hospital Universitario San Vicente Fundación.

La actividad de la enfermedad fue medida con el puntaje *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index* (SLEDAI); de igual manera, la actividad a nivel renal fue medida con el SLEDAI renal, y el daño ocasionado por la enfermedad fue medido por el índice de daño ACR (SLICC). El diagnóstico de la NL se realizó mediante los criterios ACR para la definición de NL. El SLEDAI renal fue medido a través de los siguientes criterios: presencia de cilindros en el sedimento urinario, hematuria (>5 hematíes/CAP), piuria (>5 leucocitos/CAP), y una proteinuria >0,5 en 24 h de reciente inicio, o un incremento de la proteinuria >0,5 g en 24 h. La enfermedad activa fue definida como SLEDAI global ≥ 4 . La NL inactiva clínicamente fue definida por la presencia de los siguientes criterios: proteinuria de 24 h ≤ 500 mg/dl, sedimento urinario inactivo (<5 hematíes/CAP), no cilindros de células rojas, no leucocituria (<5 leucocitos/CAP) y creatinina sérica estable.

La información de cada biopsia renal fue reportada utilizando la clasificación estandarizada de la Sociedad Internacional de Nefrología/Sociedad de Patología Renal (ISN/RPS)¹². Además, se calculó el índice de actividad y el índice de cronicidad de la biopsia (BAI y BCI, respectivamente) de acuerdo a los puntajes del *National Institute of Health*. La actividad y la cronicidad de la NL fueron medidas a través del índice de Austin¹³. Los ítems evaluados en la biopsia renal fueron, para el índice de actividad: hiper celularidad endocapilar, infiltración leucocítica, depósitos hialinos subendoteliales, necrosis fibrinoide/cariorraxis, semilunas epiteliales e inflamación intersticial. Para el índice de cronicidad fueron: glomerulosclerosis, semilunas fibrosas, atrofia tubular y fibrosis intersticial.

Muestras

A cada paciente se le tomó una muestra de orina en las horas de la mañana. Dicha muestra fue centrifugada a 1.200 gravedades durante 20 min; posteriormente fueron filtradas con membranas de 0,25 μ m para eliminar detritos celulares y posteriormente fueron almacenadas a -70°C hasta su análisis.

Determinación de anticuerpos y complemento

Con respecto a los anticuerpos ANA, fueron medidos por la técnica de inmunofluorescencia. Los anticuerpos anti-DNA de doble cadena, mediante inmunofluorescencia indirecta sobre el protozoo *Crithidia luciliae*. Los anticuerpos Anti-Ro, Anti-La, Anti-Sm, Anti-RNP, Anti-C1q y los anticuerpos anticardiolipinas fueron medidos por ELISA, con kits comerciales.

La determinación de los niveles de complemento fue realizada por técnicas de nefelometría.

Determinación de proteinuria y depuración de creatinina

La determinación de la proteinuria se realizó en muestra recolectada por 24 h mediante la técnica de picrato alcalino cinético. La depuración de creatinina se midió con la técnica de turbidimetría.

Determinación de niveles de transferrina y ceruloplasmina

La medición de TF y CP en orina se realizó con kits comerciales de ELISA (Assaypro, EE.UU.), siguiendo las instrucciones del fabricante. El personal de laboratorio estuvo cegado con respecto a la información clínica e histopatológica de los pacientes. Brevemente, dicho procedimiento consistió en incubar las muestras en platos sensibilizados con anticuerpo monoclonal contra TF y CP humana, posteriormente se incubó con un anticuerpo secundario biotinilado y un anticuerpo conjugado con peroxidasa de estreptavidina. Finalmente se agregó el sustrato cromógeno, se detuvo la reacción con ácido clorhídrico y se leyó a una longitud de onda de 450 nm con corrección de 570 nm. Inicialmente se realizó un ensayo con 5 muestras por duplicado a diferentes diluciones (1:4 [sugerido por el fabricante del kit], 1:20 y 1:100 para TF; 1:16 [sugerido por el fabricante], 1:50, 1:100, 1:150 y 1:200 para CP). A partir de dichos ensayos se realizaron las determinaciones de TF con las diluciones de 1:4, 1:20 y 1:100. Para las determinaciones de CP se utilizaron las diluciones de 1:16 y 1:150. En ambos ensayos se obtuvo una curva de calibración con un r cuadrado de 0,997 para TF y 0,9958 para CP.

Análisis estadístico

Se dicotomizaron múltiples variables para el análisis. Las diferencias entre las medias en las variables con distribución normal fueron analizadas usando la prueba paramétrica t de Student, y las variables con una distribución no normal fueron analizadas con la prueba U de Mann Whitney. Se realizó un análisis de las concentraciones de los biomarcadores de acuerdo a los índices BAI y BCI. Se dicotomizaron dichas variables en dos categorías (BAI ≥ 7 , BCI ≥ 4), como variables asociadas con peor pronóstico. Adicionalmente, se hizo un análisis de subgrupos de acuerdo a las razas, analizando las concentraciones de TF y CP entre los pacientes mestizos y los afroamericanos. Las correlaciones entre las concentraciones de los biomarcadores, el SLEDAI y el rango de proteinuria fueron analizadas usando los coeficientes de correlación de Spearman.

Se construyeron curvas ROC para CP y TF para evaluar su rendimiento diagnóstico de compromiso renal. Las áreas bajo la curva fueron consideradas como excepcionales (1-0,9), excelentes (0,9-0,81), buenas (0,8-0,71), regulares (0,7-0,61) y malas (0,6-0,5). Para el análisis estadístico se utilizó el software SPSS (IBM SPSS versión 23.0, Chicago, IL, EE.UU.) y GraphPad Prism (GraphPad Software versión 7.0, San Diego, CA, EE.UU.).

Resultados

La información con respecto a los pacientes se resume en la tabla 1. De 120 pacientes, el 85% fueron de sexo femenino; un 76% de raza mestiza, y con una media del SLEDAI de $8,4 \pm 8,9$. Además, el 64,4% tenían compromiso renal, con una proteinuria media en 24 h de $2.024,1 \pm 2.695,7$ mg/dl. El uso de prednisolona, ciclofosfamida y micofenolato mofetilo fue significativamente mayor en los pacientes con NL comparados con los pacientes sin NL. Por otro lado, los pacientes con NL presentaron un compromiso significativamente mayor de serosas comparados con los pacientes sin compromiso renal (44,1% vs 15,4%, $p < 0,002$). El tiempo medio de duración de la NL al momento de la medición de los biomarcadores fue de $3,3 \pm 2,6$ años.

Tabla 1
Características clínicas, serológicas y demográficas

	Total pacientes LES (n = 120)	Nefritis lúpica (n = 76)	No nefritis lúpica (n = 44)	p ^a
<i>Características demográficas</i>				
Sexo femenino (%)	87	85	93	NS
Edad media (años ± DE)	32,8 ± 12,1	29,3 ± 9,4	38,8 ± 14,1	0,011
Media duración de la enfermedad (años ± DE)	7,3 ± 6,9	7,1 ± 5,8	7,7 ± 8,4	0,038
Media SLEDAI (puntuaje ± DE)	8,4 ± 8,9	11,2 ± 9,3	3,2 ± 5,2	< 0,001
<i>Raza</i>				
Mestizo (%)	90 (76,7)	52 (70,0)	36 (87,0)	0,039
Afro-latinoamericano (%)	25 (21,6)	21 (28,0)	4 (10,5)	0,024
<i>Características clínicas</i>				
Compromiso cutáneo (%)	83,9	85,7	81,0	NS
Compromiso articular (%)	80,7	79,2	83,3	NS
Compromiso hematológico (%)	84,4	85,5	82,5	NS
Serositis (%)	33,6	44,1	15,4	0,002
Compromiso renal (%)	64,4	100	0	< 0,001
Media proteinuria 24 h (mg/dl ± DE)	2.024,1 ± 2.695,7	2.310,4 ± 2.779,7	105,9 ± 62,3	0,001
<i>Terapia farmacológica</i>				
Prednisolona (%), alguna vez	93,8	98,6	84,2	0,003
Antimaláricos (%), alguna vez	94,4	94,3	94,7	NS
Ciclofosfamida (%), alguna vez	35,8	48,7	14,3	< 0,001
Micofenolato mofetilo (%), alguna vez	38,4	55,6	8,3	< 0,001
Rituximab (%), alguna vez	14,7	18,6	8,3	NS
<i>Serología</i>				
Hipocomplementemia (%), alguna vez	74,5	84,5	61,1	0,016
Hipocomplementemia C3 (%) ^b	57/100 (57)	44/69 (64)	13/31 (41)	0,04
Hipocomplementemia C4 (%) ^b	65/100 (65)	51/69 (74)	14/31 (45)	0,005
Anticuerpos anti ds DNA (%), alguna vez	69,1	77,1	55,0	0,001
Anticuerpos anti ds DNA elevados (%) ^b	72/105 (69)	64/75 (85)	8/30 (26)	< 0,0001

^a Nefritis lúpica vs no nefritis lúpica.^b En el momento de la toma de la muestra.

Del total de 76 pacientes con NL, 55 (72%) tenían diagnóstico comprobado por biopsia. Un paciente fue clasificado como clase I y 5 pacientes como clase II, 36 (65,5%) pacientes tenían formas proliferativas (16 pacientes clase III y 20 pacientes clase IV). Finalmente, 13 (23,6%) pacientes tenían una NL clase V.

Biomarcadores en orina

Las concentraciones urinarias de CP fueron significativamente mayores en pacientes con NL comparados con los pacientes sin NL (630,73 ± 1,232,23 vs 63,02 ± 160,89 ng/ml, p < 0,05). Además, los niveles de TF también fueron significativamente mayores en los pacientes con NL, comparados con los pacientes sin NL (7.083,28 ± 2.997,33 vs 2.244,24 ± 2.743,38 ng/ml, p < 0,05) (fig. 1A y B). Por otro lado, se evaluó si los niveles de CP y TF se correlacionan con la actividad de la NL, comparando los niveles de los pacientes con nefritis activa con los pacientes sin actividad de la NL. Las concentraciones de CP fueron significativamente mayores en los pacientes con NL activa que en NL inactiva (742,35 ± 1.236,81 vs 309,38 ± 1.081 ng/ml, p < 0,05); de igual manera, los niveles de TF fueron significativamente mayores en los pacientes con NL activa (8.294 ± 1.427,06 vs 3.627,82 ± 3.677,19 ng/ml, p < 0,05) (fig. 1C y D).

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas de los niveles de CP o TF entre las diferentes clases de NL (datos no presentados).

Se analizaron las concentraciones de TF y CP de acuerdo a la presencia de un BAI ≥ 7 y un BCI ≥ 4. Las concentraciones de CP fueron significativamente mayores en pacientes con un BAI ≥ 7; dentro de los ítems específicos del índice de Austin, las concentraciones de CP fueron significativamente mayores en los pacientes que presentaron semilunas epiteliales (tabla 2). No hubo diferencias significativas en los niveles de TF con respecto al BAI, BCI y los diferentes ítems del índice de Austin.

En el análisis por razas, encontramos que los pacientes de origen afro-latinoamericanos tuvieron concentraciones significativamente más elevadas de TF en orina (6.638,8 ± 3.250 vs 5.017,5 ± 3.778,8 ng/ml, p = 0,01) que los pacientes mestizos, pero no encontramos diferencias significativas en cuanto a las concentraciones de CP (484,3 ± 709 vs 418,9 ± 1.123,1 ng/ml, p = 0,57). En pacientes con NL, las concentraciones de TF en orina también fueron significativamente mayores en afro-latinoamericanos que en mestizos, pero no hubo diferencias en las concentraciones de CP (datos no presentados).

Correlación entre biomarcadores y características clínicas

Se encontró una correlación positiva estadísticamente significativa entre las concentraciones de TF y el SLEDAI (rho = 0,475, p < 0,001) y el rango de proteinuria (rho = 0,412, p < 0,001). Además, las concentraciones de TF y CP se correlacionaron positivamente entre sí, hallazgo que fue estadísticamente significativo (rho = 0,345, p < 0,001). Por otro lado, no hubo correlación entre las concentraciones de CP y el rango de proteinuria o el SLEDAI (fig. 2A-D). Se encontró además una correlación positiva estadísticamente significativa entre el SLEDAI modificado sin incluir los dominios de puntuación renal y las concentraciones de TF en orina (rho = 0,253, p < 0,05) (datos no presentados).

Las curvas ROC para la discriminación de NL determinaron un excelente valor diagnóstico para la CP (AUC = 0,84, IC 95%: 0,76-0,92) y la TF (AUC = 0,86, IC 95%: 0,79-0,93) (fig. 3A). Por otro lado, ambos biomarcadores tuvieron un buen rendimiento para el diagnóstico de NL activa, tanto para la TF (AUC = 0,82, IC 95%: 0,66-0,88) como para la CP (AUC = 0,77, IC 95%: 0,71-0,92) (fig. 3B).

Discusión

En este estudio se encontraron concentraciones de TF y CP significativamente mayores en pacientes con NL comparados con

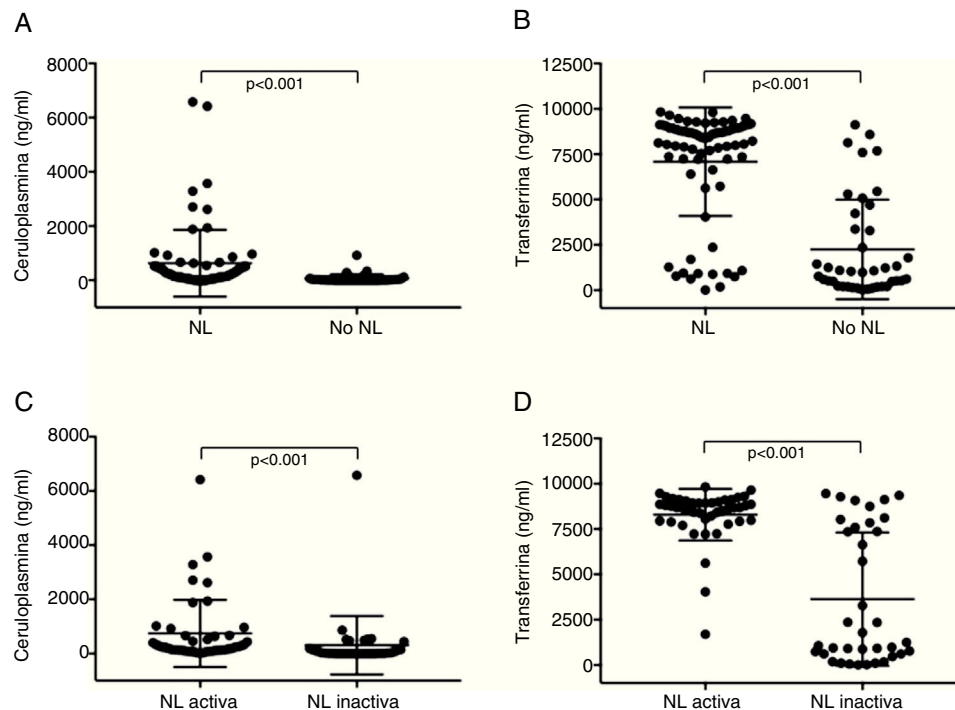


Figura 1. Concentraciones urinarias de CP y TF de acuerdo a la presencia de NL y a la actividad de la NLA. A) Concentraciones de CP en orina de pacientes con NL y sin NL. B) Concentraciones de TF en orina de pacientes con NL o sin NL. C) Concentraciones de CP en orina de pacientes con NL activa e inactiva. D) Concentraciones de TF en orina de pacientes con NL activa e inactiva.

Tabla 2

Asociación entre las concentraciones de TF y CP y los diferentes ítems de los índices de actividad y cronicidad

Biomarcador			TF (ng/ml)	P	CP (ng/ml)	P
Ítem índice						
IA	Hiper celularidad endocapilar	Sí	7.530,89 ± 2.511,25	NS	396,53 ± 115,5	NS
		No	7.514,37 ± 2.507,61		239,92 ± 98,6	
	Infiltración leucocítica	Sí	8.726,71 ± 516,04	NS	390,30 ± 460,93	NS
		No	8.254,69 ± 1.001,53		344,81 ± 341,43	
	Depósitos hialinos subendoteliales	Sí	8.451,02 ± 749,17	NS	244,92 ± 278,20	NS
		No	8.540,31 ± 931,27		546,01 ± 492,38	
	Necrosis fibrinoide/cariorexis	Sí	7.767,24 ± 2.570,58	NS	394,45 ± 495,88	NS
		No	7.475,64 ± 2.497,17		346,18 ± 314,90	
	Semilunas epiteliales	Sí	7.359,85 ± 2.787,00	NS	493,69 ± 485,86	0,017
		No	7.672,91 ± 2.339,33		228,50 ± 219,80	
	Inflamación intersticial	Sí	7.525,91 ± 2.416,58	NS	400,31 ± 447,99	NS
		No	7.550,36 ± 2.738,26		208,60 ± 210,12	
IC	Glomerulosclerosis	Sí	2.447,88 ± 3.638,75	NS	351,89 ± 428,13	NS
		No	1.671,20 ± 452,21		353,48 ± 392,87	
	Semilunas fibrosas	Sí	6.931,40 ± 2.901,89	NS	125,02 ± 79,33	0,025
		No	7.675,04 ± 2.431,31		443,93 ± 427,64	
	Atrofia tubular	Sí	7.026,66 ± 2.676,27	NS	291,01 ± 339,5	NS
		No	7.777,75 ± 2.418,58		423,41 ± 442,26	
	Fibrosis intersticial	Sí	6.871,04 ± 2.768,08	NS	291,01 ± 339,5	NS
		No	7.807,57 ± 2.376,67		423,41 ± 442,26	

IA: índice de actividad; IC: índice de cronicidad.

aquellos sin NL. De igual manera, las concentraciones de ambos biomarcadores fueron significativamente mayores en pacientes con NL activa que aquellos sin actividad a nivel renal. Adicionalmente, se encontró una correlación positiva entre las concentraciones de TF, el SLEDAI y la proteinuria en 24 h. También se encontró una correlación positiva entre las concentraciones de CP y las de TF. Con respecto al rendimiento de estos biomarcadores, se encontró un excelente valor diagnóstico para ambos biomarcadores para determinar la presencia de NL; además, tuvieron buen poder discriminativo (tanto la TF como la CP) para determinar la actividad de la NL.

Estos resultados están en concordancia con algunos estudios previos^{10,14}. En un estudio multicéntrico, de validación inicial de un panel de biomarcadores para el diagnóstico de la NL activa, realizado en Estados Unidos y Canadá en población principalmente afroamericana y caucásica, se encontró que las concentraciones de TF y CP fueron mayores en los pacientes con NL activa¹⁰. Por otro lado, en otro estudio de validación internacional de un panel de biomarcadores se encontró que las concentraciones de TF y CP y otros biomarcadores fueron significativamente mayores en pacientes con NL activa comparados con pacientes sin NL; en dicho estudio, la CP, la TF y otros biomarcadores se correlacionaron fuertemente

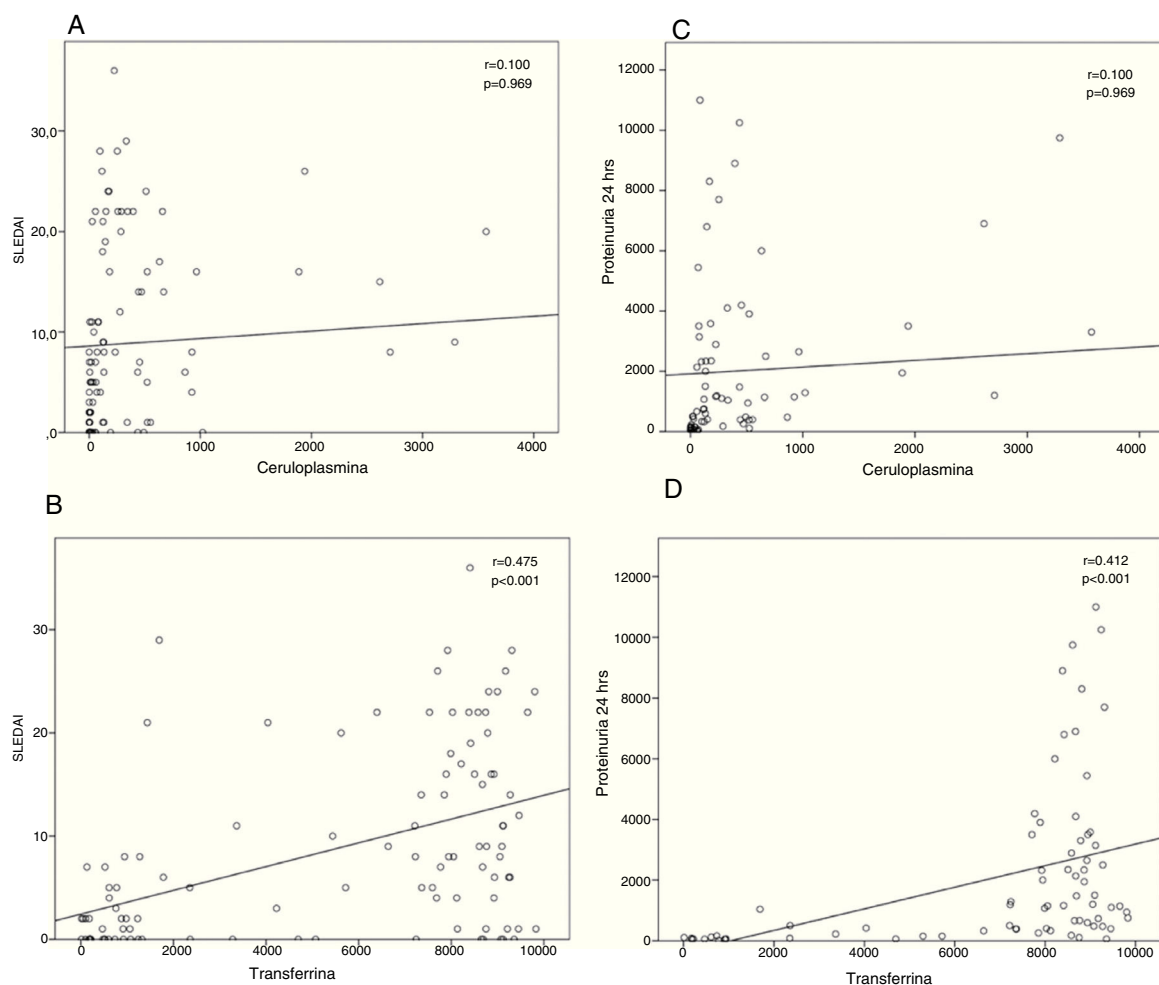


Figura 2. Correlaciones entre los biomarcadores, la actividad de la enfermedad y la proteinuria. Correlación entre las concentraciones de CP y TF en orina y el SLEDAI (A y B, respectivamente), y entre las concentraciones de CP y TF y la proteinuria en 24 h (C y D, respectivamente).

entre sí. Dicho panel de biomarcadores tuvo un AUC excelente de 0,952¹⁴. En otro estudio, realizado en Cincinnati por Brunner et al.¹⁵, se estudió una cohorte de 76 pacientes, de la cual un 46% eran de raza afroamericana y un 43% caucásicos; en dicho estudio se analizó la asociación entre biomarcadores en orina y las características histológicas de la biopsia renal en NL, y se encontró que la TF y la CP, entre otros biomarcadores, diferenciaban entre puntajes BAI altos y bajos (≥ 7), hallazgo que replicamos en nuestro estudio, ya que la concentración de CP fue significativamente mayor en pacientes con BAI ≥ 7 . Así mismo, se encontró una correlación significativa entre la concentración de CP y el SLEDAI renal (SLEDAI-R). La CP hizo parte de un panel de variables predictoras de actividad ≥ 7 en la biopsia renal, con un AUC de 0,85. Por otro lado, la TF hizo parte de un panel predictor de NL membranosa (clase V), con un AUC de 0,75. En el presente estudio no encontramos niveles diferenciales entre las clases de NL y las concentraciones de TF y CP en orina.

Del mismo modo, se ha reportado que las concentraciones de CP y la TF, en conjunto con otros biomarcadores, son mayores en los pacientes con NL que responden a la terapia, comparados con los que no lo hacen¹⁶. Dada la naturaleza de nuestro estudio, la relación entre respuesta clínica y concentraciones de biomarcadores no fue posible.

Como ya se ha establecido en otras patologías donde ocurre daño renal —como el síndrome de Fanconi, donde las concentraciones de TF en orina se han encontrado elevadas⁶—, las concentraciones

elevadas de TF y CP en NL pueden deberse a que las células sufren algún grado de hipoxia que estimula la expresión de elementos de respuesta al hierro y las proteínas reguladoras de hierro (IRE e IRP, respectivamente), y esto, a su vez, a un incremento de la captación de hierro a través de la TF, y gracias a la acción ferroxidasa de la CP.

El presente estudio tiene ciertas limitaciones. Tal como mencionamos previamente, el diseño transversal del estudio no permite evaluar el comportamiento de los biomarcadores en el tiempo ni su relación con el tratamiento. De igual manera, no dispusimos de un grupo control de sanos para realizar el análisis comparativo. Además, nuestro estudio fue realizado en un centro de referencia universitario con una cohorte de pacientes de LES de alta complejidad, tal como lo revelan los altos índices de actividad, lo que no hace extrapolables nuestros resultados a pacientes con formas más leves de LES. Por último, aunque el presente estudio fue realizado en un centro de alta complejidad, no todos los pacientes tuvieron acceso a biopsia renal, ya sea porque no se consideró pertinente a juicio del clínico, o no pudieran acceder a ella por dificultades administrativas.

Por otro lado, entre las fortalezas de nuestro estudio se encuentran: ser el primer estudio que analiza las concentraciones de la TF y la CP en pacientes mestizos y afro-latinoamericanos, reportando diferencias en la concentración de los biomarcadores entre subgrupos; el proceso estricto de selección de pacientes con LES, descartando pacientes con procesos autoinmunes concomitantes o

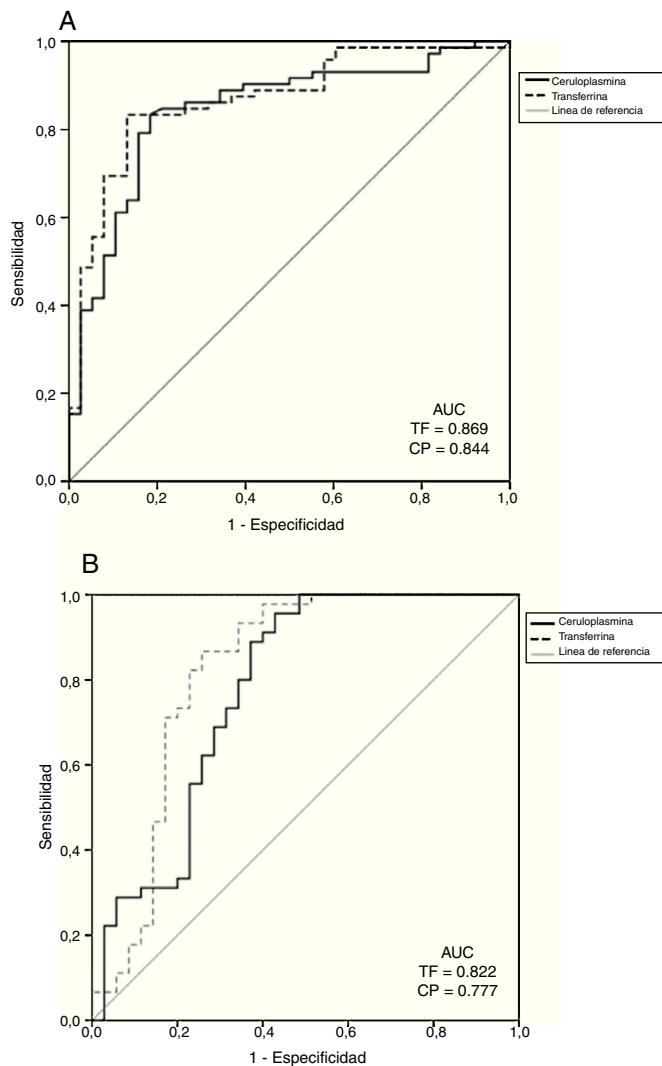


Figura 3. Curvas ROC para el rendimiento diagnóstico de la NL de la CP y la TF (A), y el diagnóstico de NL activa de la CP y la TF (B).

con procesos infecciosos activos, y un proceso de recolección, almacenamiento y procesamiento de las muestras de orina de una forma sistemática.

En conclusión, en nuestro estudio encontramos que la TF y la CP son biomarcadores con un potencial para discriminar la presencia de NL, e incluso como marcadores de actividad de la misma, lo que podría representar una alternativa no invasiva a la biopsia renal en algunos pacientes seleccionados o sin acceso a ella, aunque todavía es necesario validar estos resultados de manera prospectiva.

Como perspectivas de futuro, se espera validar estos resultados en pacientes con LES en toda Latinoamérica, en colaboración con el Grupo Latinoamericano de Estudio del Lupus (GLADEL).

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

El presente trabajo fue financiado por Colciencias (convocatoria 656 de 2014), Patrimonio autónomo Fondo Nacional de Financiamiento para la ciencia, la tecnología y la innovación, Francisco José de Caldas y por el programa de sostenibilidad, Universidad de Antioquia.

Bibliografía

- Almaani S, Meara A, Rovin BH. Update on lupus nephritis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2017;12:825–35.
- Contreras G, Lenz O, Pardo V, Borja E, Cely C, Iqbal K, et al. Outcomes in African Americans and Hispanics with lupus nephritis. *Kidney Int*. 2006;69:1846–51.
- Schwartz N, Goilav B, Putterman C. The pathogenesis, diagnosis and treatment of lupus nephritis. *Curr Opin Rheumatol*. 2014;29:997–1003.
- Consolaro A, Varnier GC, Martini A, Ravelli A. Advances in biomarkers for paediatric rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2014;11:1–11.
- Winter W, Bazydlo L, Harris N. The molecular biology of human iron metabolism. *Lab Med*. 2014;45:92–102.
- Zhang D, Meyron-Holtz E, Rouault TA. Renal iron metabolism: Transferrin iron delivery and the role of iron regulatory proteins. *J Am Soc Nephrol*. 2007;18:401–6.
- White KN, Conesa C, Sánchez L, Amini M, Farnaud S, Lorzorlak C, et al. The transfer of iron between ceruloplasmin and transferrins. *Biochim Biophys Acta*. 2012;1820:411–6.
- Vanarsa K, Ye Y, Han J, Xie C, Mohan C, Wu T. Inflammation associated anemia and ferritin as disease markers in SLE. *Arthritis Res Ther*. 2012;14:R182.
- Rosa RF, Takei K, Araújo NC, Loduca SMA, Szajubok JCM, Chahade WH. Monocyte chemoattractant-1 as a urinary biomarker for the diagnosis of activity of lupus nephritis in Brazilian patients. *J Rheumatol*. 2012;39:1948–54.
- Suzuki M, Wiers K, Brooks EB, Greis KD, Haines K, Klein-Gitelman MS, et al. Initial validation of a novel protein biomarker panel for active pediatric lupus nephritis. *Pediatr Res*. 2009;65:530–6.
- Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, McShane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1982;25:1271–7.
- Weening JJ, d'Agati VD, Schwartz MM, Seshan SV, Alpers CE, Appel GB, et al. The classification of glomerulonephritis in systemic lupus erythematosus revisited. *Kidney Int*. 2004;65:521–30.
- Austin HA 3rd, 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;75:382–91.
- Brunner HI, Bennett MR, Mina R, Suzuki M, Petri M, Kiani AN, et al. Association of noninvasively measured renal protein biomarkers with histologic features of lupus nephritis. *Arthritis Rheum*. 2012;64:2687–97.
- Smith EMD, Jorgensen AL, Midgley A, Oni L, Goilav B, Putterman C, et al. International validation of a urinary biomarker panel for identification of active lupus nephritis in children. *Pediatr Nephrol*. 2017;32:283–95.
- Brunner HI, Bennett MR, Gulati G, Abulaban K, Klein-Gitelman MS, Ardoin SP, et al. Urine biomarkers to predict response to lupus nephritis therapy in children and young adults. *J Rheumatol*. 2017;44:1239–48.