

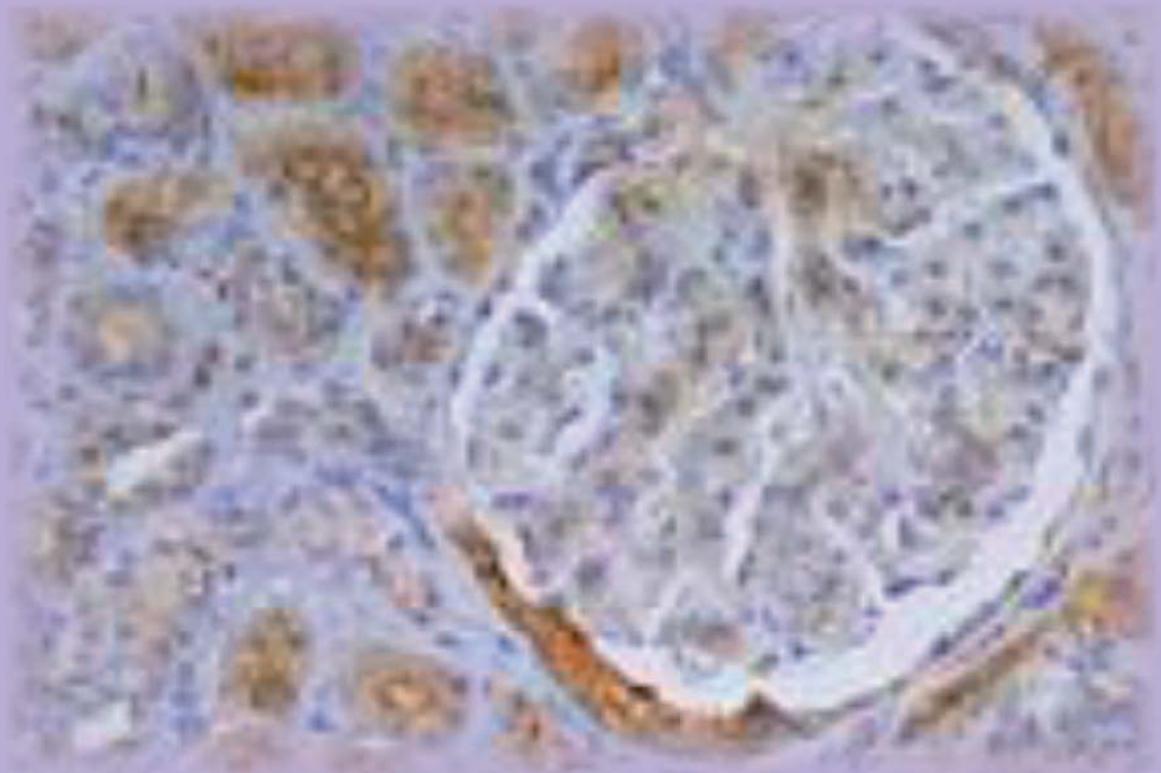


**Universitat Autònoma
de Barcelona**

**PROGRAMA DE DOCTORADO
EN MEDICINA**

TESIS DOCTORAL

Biomarcadores en la nefritis lúpica



María Teresa Torres Salido

Barcelona, 2016

7.1 Características demográficas basales de los pacientes.

Se incluyeron un total de 123 pacientes en el estudio transversal y 45 nuevos pacientes con nefritis lúpica activa en el estudio longitudinal. Las características clínicas, demográficas, las determinaciones analíticas y los tratamientos realizados de ambos estudios se resumen en las tablas 1 y 2. En ambas cohortes, predominaba el sexo femenino (87 – 89%) y la glomerulonefritis más frecuente fue la del tipo IV (78 – 79%). Todos los pacientes en el estudio longitudinal recibieron micofenolato mofetil (MMF) como terapia de inducción y mantenimiento.

En la cohorte transversal, los pacientes con afectación renal tenían valores significativamente más altos en las escalas de SLEDAI-2Ks y rSLEDAIs y tomaban de forma más frecuente MMF ($p = 0,0006$) y agentes bloqueadores de angiotensina ($p = 0,0184$), mientras que la hidroxicloroquina fue más frecuente en los pacientes con LES sin afectación renal ($p = 0,0087$). Como era de esperar, los pacientes con NL tenían niveles significativamente más altos de anticuerpos anti-dsDNA, creatinina y del ratio de Upro: Ucre junto con valores de TFGe más bajos. A continuación, se exponen los resultados de ambos estudios, de forma separada para cada molécula y su relación con la actividad de la enfermedad renal, la respuesta al tratamiento, la progresión a IRC y su capacidad pronóstica.

Tabla 1. Datos demográficos, índices de actividad de la enfermedad y valores de laboratorio en pacientes con LES.

	Total (n = 123)	LES con afectación renal				Total (n = 62)	LES sin historia de NL		P -valor ^a
		NL activa (n = 38)	NL previamente tratada (n = 85)	RP (n = 56)	RC (n = 29)		Brote no renal (n = 23)	LES inactivo (n = 39)	
Demográficos									
Edad, mediana (Q ₁ -Q ₃) ^b	33 (27-42)	32 (25-44)	33 (28-42)	32 (27-42)	36 (28-45)	34 (29-48)	37 (28-43)	0,2060	
Mujer, no. (%)	109 (89)	35 (92)	46 (82)	27 (96)	51 (82)	21 (91)	30 (77)	0,2323	
Raza/ etnia, no. (%)								1,0000	
Blanca	115 (93)	35 (91)	51 (90)	29 (100)	58 (94)	22 (96)	36 (91)		
Hispanica	3 (2)	1 (3)	2 (4)	0 (0)	2 (3)	0 (0)	2 (5)		
Afro-americana	2 (2)	1 (3)	1 (2)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)		
Otras	3 (2)	1 (3)	2 (4)	0 (0)	2 (3)	1 (4)	1 (3)		
Duración enfermedad, mediana (Q ₁ Q ₃) ^b	9 (3-13)	7 (1-10)	10 (4-14)	9 (4-15)	8 (5-14)	8 (1-11)	9 (5-14)	0,7315	
Índices enfermedad (SLEDAI-2K), Mediana (Q₁-Q₃)									
Índice total (rango 0- 105)	9 (4-14)	16 (14-16)	8 (6- 11)	2 (1-4)	4 (2-8)	8 (7- 10)	2 (2-4)	<0,0001****	
Índice renal (rango 0- 16)	8 (4-12)	12 (12-12)	4 (4-8)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	0 (0-0)	-	
Índice extrarenal (rango 0- 89)	2 (2-4)	4 (2-4)	2 (0-4)	2 (1-4)	4 (2-8)	8 (7-10)	2 (2-4)	0,0009****	
Tratamiento actual, no. (%)									
Prednisona	116 (94)	38 (100)	51 (91)	27 (93)	59 (95)	23 (100)	36 (92)	0,8088	
Micofenolato mofetil	82 (67)	29 (76)	38 (68)	15 (52)	25 (40)	11 (48)	14 (36)	0,0006**	
Fármacos anticalcineurínicos	14 (11)	3 (8)	6 (11)	5 (17)	6 (10)	1 (4)	5 (13)	0,7245	
Hidroxicloroquina	27 (22)	5 (13)	11 (20)	11 (38)	25 (40)	9 (39)	16 (41)	0,0087**	
Azatioprina	11 (48)	5 (13)	5 (9)	1 (3)	5 (8)	2 (9)	3 (8)	0,8409	
Fármacos bloqueadores angiotensina	27 (22)	7 (18)	15 (27)	5 (17)	5 (5)	1 (4)	4 (10)	0,0184*	

Tabla 1. (Continúa.)

	Total	LES con afectación renal		Total	LES sin historia de NL		P -valor ^a
		NL activa	NL previamente tratada		Brote no renal	LES inactivo	
		RP			RC		
Parámetros de laboratorio, mediana (Q₁-Q₃)							
Creatinina sérica, mg/dL	0.9 (0.7- 1.3)	1 (0.8- 1.3)	0.9 (0.7- 1.5)	0.8 (0.7- 0.9)	0.8 (0.7- 0.8)	0.9 (0.8- 1)	0,0049**
Ac. Anti-dsDNA , UI/mL	35 (11-108)	86 (36- 340)	27 (11- 57)	15 (3-90)	39 (2- 188)	11 (4- 51)	0,0399*
C3 sérico, mg/dL	91 (71- 110)	76 (58- 92)	95 (76- 115)	95 (82-111)	94 (80- 129)	96 (84- 111)	0,0662
Ratio Upro:Ucre, (mg/mg)	0.4 (0.1- 1)	1 (0.5- 2.4)	0.4 (0.3- 0.8)	0.06 (0.04- 0.1)	0.06 (0.04- 0.1)	0.06 (0.04- 0.1)	<0,0001***
TFGe (mL/min)	91 (67- 110)	89 (65- 106)	88 (63- 111)	98 (82-116)	104 (87- 120)	98 (79-112)	0,0134*
Muestras biopsia renal, no. (%)							
Ninguna disponible	14 (11)	4 (11)	7 (13)	3 (10)			
Clasificación ISN/RPS							
Clase I	5 (5)	2 (6)	0 (0)	3 (12)			
Clase III	9 (8)	2 (6)	4 (8)	3 (12)			
Clase IV	86 (79)	28 (82)	43 (88)	15 (58)			
Clase V	9 (8)	2 (6)	2 (4)	5 (19)			
Índice de actividad ^c	9 (5-12)	10 (6-12)	12 (9-12)	7 (3-12)			

Ac. anti-dsDNA, anticuerpos anti-DNA de doble cadena; ratio Upro: Ucre, ratio proteínas/creatinina urinaria; TFGe, tasa de filtración glomerular estimada. El índice SLEDAI total fue determinado mediante el SLEDAI 2K. El SLEDAI renal fue calculado mediante el sedimento urinario que muestra la presencia de proteinuria, hematuria, piuria y cilindros urinarios, puntuándose la presencia de cada uno de ellos con 4 puntos de un rango total de 0 a 16. El SLEDAI extra-renal se puntuó en relación a indicadores clínicos de enfermedad sistémica o enfermedad en algún órgano o sistema incluyendo: nervioso, inmunológico, piel o pulmón.^a p-valor hace referencia a la comparación entre pacientes con LES con y sin afectación renal: las variables continuas se compararon mediante el test U de Mann-Whitney, mientras el test χ^2 de Pearson fue utilizado para las variables categóricas (cuando las proporciones eran muy pequeñas se utilizó el test exacto de Fisher). * p < 0.05, ** p < 0.01 y *** p < 0.0001.^b Tiempo expresado en años. ^c La nefritis lúpica fue clasificada en relación a los criterios revisados de 2003.

Tabla 2. Características iniciales de 45 pacientes diagnosticados de nefritis lúpica incluidos en el estudio prospectivo.

Demográficos		Parámetros laboratorio (Continua.)	
Edad, mediana (Q1-Q3) ^b	31 (23 - 41)	Ratio Upro:Ucre, (mg/mg)	1 (0.6- 2.2)
Mujer, no. (%)	39 (87)	TFGe, (mL/min)	82 (61- 102)
Raza/etnia, no.(%)		Medicación inicial, no. (%)^a	
Blanca	40 (89)	Prednisona	44 (98)
Hispanica	3 (7)	Micofenolato mofetilo	34 (76)
Afro-americana	1 (2)	Ciclofosfamida	2 (5)
Otros	1 (2)	Fármacos anticalcinurínicos	5 (11)
Duración enfermedad, mediana (Q1-Q3) ^b	1 (0-6)	Hidroxicloroquina	6 (13)
Índices enfermedad		Azatioprina	3 (7)
SLEDAI-2K, mediana (Q1-Q3)^c	16 (11- 16)	Fármacos bloqueadores angiotensina	7 (16)
Índice total (rango 0- 105)	12 (6- 12)	Muestras biopsia renal^a	
Índice renal (rango 0- 16)	4 (2- 6)	Clasificación ISN/RPS, n (%)	
Índice extrarenal (rango 0- 89)	0 (0- 0)	Clase III	7 (16)
SDI, mediana (Q1-Q3)^d		Clase IV ^e	35 (78)
Índice global	0 (0- 0)	Clase V	3 (6)
Índice renal	0 (0- 0)	Índice actividad, mediana (Q1-Q3)^f	
Parámetros laboratorio, mediana (Q1-Q3)		10 (7- 12)	
Creatinina sérica, mg/dL	1 (0.8- 1.3)	Índice cronicidad, mediana (Q1-Q3)^f	
Ac. anti-dsDNA, IU/mL	116 (32- 390)	1 (0,7- 2)	
C3 sérico, mg/dL	68 (51- 90)		

Ac. anti-dsDNA, anticuerpos anti-DNA de doble cadena; ratio Upro:Ucre, ratio proteínas/creatinina urinarias; TFGe, tasa de filtración glomerular estimada; ISN/RPS, Sociedad Internacional de Nefrología/ Sociedad de Patología Renal. ^a Excepto que sea indicado de otra forma, los valores expresan el número (%) de pacientes. ^b El tiempo se expresa en años. ^c El índice SLEDAI total fue determinado mediante el SLEDAI 2K. El SLEDAI renal fue calculado mediante el sedimento urinario que muestra la presencia de proteinuria, hematuria, piuria y cilindros urinarios, puntuándose la presencia de cada uno de ellos con 4 puntos de un rango total de 0 a 16. El SLEDAI extra-renal se puntuó en relación a indicadores clínicos de enfermedad sistémica o enfermedad en algún órgano o sistema incluyendo: nervioso, inmunológico, piel o pulmón. ^d El daño renal acumulado fue valorado mediante los datos del índice de daño del SLICC/ACR referentes al riñón (rSDI; rango 0-47). ^e Las muestras de la biopsia de tres pacientes mostraron un solapamiento considerable de las clases IV y V de la clasificación ISN/RPS. ^f La nefritis lúpica fue clasificada en relación a los criterios revisados de 2003.

7.2 Estudio de los biomarcadores del estudio en relación a los cambios de actividad en el Lupus Eritematoso Sistémico

7.2.1 Niveles de los biomarcadores en los diferentes grupos de pacientes con LES y controles en el estudio transversal.

NGAL

En primer lugar se compararon los niveles de uNGAL entre los pacientes con LES y los controles sanos. Los pacientes con LES tenían niveles significativamente más altos de uNGAL que los controles sanos [52,11 (IC del 95%: 39,61- 64,61) versus 20,41 (IC del 95%: 15,47– 25,36) ng/mL, $p = 0,0002$]. Al comparar los niveles de uNGAL y la uNGAL normalizada con creatinina, se encontró una elevada correlación entre ambos ($r = 0,8436$, $p < 0,0001$), por lo que a partir de este momento y a lo largo del estudio todos los resultados se presentan como normalizados con la concentración de creatinina urinaria. Cuando se compararon los niveles de uNGAL en los diferentes subgrupos de pacientes con LES, se observó que los pacientes con afectación renal y principalmente aquellos con una enfermedad activa, mostraban los niveles más altos de uNGAL que aquellos pacientes afectados por un brote no renal [0,52 (IC del 95%: 0,34- 0,70) y 0,27 (IC del 95%: 0,15 – 0,40) ng/ mg Cr, $p = 0,0028$], o aquellos que habían tenido nefritis lúpica pero habían conseguido una RC [0,33 (IC del 95%: 0,21 – 0,45) ng/ mg Cr, $p = 0,0174$]. Sin embargo, los valores de uNGAL no permitieron distinguir entre pacientes con nefritis lúpica activa y aquellos en remisión parcial (Figura 1).

Aunque, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de sNGAL entre los pacientes con LES y los controles [339,3 (IC del 95%: 302,2 – 376,4) versus 293,2 (IC del 95%: 241,4 – 344,9) ng/mL, $p = 0,846$], si se encontraron diferencias significativas en los niveles de sNGAL, entre los pacientes con NLA y aquellos con LES inactivo ($p = 0,008$) (Figura 2).

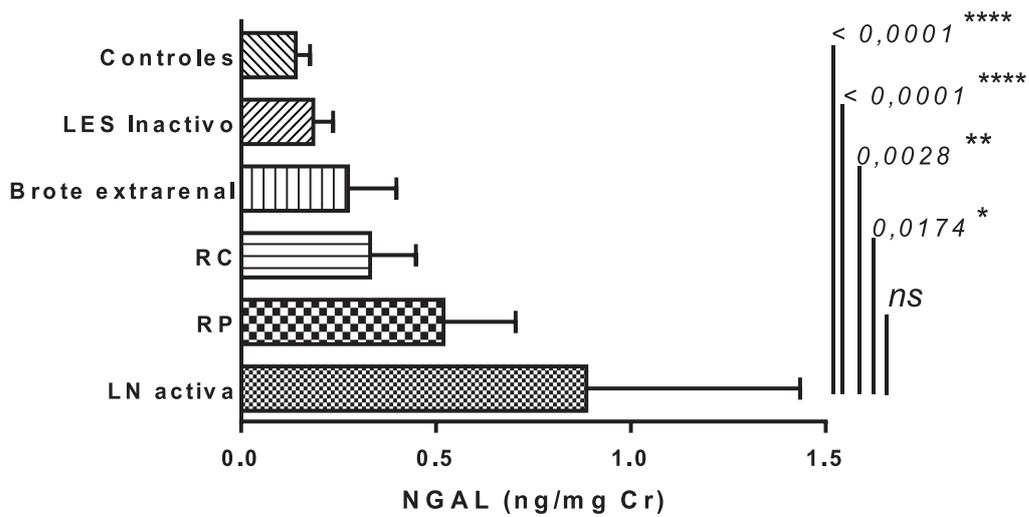


FIGURA 1: Niveles urinarios normalizados de NGAL (ng/ mg Cr) en pacientes con LES y controles. Los valores están expresados como media y 95% del intervalo de confianza.

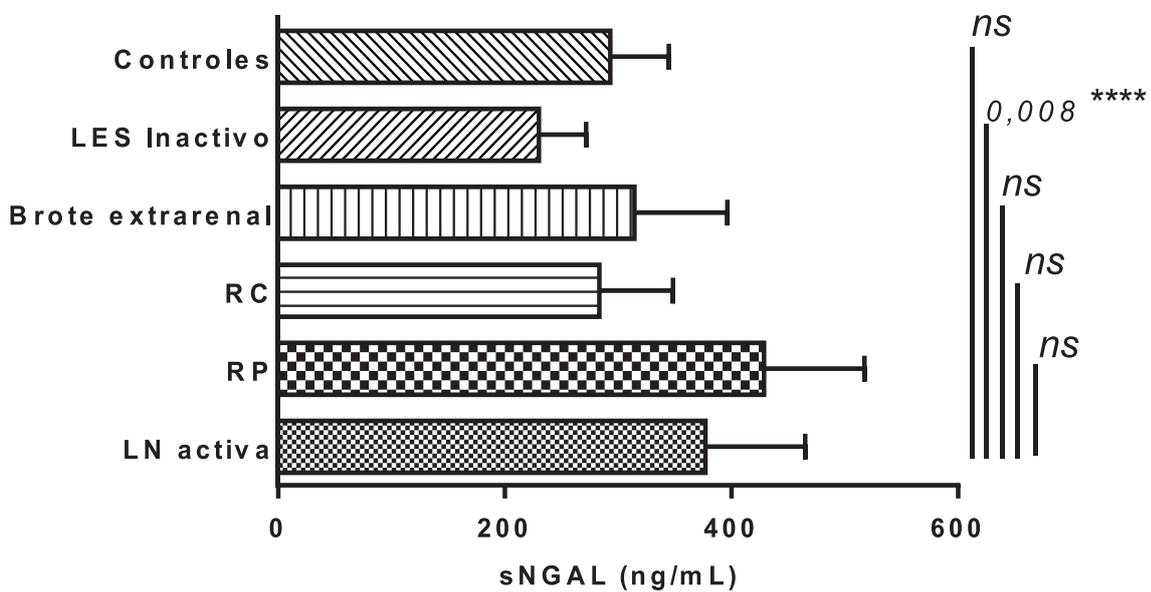


FIGURA 2: Niveles séricos de NGAL (ng/mL) en pacientes con LES y controles. Los valores están expresados como media y 95% del intervalo de confianza.

El ratio FE NGAL /FE Proteína (%) permitió discriminar los diferentes grupos, permitiendo

también la diferenciación entre la NLA, que mostraba los valores más bajos, y el grupo en RP (Figura 3).

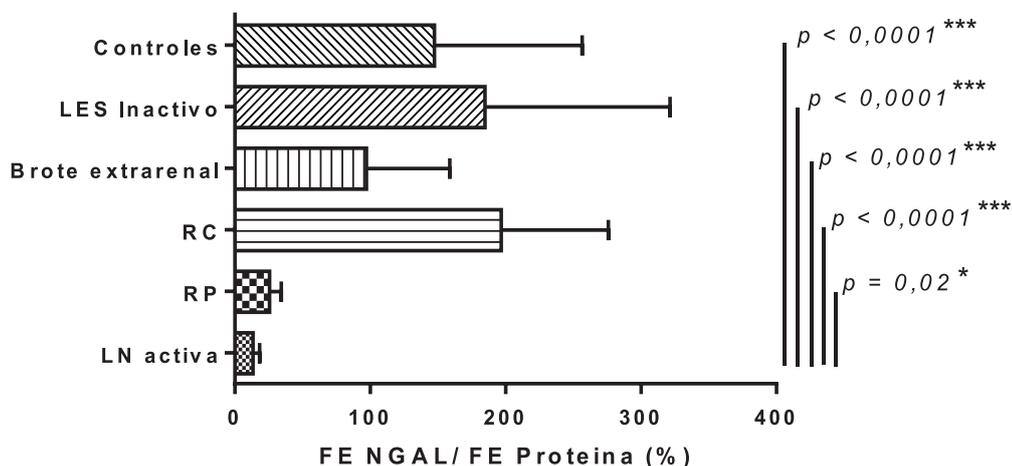


FIGURA 3: Niveles del ratio FE NGAL/FE Proteína (%) en pacientes con LES y controles. Los valores están expresados como media y 95% del intervalo de confianza.

TWEAK

Los pacientes con LES tenían niveles significativamente más altos de uTWEAK que los controles sanos [74,36 (IC del 95%: 58,60- 90,12) versus 36,62 [(IC del 95%: 18,26- 54,98] pg/mL, $p = 0,03$]. Se encontró una elevada correlación entre los niveles de uTWEAK y uTWEAK normalizado ($r = 0,95$, $p < 0,0001$) por lo tanto, a partir de este momento, al igual que se realizó con uNGAL anteriormente, todos los resultados se presentan como normalizados con la concentración de creatinina urinaria. Los pacientes con afectación renal y principalmente aquellos con una enfermedad activa, mostraban los niveles más altos de uTWEAK cuando se comparaban con los pacientes afectados por un brote no renal [1,18 (IC del 95%: 0,67- 1,70) y 0,23 (IC del 95%: 0,42- 0,61) pg/mg Cr, $p = 0,0191$], aquellos en RC [0,275 (IC del 95%: 0,11- 0,44) pg/mg Cr, $p =$

0,0004], o en RP [IC del 95%: 0,47 (0,34- 0,60) pg/mg Cr, $p = 0,0111$] (Figura 4).

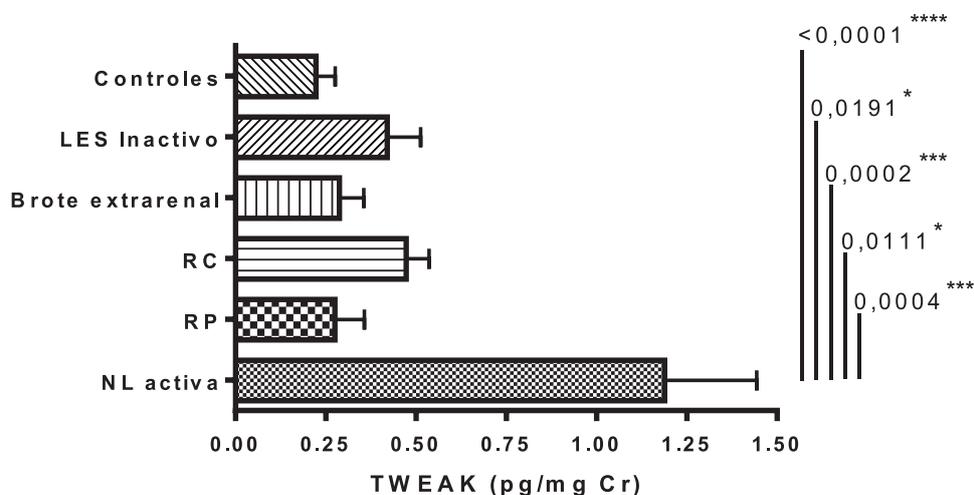


FIGURA 4: Niveles urinarios normalizados de TWEAK (pg/mg Cr) en pacientes con LES y controles. Los valores están expresados como media y 95% del intervalo de confianza.

Aunque, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de sTWEAK entre los pacientes con LES y los controles [622,7 (IC del 95%: 514,8- 730,53) versus 552,43 (IC del 95%: 451,9- 652,8) pg/mL, $p = 0,74$], si se encontraron diferencias significativas en los niveles de sTWEAK entre pacientes afectados por brotes renal y extrarenal ($p = 0,0177$) (Figura 5).

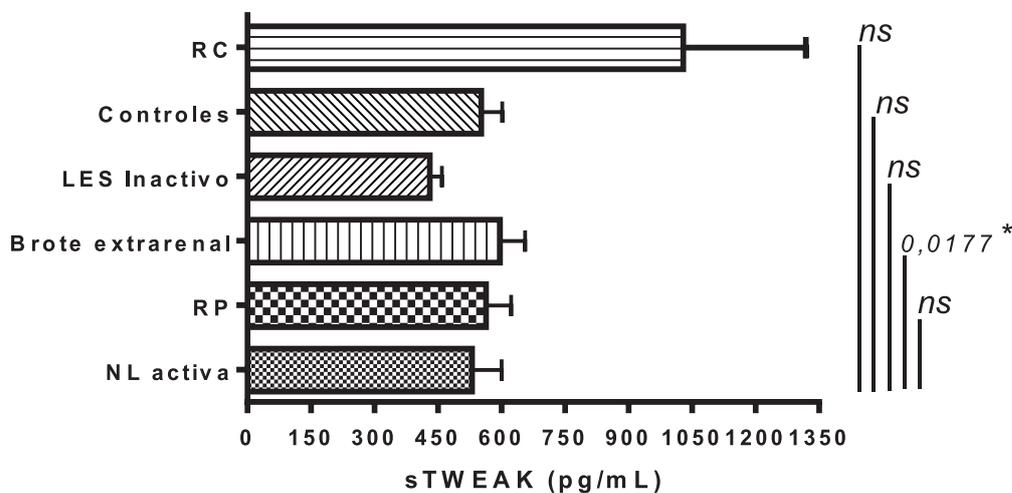


FIGURA 5: Niveles séricos de TWEAK (pg/mL) en pacientes con LES y controles. Los valores están expresados como media y 95% del intervalo de confianza.

APRIL

Los pacientes con LES tenían niveles significativamente más altos de uAPRIL que los controles sanos [3,31 (IC del 95%: 2,04- 4,57) versus al 2,48 (95 IC: 1,19- 3,76) ng/mL, $p = 0,01$]. Se encontró una elevada correlación entre los niveles de uAPRIL y los de uAPRIL normalizado ($r = 0,99$, $p < 0,0001$) por lo cual, al igual que para los anteriores biomarcadores, todos los resultados a partir de este momento se presentan como normalizados con la concentración de creatinina urinaria. Los pacientes con afectación renal activa, mostraban los niveles más altos de uAPRIL cuando se comparaban con los pacientes afectados por un brote no renal y LES inactivo [0,01 (IC del 95%: 0,08- 0,14) y (0,008 (IC del 95%: 0,02- 0,03) ng/mg Cr, $p = 0,0003$], y con aquellos en afectados por una enfermedad renal en RC [0,003 [IC del 95%: -0,00013- 0,007) ng/mg Cr, $p < 0,0001$], y en RP [0,05 (IC del 95%: 0,02- 0,08) ng/mg Cr, $p = 0,0005$], respectivamente (Figura 6).

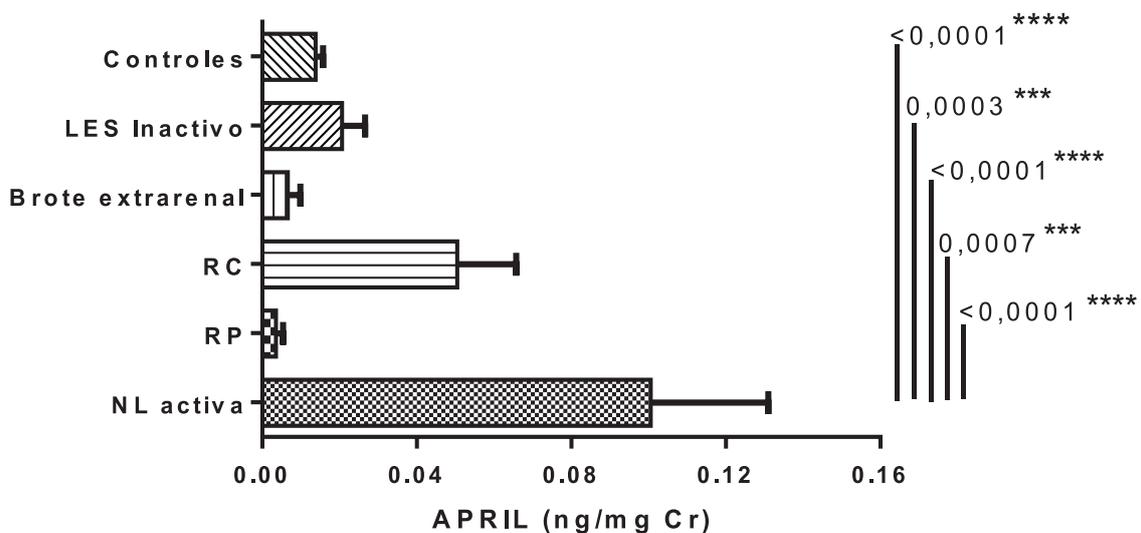


FIGURA 6: Niveles urinarios normalizados de APRIL (ng/mg Cr) en pacientes con LES y controles. Los valores están expresados como media y 95% del intervalo de confianza.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de sAPRIL (ng/mL) ni entre los pacientes con LES y los controles, ni tampoco entre los diferentes grupos (Figura 7), no encontrándose tampoco diferencias significativas entre los niveles de FE TWEAK/ FE Proteína (%).

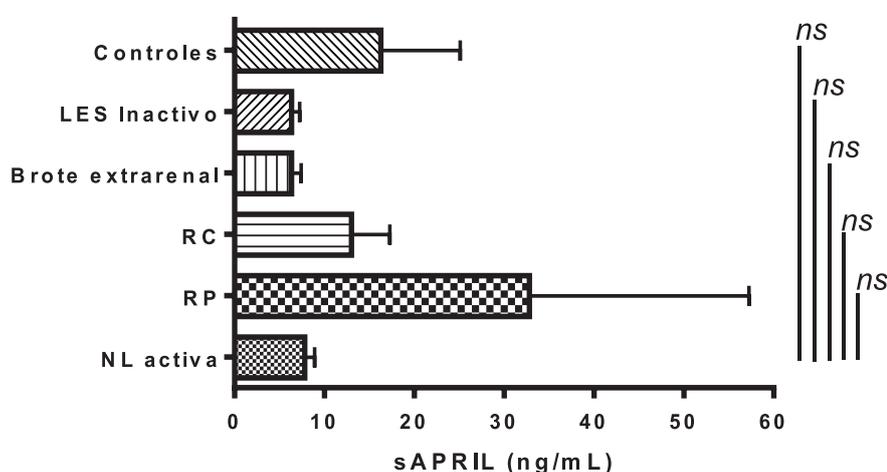


FIGURA 7: Niveles séricos de APRIL (ng/mL) en pacientes con LES y controles. Los valores están expresados como media y 95% del intervalo de confianza.

Los pacientes con afectación renal y principalmente aquellos con una enfermedad activa, mostraban los niveles, más bajos del ratio FE APRIL/FE Proteína cuando se comparaban con los controles [88,68 (IC del 95%: 51,72- 125,6) y 393,6 (IC del 95%: 113,0- 674,1) %, $p = 0,0256$], con aquellos pacientes afectados por un LES inactivo [158,7 (IC del 95%: -48,23- 365,7) %, $p < 0,0001$], o aquellos en RC [100,20 (IC del 95%: -32,22- 232,6) %, $p < 0,0001$]. Los pacientes del grupo RP

valores significativamente más bajos [77,37 [(C del 95%: 42,19- 112,6) %], $p = 0,0310$] cuando se comparaban con pacientes con enfermedad renal activa (Figura 8).

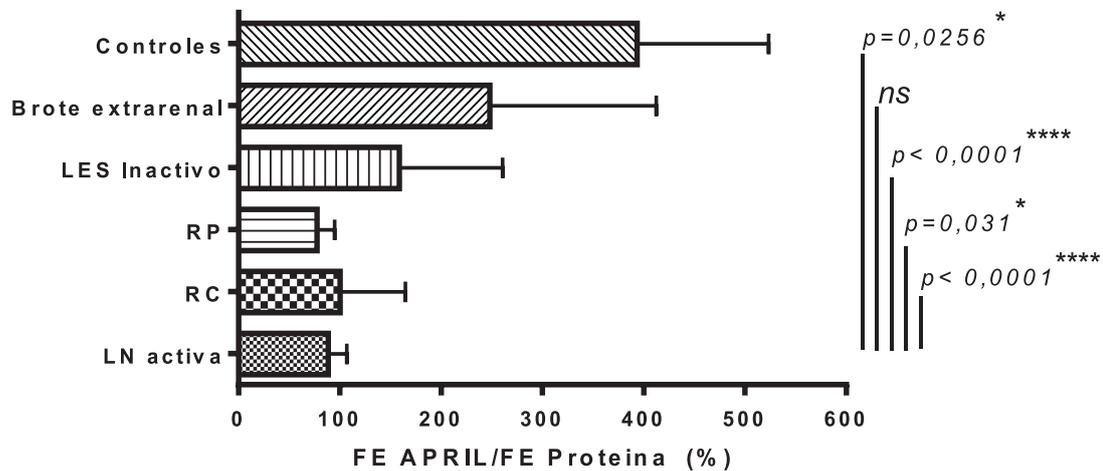


FIGURA 8: Niveles del ratio FE APRIL/FE Proteína (%) en pacientes con LES y controles. Los valores están expresados como media y 95% del intervalo de confianza.

MCP-1

Los pacientes con LES tenían niveles significativamente más altos de uMCP-1 que los controles sanos [127,1 (IC del 95%: 88,26- 166,0) versus al 19,68 (IC del 95%: -11,33- 50,68) pg/mL, $p = 0,0049$], respectivamente. Se encontró una elevada correlación entre los niveles de uAPRIL y los de uAPRIL normalizado ($r = 0,9425$, $p < 0,0001$), por lo cual al igual que para los anteriores biomarcadores todos los resultados a partir de este momento se presentan como normalizados con la concentración de creatinina urinaria.

Los pacientes con afectación renal activa mostraban niveles más altos de uMCP-1 [2,453 (IC del 95%: 1,167- 3,739) pg/mg Cr], cuando se comparaban con pacientes en RC [0,3927 (IC del 95%:

-0,1429- 0,9283) pg/mg Cr, $p < 0,0035$], y en RP [0,6966 (IC del 95%: 0,06836- 1,325) pg/mg Cr, $p = 0,0042$], respectivamente (Figura 9).

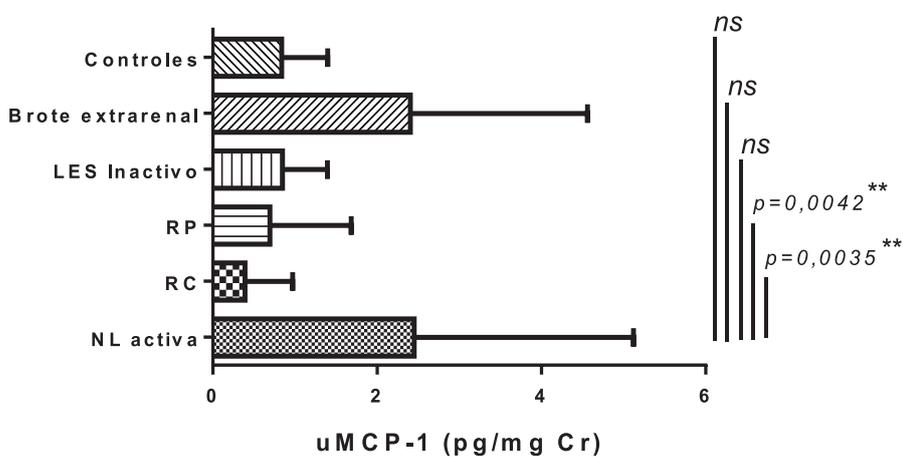


FIGURA 9: Niveles urinarios normalizados de MCP-1 (pg/mg Cr) en pacientes con LES y controles. Los valores están expresados como media y 95% del intervalo de confianza.

Únicamente, se encontró una diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de sMCP-1 entre los pacientes con NL activa y aquellos con enfermedad extrarenal (Figura 10).

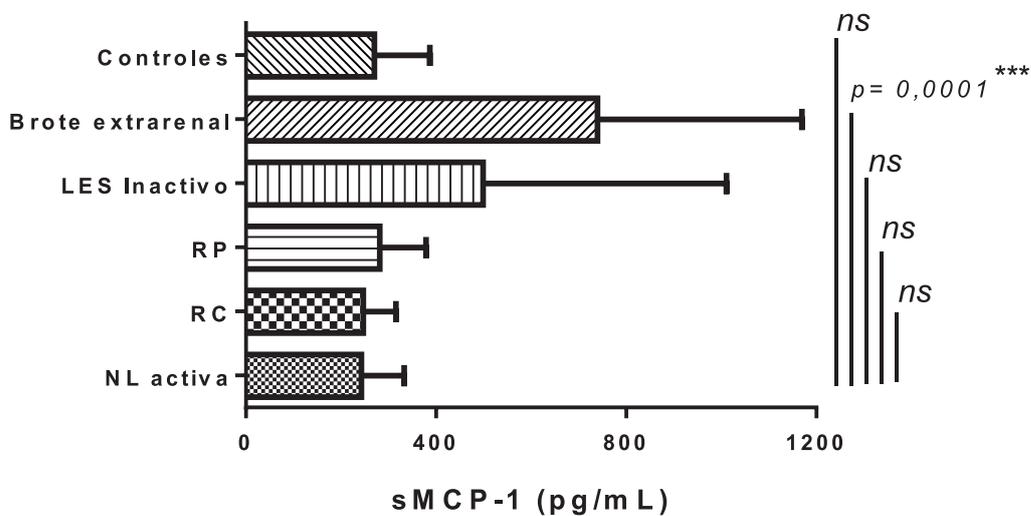


FIGURA 10: Niveles séricos de MCP-1 (pg/mL) en pacientes con LES y controles. Los valores están expresados como media y 95% del intervalo de confianza.

Los pacientes con afectación renal y principalmente aquellos con una enfermedad activa, mostraban los niveles más bajos del ratio FE MCP-1/FE Proteína [9.123 (IC del 95%: 2.314- 15.933) %] siendo estadísticamente significativos cuando se comparaban con los controles [47.842 (IC del 95%: 10.493- 85.191) %], $p= 0,0139$], y con aquellos pacientes afectados por un brote extrarenal [85.826 (IC del 95%: -46.852- 218.504) %, $p < 0,0274$] (Figura 11).

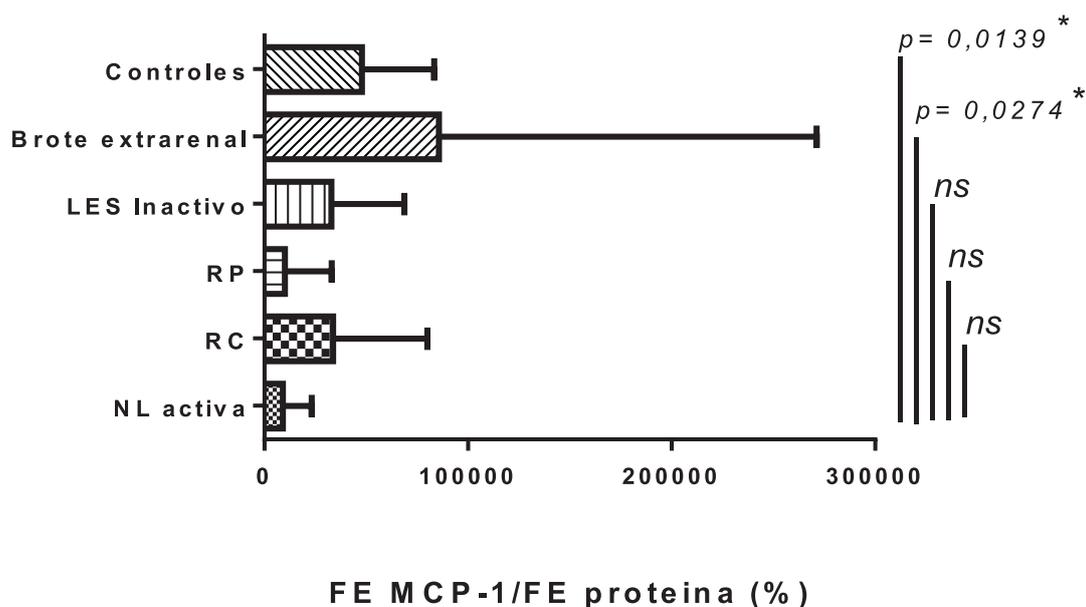


FIGURA 11: Niveles del ratio FE MCP-1/FE Proteína (%) en pacientes con LES y controles. Los valores están expresados como media y 95% del intervalo de confianza.

NRP-1

Los pacientes con LES tenían niveles significativamente más altos de uNRP-1 que los controles

sanos [30.598 (IC del 95%: 9.268- 458.194) y 6.274 (IC del 95%: 4.465 – 8.223 ng/mL), $p = 0,0074$], respectivamente. Se encontró una elevada correlación entre los niveles de uNRP-1 y los de uNRP-1 normalizado ($r = 0,987$, $p < 0.0001$). Por lo tanto, a partir de este momento todos los resultados se presentan como normalizados con la concentración de creatinina urinaria.

Los pacientes con afectación renal y principalmente aquellos con una enfermedad activa, mostraban los niveles más altos de uNRP-1, cuando se comparaban con los pacientes en RC [2.464,29 (IC del 95%: 32,88- 9.583,45) y 333,46 (IC del 95%: 1,51-1.665,34) ng/mg Cr, $p < 0,0001$], RP [324,01 (IC del 95%: 1,21- 2.252,93) ng/mg Cr, $p < 0,0001$], brote no renal [108,79 (IC del 95%: 2,8- 538,42) ng/mg Cr, $p < 0,0001$] o un LES inactivo [101,51 (IC del 95%: 1,72- 779,26 ng/mg Cr), $p < 0,0001$] (Figura 12).

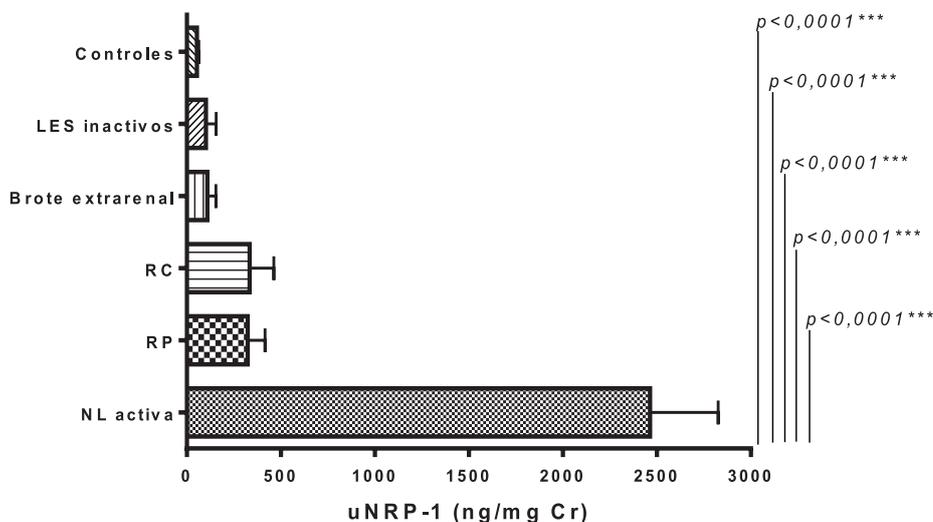


FIGURA 12: Niveles urinarios de NRP-1 (ng/mg Cr) en pacientes con LES y controles. Los valores están expresados como media y 95% del intervalo de confianza.

No se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los niveles de sNRP-1 entre los diferentes grupos (Figura 13). El ratio FE NRP-1 /FE Proteína permitió discriminar también los diferentes grupos, el grupo con NLA tenía valores inferiores [10,109 (IC del 95%: 47-104,121) %]

a los grupos en RP [18,004 (IC del 95%: 788- 111,244) %] y en RC [45,119 (IC del 95%: 373- 379,218) %] (Figura 14), siendo estas diferencias estadísticamente significativa para ambos grupos ($p= 0,0022$ y $p= 0,0003$, respectivamente) no mostrando utilidad para diferenciar el grupo con NLA de los grupos con LES inactivos o con brote extrarenal.

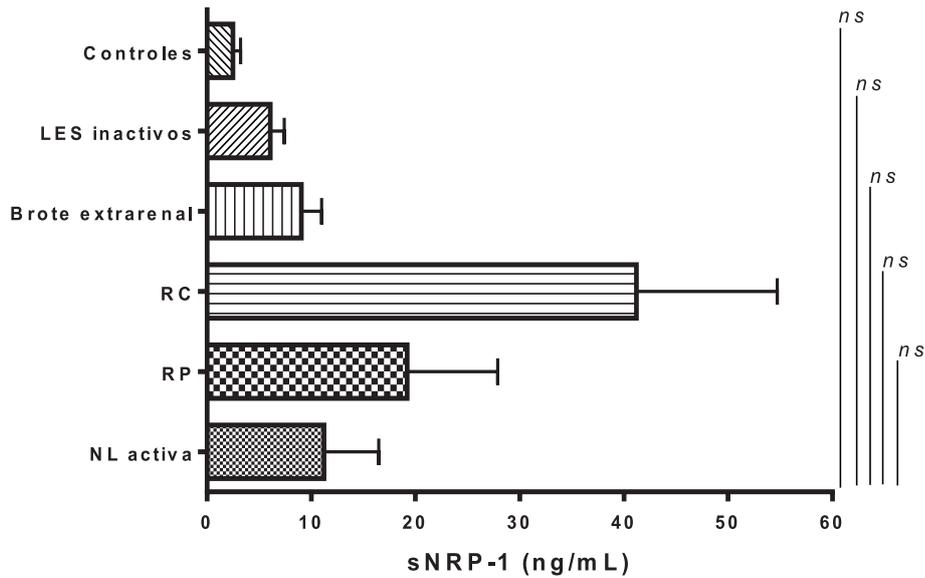


FIGURA 13: Niveles séricos de NRP-1 (ng/mL) en pacientes con LES y controles. Los valores están expresados como media y 95% del intervalo de confianza.

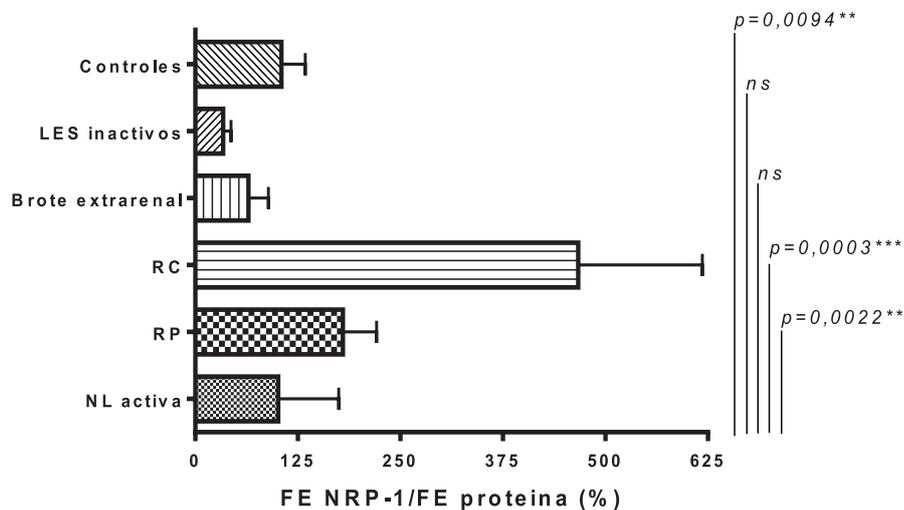


FIGURA 14: Niveles del ratio FE NRP-1/FE Proteína (%) en pacientes con LES y controles. Los valores están expresados como media y 95% del intervalo de confianza.

7.2.2 Correlación entre los biomarcadores y aquellos parámetros utilizados de forma habitual en los pacientes con LES para valoración de la actividad sistémica y renal.

7.2.2.1 Correlación de los biomarcadores con los parámetros utilizados en la actualidad para valorar actividad en el LES.

NGAL

En el estudio transversal, se encontró una asociación significativa entre SLEDAI-2Ks global y los niveles de uNGAL ($r = 0,34$, $p < 0,0001$) que dependía principalmente los componentes renales de la escala, ya que la correlación se perdió o fue débil cuando se consideraron sólo las manifestaciones extrarenales (eSLEDAs) ($r = 0,04$, ns). No se observó correlación de los niveles de NGAL con los Acs. anti ds-DNA ni los niveles de complemento, únicamente se encontró una asociación débil entre los niveles urinarios y séricos de NGAL ($r = 0,1473$, ns). Resultados similares fueron observados en el estudio longitudinal.

TWEAK

En el estudio transversal, se encontró una asociación significativa entre SLEDAI-2Ks global, los niveles de uTWEAK y el ratio de FE TWEAK en relación con la fracción de excreción de proteínas totales (FE TWEAK/FE proteína) ($r = 0,41$, $p < 0,0001$) y ($r = 0,15$ y $p = 0,039$) que dependía

principalmente los componentes renales de la escala, ya que la correlación fue débil cuando se consideraron sólo las manifestaciones extrarenales (eSLEDAs) ($r = 0,17$, $p = 0,02$) y ($r = 0,03$, $p = 0,007$), respectivamente. En general, la asociación con los niveles séricos de TWEAK también fue débil ($r = 0,01$, ns). Únicamente, se encontró una asociación significativa entre los valores de uTWEAK y los títulos de anti-dsDNA séricos (medidos mediante ELISA) ($r = 0,2$, $p = 0,01$) e inversa con los niveles de C3 ($r = -0,34$, $p < 0,05$). Resultados similares fueron observados en el estudio longitudinal.

APRIL

En el estudio transversal, se encontró una asociación significativa entre SLEDAI-2Ks global, los niveles de uAPRIL, y el ratio de FE APRIL en relación con la fracción de excreción de proteínas totales (FE APRIL/FE proteína) ($r = 0,52$, $p < 0,0001$) y ($r = 0,44$, $p < 0,0001$) que dependía principalmente los componentes renales de la escala, ya que la correlación se perdió o fue débil cuando se consideraron sólo las manifestaciones extrarenales (eSLEDAs) ($r = 0,14$, ns) y ($r = 0,17$, $p = 0,02$), respectivamente.

La asociación con los niveles séricos de APRIL también fue débil ($r = 0,01$, ns). Únicamente, se observó una correlación inversa entre los niveles de uAPRIL y los niveles de complemento C3 ($r = -0,1564$, $p = 0,0345$), C4 ($r = -0,1943$, $p = 0,009$), y CH50 ($r = -0,1616$, $p = 0,0316$), respectivamente. Resultados similares fueron observados en el estudio longitudinal.

MCP-1

En el estudio transversal, no se encontró una correlación significativa entre SLEDAI-2Ks global, los niveles de urinarios y séricos de MCP-1, y el ratio de FE MCP-1 en relación con la fracción de

excreción de proteínas totales (FE MCP-1/FE proteína). Únicamente, se encontró una correlación inversa entre sus niveles séricos, y las manifestaciones extrarenales ($r = - 0,287$, $p < 0,001$). Se observó una correlación inversa con los niveles de actividad total del complemento CH50 ($r = - 0,258$, $p = 0,0465$). Resultados similares fueron observados en el estudio longitudinal.

NRP-1

En el estudio transversal, no se encontró una correlación significativa entre SLEDAI-2Ks global y los niveles de urinarios y séricos de NRP-1, ni tampoco con el ratio de FE NRP-1 en relación con la fracción de excreción de proteínas totales (FE NRP-1/FE proteína). Las manifestaciones extrarenales del SLEDAI-2Ks no correlacionaron de manera significativa con los niveles urinarios ni séricos. Tampoco se observó correlación de la NRP-1 con los niveles de C3 o C4, o los Acs.anti-DNA. Resultados similares fueron observados en el estudio longitudinal.

7.2.2.2 Correlación de los biomarcadores con los parámetros utilizados en la actualidad para valorar la actividad en la nefritis lúpica.

NGAL

Cuando se estudiaron las correlaciones de NGAL con otros parámetros, se encontró una correlación débil entre los niveles urinarios y séricos de NGAL como lo demuestra el bajo grado de correlación de Spearman ($r = 0,2062$, $p = 0,0021$) y una correlación inversa entre los niveles urinarios de NGAL y su ratio de fracción de excreción en relación a la fracción de excreción de

proteínas totales ($r = -0,457$, $p < 0,0001$). Los niveles de uNGAL correlacionaron con otros parámetros renales como la creatinina sérica ($r = 0,16$, $p < 0,0258$), el ratio uPro: uCre ($r = 0,4$, $p < 0,0001$) y rSLEDAs ($r = 0,21$, $p = 0,0006$). Resultados similares fueron observados en el estudio longitudinal. A nivel histológico los niveles de uNGAL correlacionaron también con el índice de actividad ($r = 0,35$, $p < 0,015$). No se observó ninguna asociación con el índice de cronicidad o con los diferentes tipos histológicos de la NL.

TWEAK

Cuando se estudiaron las correlaciones de TWEAK con otros parámetros, se encontró una correlación inversa débil entre los niveles urinarios y séricos de TWEAK demostrado por el bajo grado de correlación de Spearman ($r = -0,15$, $p = 0,041$). Se observó también una débil correlación entre los niveles uTWEAK y el ratio FE TWEAK/ FE Proteína ($r = 0,29$, $p < 0,0001$). Los niveles de uTWEAK correlacionaron con otros parámetros renales como la creatinina sérica ($r = -0,17$, $p = 0,0212$), el ratio uPro: uCre ($r = 0,31$, $p < 0,0001$), y el rSLEDAs ($r = 0,36$, $p < 0,0001$). Resultados similares fueron observados en el estudio longitudinal. Los niveles de sTWEAK fueron el único parámetro que correlacionó con el índice de actividad ($r = 0,29$, $p = 0,004$) a nivel histológico. No se observó ninguna asociación con el índice de cronicidad o con los diferentes tipos histológicos de la LN.

APRIL

Cuando se estudiaron las correlaciones del APRIL urinario con otros parámetros se encontró una fuerte correlación con los niveles de TWEAK urinarios ($r = 0,82$, $p < 0,0001$), séricos ($r = 0,19$, $p = 0,0048$) y FE APRIL/FE Proteína ($r = 0,8883$, $p < 0,0001$). Los niveles de urinarios y séricos de

APRIL también correlacionaron con parámetros renales tales como la urea ($r = 0,2501$, $p = 0,0006$ y $r = 0,32$, $p < 0,0001$) y la creatinina sérica ($r = 0,23$, $p = 0,0015$ y $r = 0,22$, $p = 0,0030$) y de forma inversa con la TFGe ($r = -0,25$, $p = 0,0005$ y $r = -0,23$, $p = 0,0016$). Resultados similares fueron observados en el estudio longitudinal. No se observó ninguna asociación con el índice de actividad, cronicidad o con los diferentes tipos histológicos de la LN.

MCP-1

Cuando se estudiaron las correlaciones de MCP-1 con otros parámetros, se encontró una moderada correlación entre los niveles urinarios de uMCP-1 y el ratio FE MCP-1/ FE Proteína ($r = 0,6$, $p < 0,0001$). Se encontró también una correlación estadísticamente significativa entre la albúmina sérica y los niveles urinarios de MCP-1 ($r = -0,258$, $p = 0,0465$), no observándose ninguna asociación significativa entre estos últimos y otros parámetros renales como la creatinina sérica, el ratio uPro: uCre, el rSLEDAs, los diferentes tipos histológicos de la LN y sus índices de actividad y cronicidad. Cuando se estudiaron las correlaciones de uMCP-1 con otros parámetros como los niveles urinarios y séricos de NGAL, TWEAK y APRIL tampoco se encontró ninguna estadísticamente significativa. Resultados similares fueron observados en el estudio longitudinal.

NRP-1

Los niveles urinarios de NRP-1 correlacionaron significativamente con parámetros renales tales como la proteinuria ($r = -0,19$, $p = 0,009$), el rSLEDAs ($r = 0,15$, $p = 0,041$), y el ratio de la fracción de excreción de MCP-1 en relación con la fracción de excreción de proteínas totales (FE MCP-1/FE proteína)($r = 0,38$, $p = 0,058$). No se encontró ninguna correlación significativa de los niveles urinarios de NRP-1 con los niveles séricos de creatinina, urea, la TFGe ni el índice de

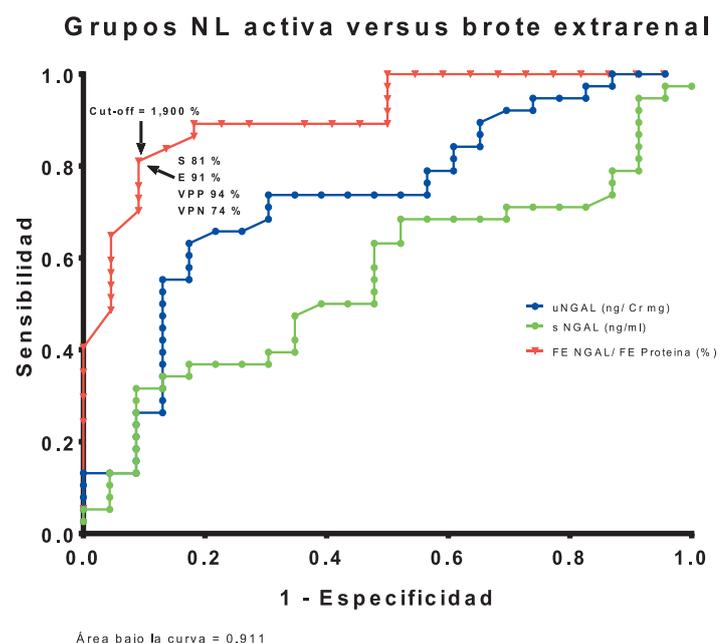
actividad ni cronicidad de la biopsia. Resultados similares fueron observados en el estudio longitudinal.

7.3 Utilidad clínica de los biomarcadores objeto de estudio como marcadores de nefritis lúpica activa.

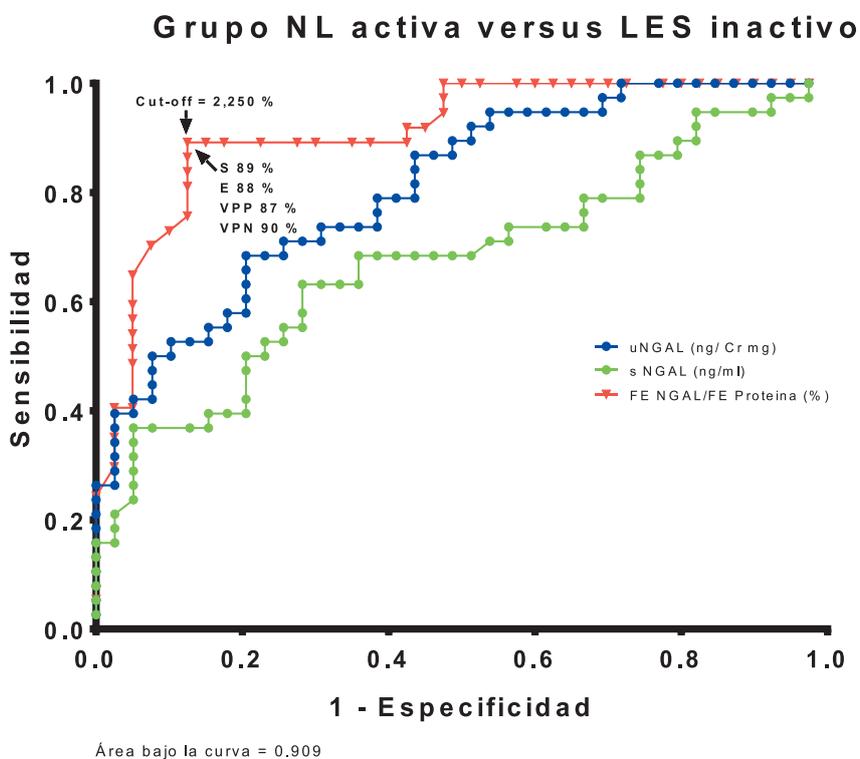
NGAL

Se calcularon las curvas ROC con los valores urinarios y séricos de NGAL y su fracción de excreción en relación a la fracción de excreción de proteínas totales (FE NGAL/FE proteína) para diferenciar los pacientes con NLA de los pacientes con LES y brote extrarenal (Figura 15 A), LES inactivo (Figura 15 B) o de aquellos con afectación renal que tras el tratamiento habían conseguido una RC (Figura 15 C) o una RP (Figura 15 D). El ratio de FE NGAL /FE proteína mostró la mejor curva ROC en todas las condiciones siendo el marcador con más utilidad del estudio para diferenciar pacientes con NLA de aquellos pacientes con NL que habían conseguido una RC tras el tratamiento (Figura 15 C)

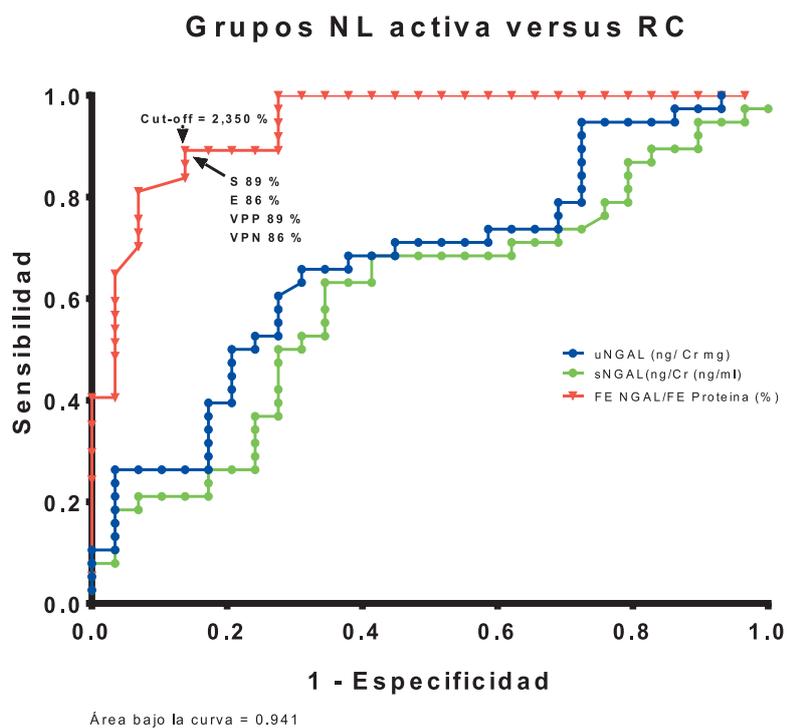
A



B



C



D

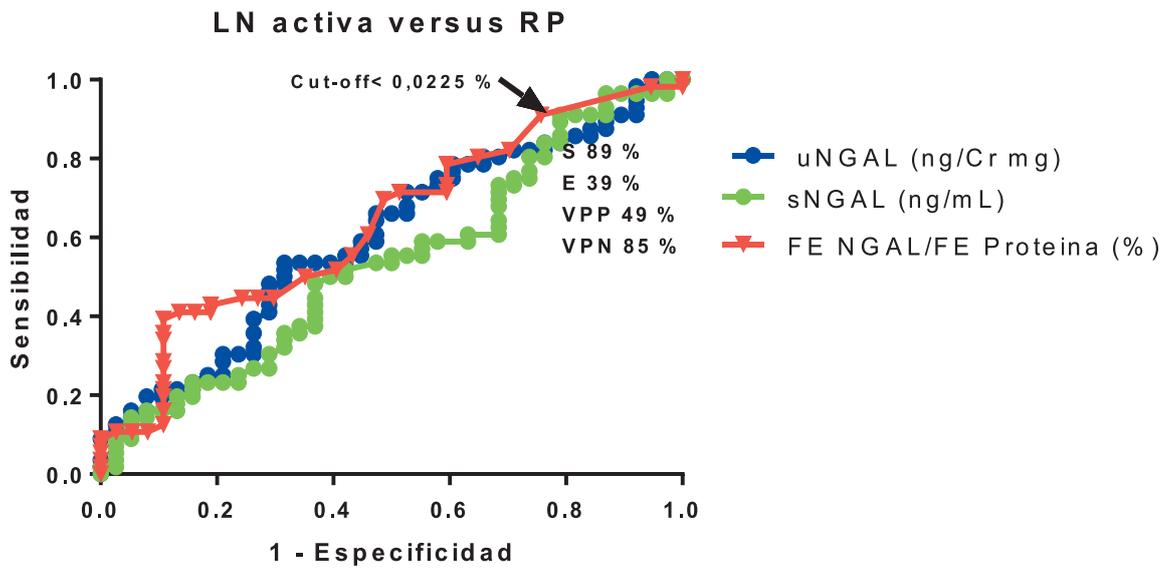


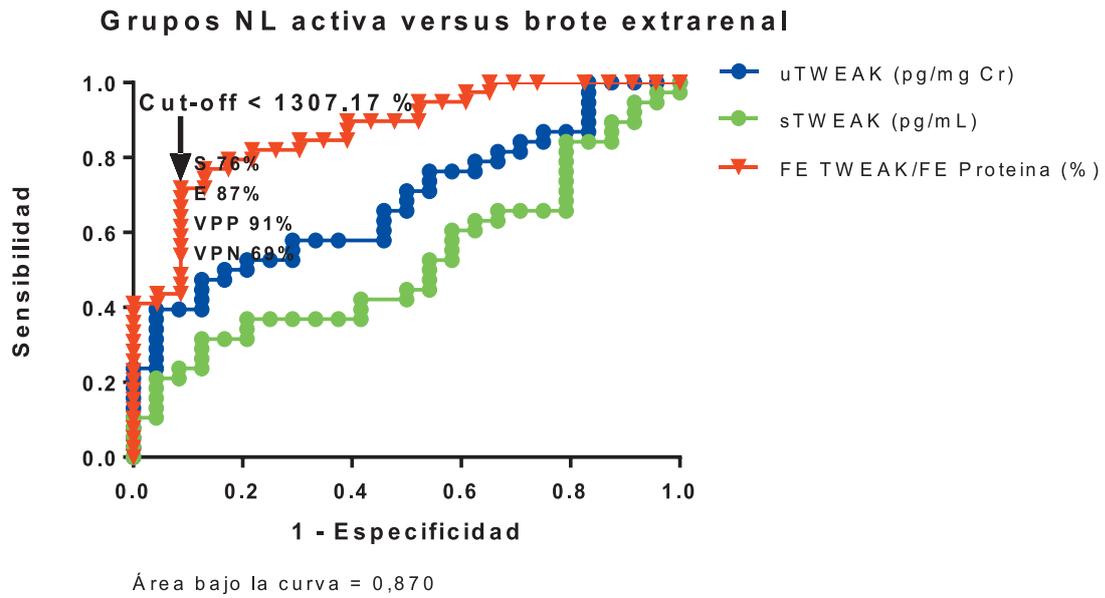
FIGURA 15: Curvas ROC para calcular la sensibilidad/especificidad de los niveles urinarios de NGAL normalizado (●) séricos (●) y el ratio de la fracción de excreción de NGAL en relación a la fracción de excreción de proteínas (FE NGAL/FE proteína) (▲) para discriminar NL activa de brote no renal (A), LES inactivo (B), respuesta completa (C) o respuesta parcial (D). VPP, valor predictivo positivo, VPN, valor predictivo negativo.

TWEAK

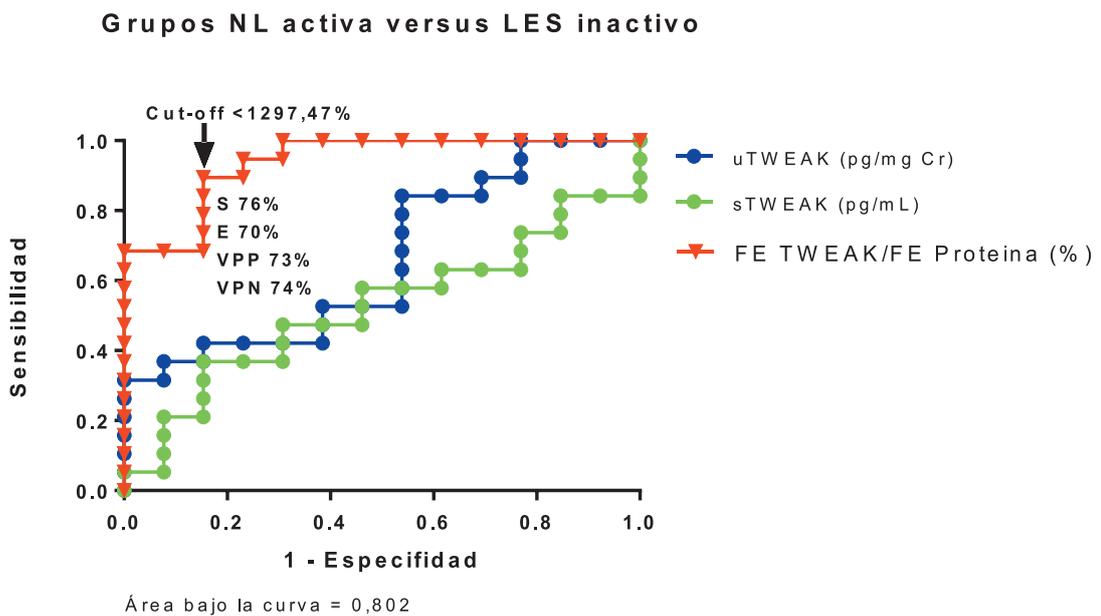
Se calcularon las curvas ROC con los valores urinarios y séricos de TWEAK y su fracción de excreción en relación a la fracción de excreción de proteínas totales (FE TWEAK/FE proteína) para diferenciar a los pacientes con NLA de aquellos con LES y brote extrarenal (Figura 16 A), LES inactivo (Figura 16 B) o afectación renal que tras el tratamiento habían conseguido una RC (Figura 16 C) o una RP (Figura 16 D). Los niveles de FE TWEAK/FE proteína mostraron la mejor curva ROC para diferenciar la NLA de brote extrarenal [ROC AUC 0,870 (IC del 95%: 0,780- 0,959)] (figura 16 A) y LES inactivo [ROC AUC 0,802 (IC del 95%: 0,705- 0,899)] (figura 16 B) y RC [ROC AUC 0,758 (IC del 95%: 0,640- 0,876)] (figura 16 C) mientras que los niveles urinarios de TWEAK

la mostraron para diferenciar la NLA de aquellos pacientes en RP [ROC AUC 0,634 (IC del 95%: 0,509- 0,760)] (figura 16 D)

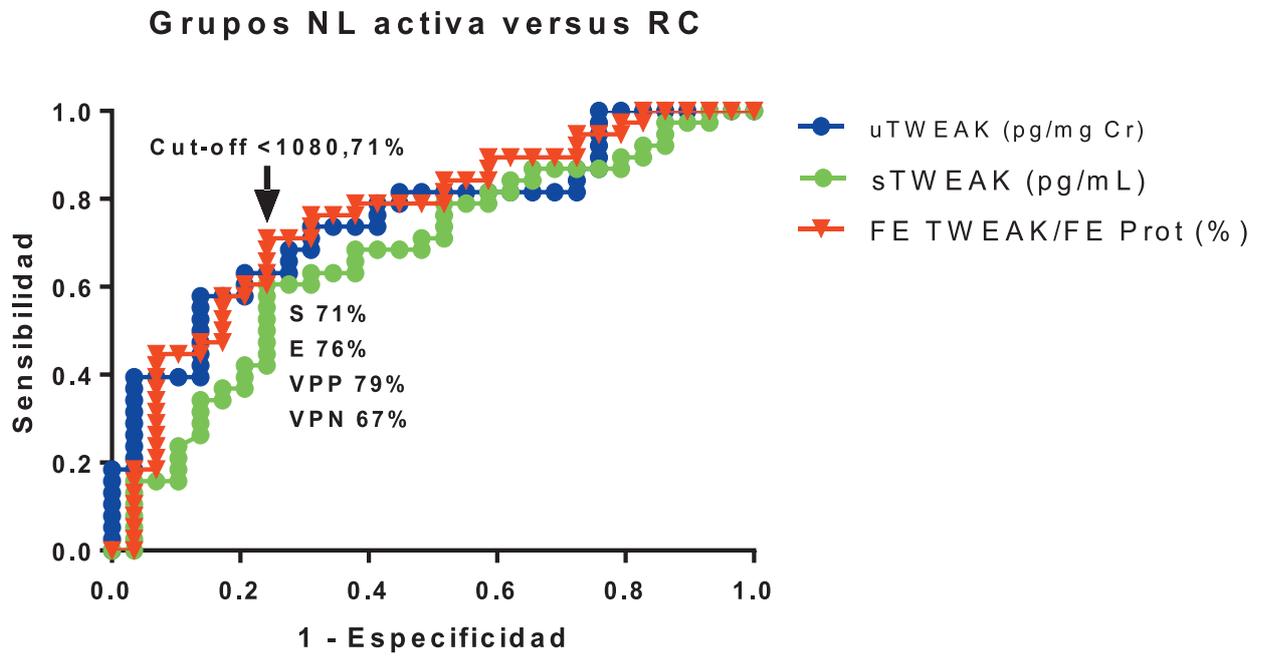
A



B

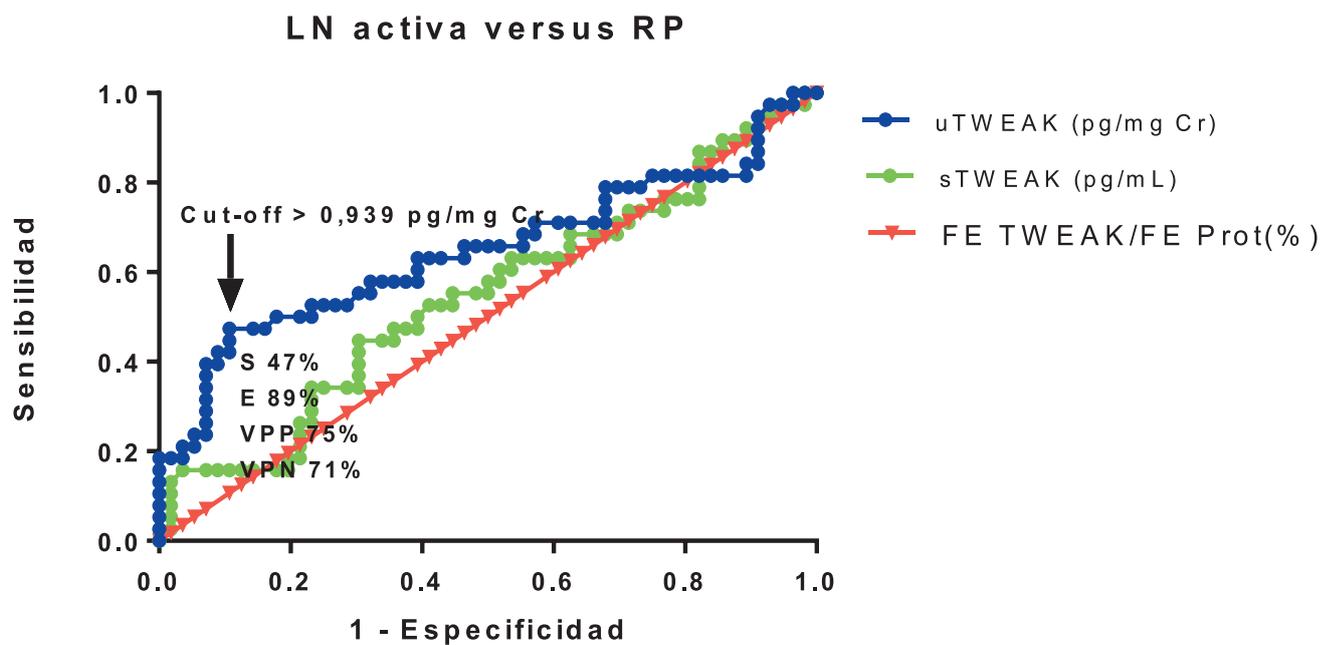


C



Área bajo la curva = 0,758

D



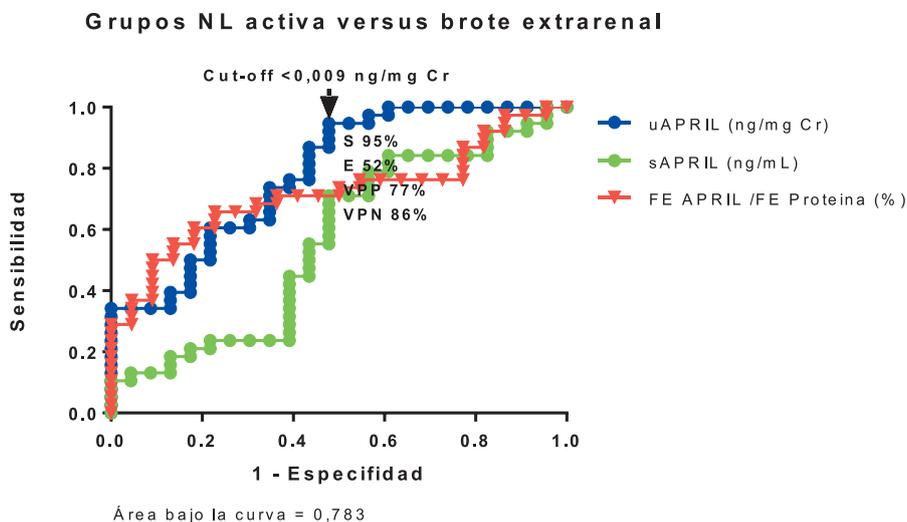
Área bajo la curva = 0,634

FIGURA 16: Curvas ROC para calcular la sensibilidad/especificidad de los niveles urinarios de TWEAK normalizado (●) séricos (●) y el ratio de la fracción de excreción de TWEAK en relación a la fracción de excreción de proteínas (FE TWEAK /FE proteína) (%) (▼) para discriminar NL activa de brote no renal (A), LES inactivo (B), respuesta completa (C) o respuesta parcial (D). VPP, valor predictivo positivo, VPN, valor predictivo negativo.

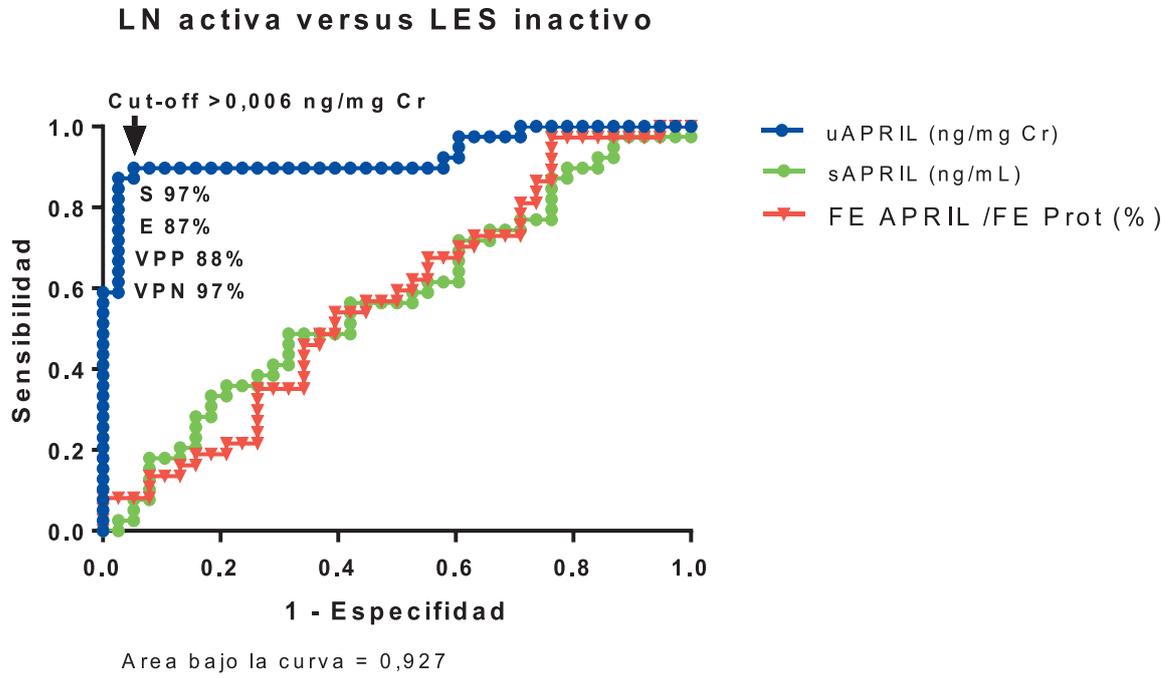
APRIL

Se calcularon las curvas ROC con los valores urinarios y séricos de APRIL y su fracción de excreción en relación con la fracción de excreción de proteínas totales (FE APRIL/FE proteína) para diferenciar a los pacientes con NLA de aquellos con LES y brote extrarenal, LES inactivo o pacientes con afectación renal que tras el tratamiento habían conseguido una RC o una RP). Los niveles urinarios de APRIL mostraron la mejor curva ROC para este biomarcador en todas las situaciones clínicas (Figura 17 A, B, C, D) diferenciando los pacientes con NLA del aquellos afectos por un brote extrarenal [ROC AUC 0,783 (IC del 95%: 0,663- 0,903)] (Figura 17 A), LES inactivo [ROC AUC 0,927 (IC del 95% : 0,863- 0,991)] (Figura 17 B), y NL que se encontraban en RC [ROC AUC 0,938 (IC del 95%: 0,880- 0,996)] (Figura 17 C) y en RP [ROC AUC 0,701 (IC del 95%: 0,597- 0,806)] (Figura 17 D), respectivamente.

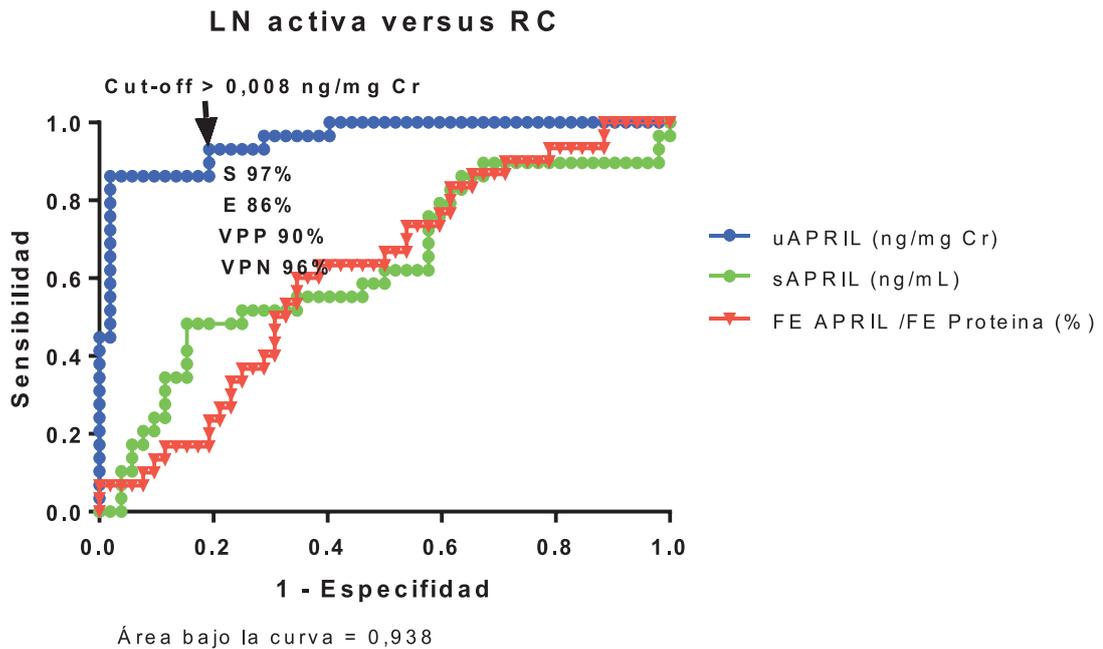
A



B



C



D

Grupos NL activa versus RP

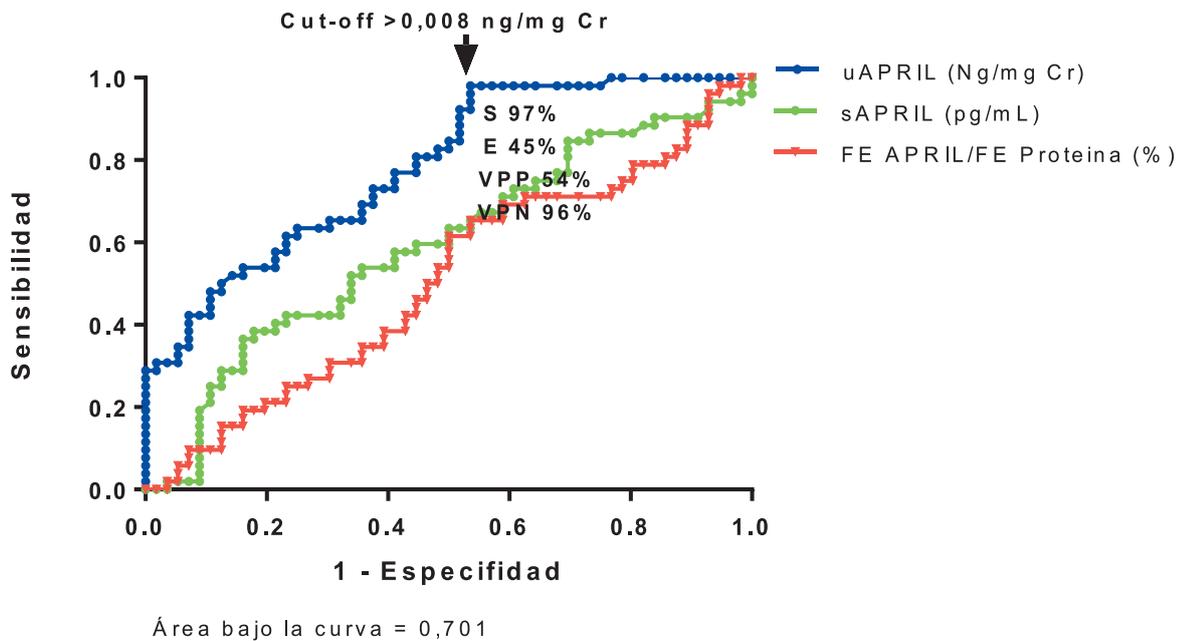


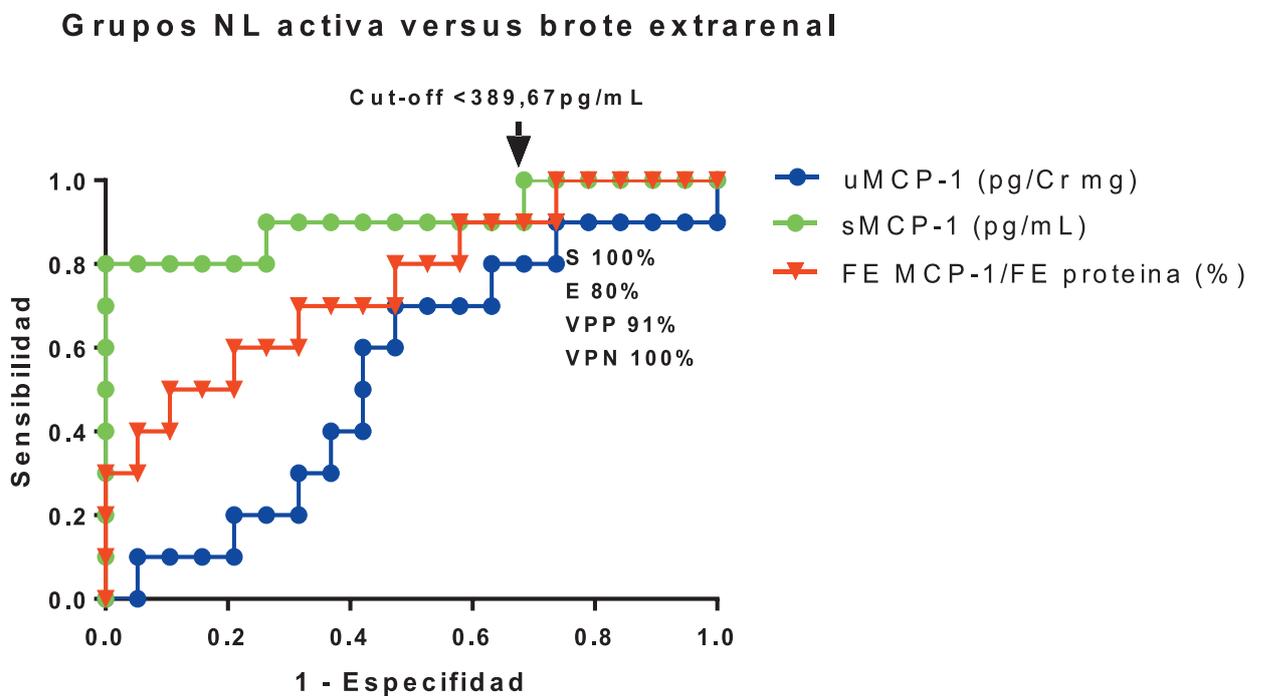
FIGURA 17: Curvas ROC para calcular la sensibilidad/especificidad de los niveles urinarios de APRIL normalizado (●) séricos (●) y el ratio de la fracción de excreción de APRIL en relación a la fracción de excreción de proteínas (FE april/FE proteina) (%) (■) para discriminar NL activa de brote no renal (A), LES inactivo (B), respuesta completa (C) o respuesta parcial (D). VPP, valor predictivo positivo, VPN, valor predictivo negativo.

MCP-1

Se calcularon las curvas ROC con los valores urinarios y séricos de MCP-1 y su fracción de excreción en relación a la fracción de excreción de proteínas totales (FE MCP-1 /FE proteína) para diferenciar a los pacientes con NLA de aquellos pacientes con LES y brote extrarenal, LES inactivo o pacientes con afectación renal que tras el tratamiento habían conseguido una RC o una

RP. Los niveles de sMCP-1 (pg/mL) < 389,67 mostraron las mejores curvas para diferenciar los pacientes con NLA de pacientes con LES y brote extrarenal [ROC AUC 0,905 (IC del 95%: 0,767- 1,000)] (Figura 18 A), los niveles de uMCP-1 superiores a 0,2016 y 0,5853 pg/mg mostraron las mejores curvas para diferenciar los pacientes con NLA de aquellos pacientes con afectación renal que tras el tratamiento habían conseguido alcanzar una RC o una RP [ROC AUC 0.865 (IC del 95% : 0,687- 1,000) y [ROC AUC 0.803 (IC del 95% : 0,634- 0,972)] (Figura 18 C y D), respectivamente. Los niveles del ratio FE MCP-1 /FE proteína < 20,632 % mostraron la mejor curva para diferenciar los pacientes con NLA y LES inactivo [ROC AUC 0,702 (IC del 95%: 0,482- 0,921)] (Figura 18 B).

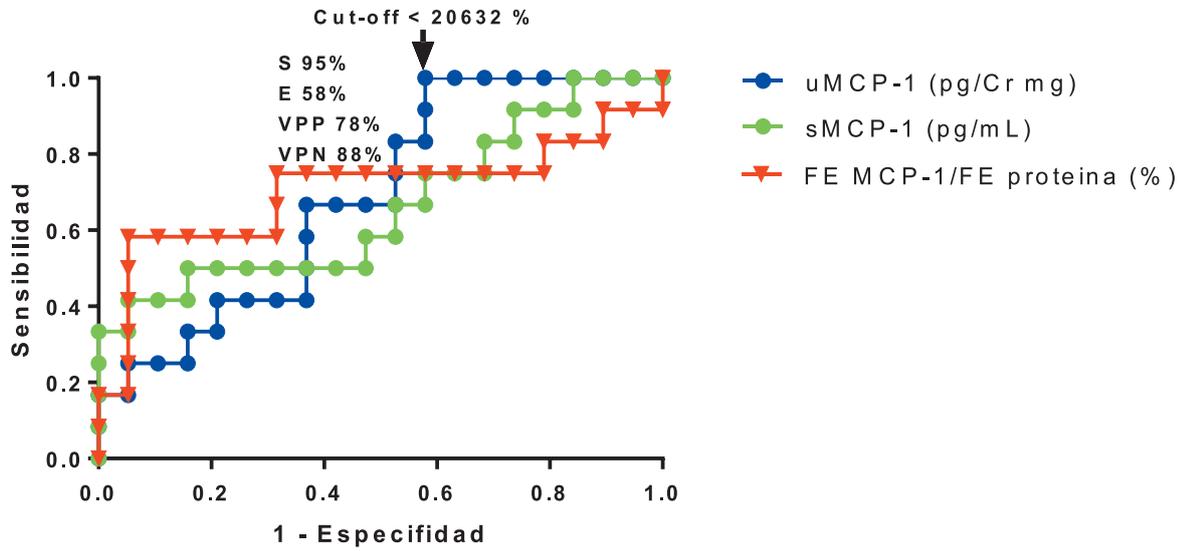
A



Área bajo la curva = 0,905

B

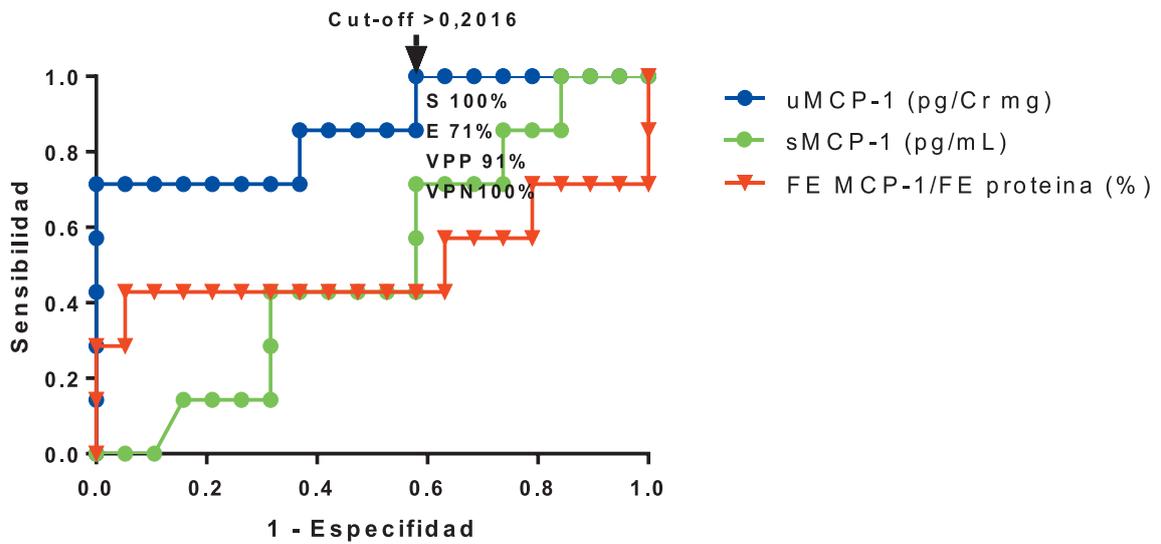
Grupos NL activa versus LES inactivo



Área bajo la curva = 0.702

C

Grupos NL activa versus RC



Área bajo la curva = 0,865

D

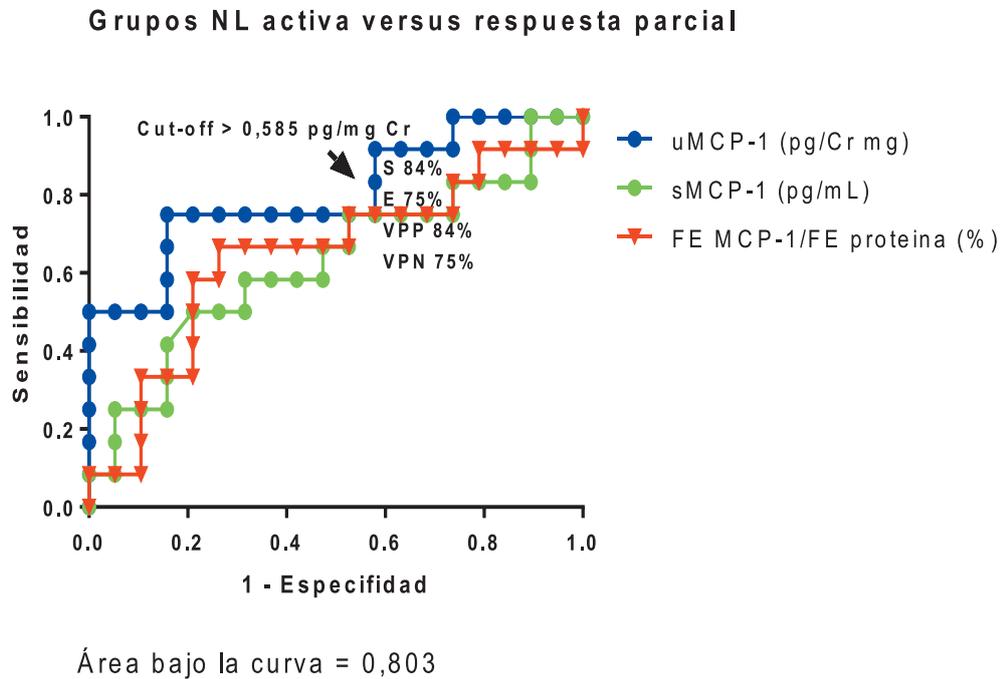


FIGURA 18: Curvas ROC para calcular la sensibilidad/especificidad de los niveles urinarios de MCP-1 normalizados (pg/mg Cr) (●) séricos (pg/mL) (●) y el ratio de la fracción de excreción de MCP-1 en relación a la fracción de excreción de proteínas (FE MCP-1 /FE proteina) (%) (▼) para discriminar NL activa de brote no renal (A), LES inactivo (B), respuesta completa (C) o repuesta parcial (D). VPP, valor predictivo positivo, VPN, valor predictivo negativo.

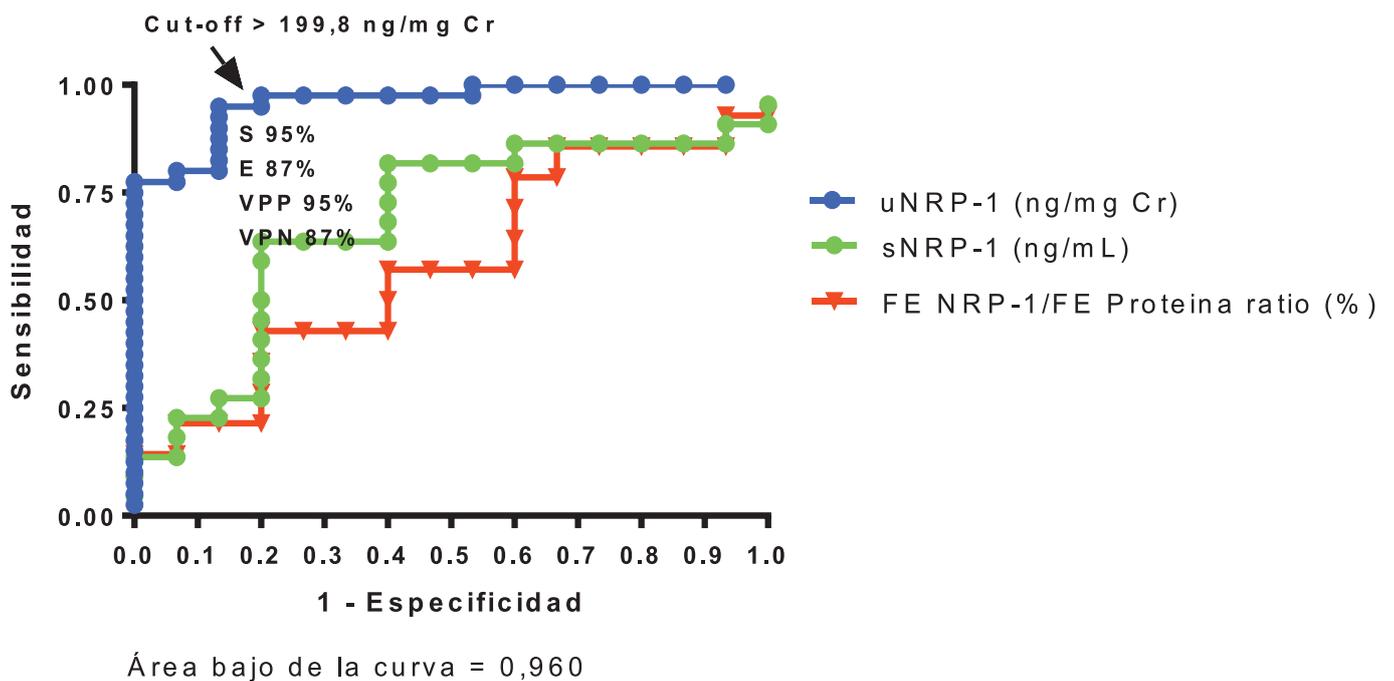
NRP-1

En el estudio transversal se calcularon las curvas ROC para los valores urinarios y séricos de NRP-1 y su fracción de excreción en relación con la fracción de excreción de proteínas totales (ratio FE NRP-1/FE proteina) para diferenciar pacientes con NLA y pacientes con LES y brote extrarenal (Figura 19 A), LES inactivo (Figura 19 B) o pacientes con afectación renal que tras el

tratamiento habían conseguido una RC (Figura 19 C). Los niveles de urinarios de NRP-1 mostraron las mejores curvas ROC en todas las condiciones. De este modo, niveles de uNRP-1 (pg/mg Cr) superiores 199,68 y 143,66 mostraron las mejores curvas para diferenciar los pacientes con NLA de los pacientes con LES y brote extrarenal [ROC AUC 0,960 (IC del 95%:0,912- 1,000)] (Figura 15 A), y LES inactivo [ROC AUC 0,962 (IC del 95%:0,912- 1,000)] (Figura 15 B), respectivamente, y los superiores a 405,27 y 319,47 mostraron las mejores curvas para diferenciar a los pacientes con NLA de aquellos pacientes con afectación renal que tras el tratamiento habían conseguido alcanzar una RC o una RP [ROC AUC 0,896 (IC del 95% : 0,803- 0,990) y [ROC AUC 0,886 (IC del 95% : 0,811- 0,960)] (Figura 15 C y D), respectivamente.

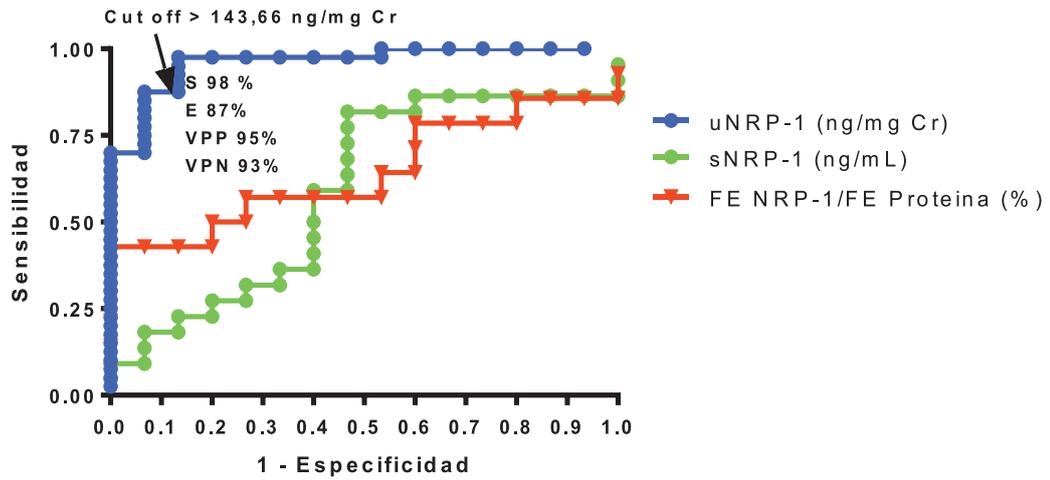
A

Grupos NL activa versus Brote Extrarenal



B

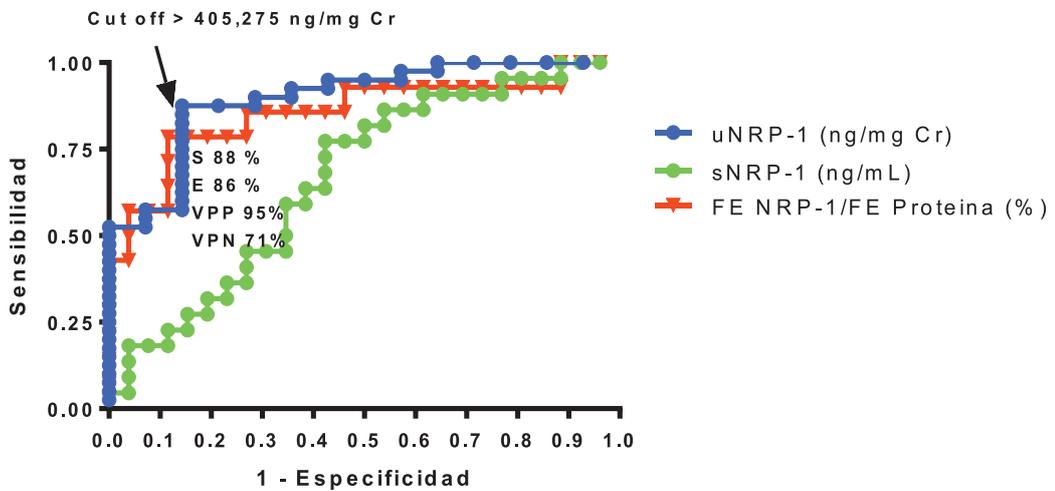
Grupos NL activa versus LES inactivos



Area bajo de la curva = 0,962

C

Grupos NL activa versus RC



Área bajo de la curva = 0,896

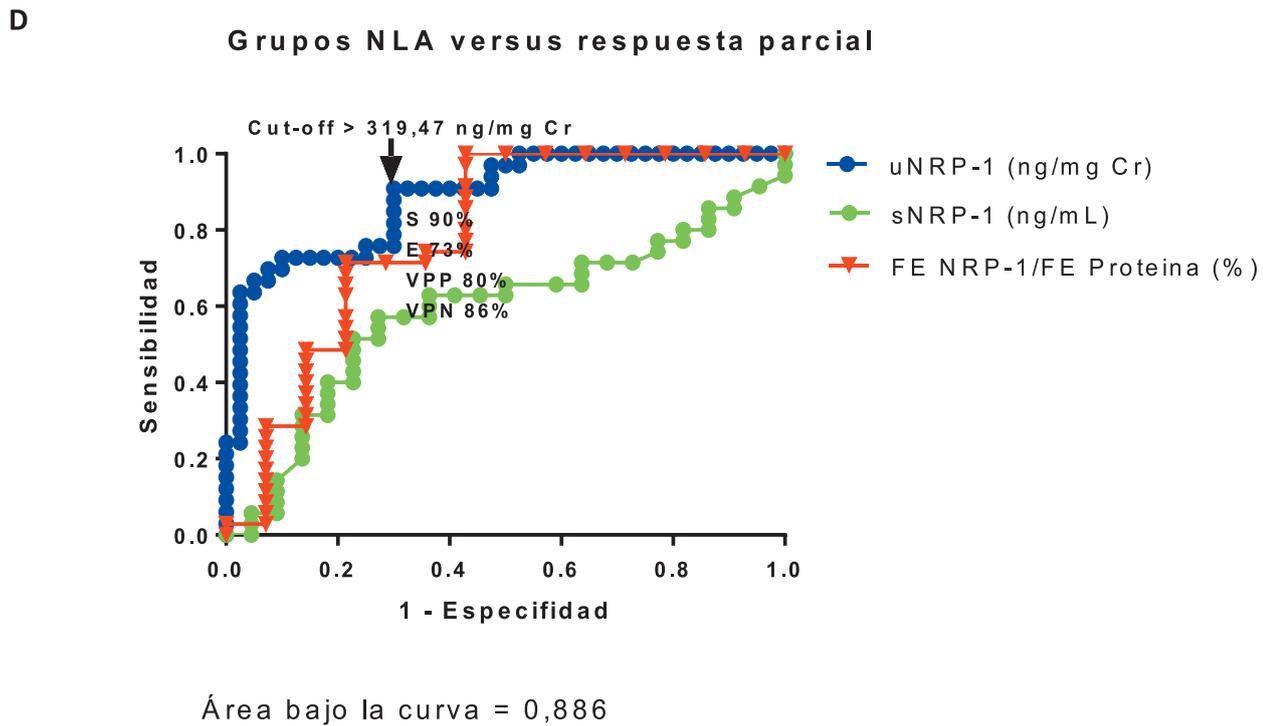


FIGURA 19: Curvas ROC para calcular la sensibilidad/especificidad de los niveles urinarios de NRP-1 normalizado (●) séricos (●) y el ratio de la fracción de excreción de NRP-1 en relación a la fracción de excreción de proteínas (FE MCP-1 /FE proteína) (%) (▼) para discriminar NL activa de brote no renal (A), LES inactivo (B), respuesta completa (C) o repuesta parcial (D). VPP, valor predictivo positivo, VPN, valor predictivo negativo.

7.3.1 Estudio comparativo de la utilidad clínica de los biomarcadores como marcadores de nefritis lúpica activa.

Los resultados obtenidos en las curvas ROC han permitido diferenciar a los pacientes con NLA de aquellos pacientes con LES y enfermedad renal que tras el tratamiento han alcanzado una respuesta parcial o completa, de los que presentan un brote extrarenal de la enfermedad, o un LES inactivo, y determinar la utilidad de cada biomarcador en cada situación clínica, detallándose a continuación los mejores resultados para cada

biomarcador (Tabla 3, 4, 5 y 6).

Tres de los biomarcadores estudiados mostraron una curvas excelentes para diferenciar los pacientes con NLA de aquellos con un brote extrarenal: el ratio FE NGAL/ FE Proteína (%) (AUC de 0,911), el MCP-1 sérico (pg/mL) (AUC de 0,905) y el NRP-1 urinario (ng/mg Cr) (AUC de 0,960). Los valores de uRNP-1 mayores a 199,88 ng/mg Cr mostraron una sensibilidad del 95% y una especificidad del 87% para diferenciar ambos grupos (Tabla 3)

Tabla 3. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de los biomarcadores para diferenciar el grupo de NLA del grupo con brote extrarenal.						
Biomarcador	AUC	Cut-off	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)
Ratio FE NGAL/FE proteína (%)	0,911	>2,350	81	81	94	74
Ratio FE TWEAK/FE proteína (%)	0,870	<1307,17	76	87	91	69
uAPRIL (ng/mg Cr)	0,783	>0,009	95	52	77	86
sMCP-1 (pg/mL)	0,905	>389,67	100	80	91	100
uNRP-1 (ng/mg Cr)	0,960	>199,88	95	87	95	87

AUC, área bajo la curva ROC; VPP, valor predictivo positivo; VPN, valor predictivo negativo; Ratio FE NGAL/ FE Proteína (%), Fracción de excreción (FE) de NGAL en relación a la fracción de excreción de proteínas; uTWEAK (pg/mg Cr), factor de necrosis tumoral inductor débil de la apoptosis normalizado con los niveles de creatinina urinaria; uAPRIL (ng/mg Cr), Ligando inductor de la proliferación normalizada con los niveles de creatinina urinaria ; sMCP-1(pg/mL), Proteína quimiotáctica de los monocitos tipo 1 sérica; uRNP-1 (ng/mg Cr), Neuropilina-1 urinaria normalizada con los niveles de creatinina urinaria.

Para diferenciar el grupo de pacientes con NLA y el de pacientes con LES inactivo los valores de NRP-1 urinario (ng/mg Cr) >143,66 mostraron la mejor curva ROC con una AUC de 0,962 y una sensibilidad del 98 % y una especificidad del 87% para diferenciar ambos grupos (Tabla 4).

Tabla 4. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de los biomarcadores para diferenciar el grupo de NLA del grupo con LES inactivo.

Biomarcador	AUC	Cut-off	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)
Ratio FE NGAL /FE proteína (%)	0,909	>2.250	89	88	87	90
Ratio FE TWEAK/FE proteína (%)	0,802	<1297,47	76	70	73	74
uAPRIL (ng/mg/Cr)	0,927	<0,006	97	87	88	97
Ratio FE MCP-1/ FE proteína (%)	0,702	<20.632	95	58	78	88
uNRP-1(ng/mg Cr)	0,962	>143,66	98	87	95	93

AUC, área bajo la curva ROC; VPP, valor predictivo positivo; VPN, valor predictivo negativo; Ratio FE NGAL/ FE Proteína (%), Fracción de excreción (FE) de NGAL en relación a la fracción de excreción de proteínas; uTWEAK (pg/mg Cr) factor de necrosis tumoral inductor débil de la apoptosis normalizado con los niveles de creatinina urinaria; uAPRIL/(ng/mg/Cr), Ligando inductor de la proliferación normalizada con los niveles de creatinina urinaria ; Ratio MCP-1/ FE Proteína (%), Fracción de excreción (FE) de la proteína quimiotáctica de los monocitos tipo 1 en relación a la fracción de excreción de proteínas; uRNP-1, uNRP-1 (ng/mg Cr), Neupilina-1 urinaria normalizada con los niveles de creatinina urinaria.

Con el objetivo de diferenciar el grupo con NLA de aquel con NL que tras el tratamiento habían conseguido alcanzar una RC o una RP se calcularon curvas con ROC mostrando los valores de la ratio FE NGAL/FE Proteína = 2,350% la mejor curva ROC en la primera situación clínica [ROC AUC 0,941 (IC del 95% 0,887- 0,996)] y los niveles de uNRP-1 >319,47 ng/mg Cr en la segunda situación clínica [ROC AUC 0,886 (IC del 95% 0,811- 0,960)] (Tabla 5 y 6).

Biomarcador	AUC	Cut-off	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)
Ratio FE NGAL /FE proteína (%)	0,941	=2,350	89	86	89	86
Ratio TWEAK/FE proteína (%)	0,758	<1080,7	71	76	79	67
uAPRIL (ng/mg Cr)	0,938	>0,008	97	86	90	96
uMCP-1 (pg/mg Cr)	0,846	>0,2016	100	71	91	100
uNRP-1 (ng/mg Cr)	0,896	>405,27	88	86	95	71

AUC, área bajo la curva ROC; VPP, valor predictivo positivo; VPN, valor predictivo negativo; Ratio FE NGAL/ FE Proteína (%), Fracción de excreción (FE) de NGAL en relación a la fracción de excreción de proteínas; uTWEAK (pg/mg Cr) factor de necrosis tumoral inductor débil de la apoptosis normalizado con los niveles de creatinina urinaria; Ratio FE APRIL/ FE Proteína (%), Fracción de excreción (FE) de APRIL en relación a la fracción de excreción de proteínas; uMCP-1 (pg/mg/Cr), Proteína quimiotáctica de los monocitos tipo 1 urinaria normalizada con los niveles de creatinina urinaria ; uNRP-1 (ng/mg Cr), Neuropilina-1 urinaria normalizada con los niveles de creatinina urinaria.

Tabla 6. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de los biomarcadores para diferenciar el grupo de NLA del grupo en RP.						
Biomarcador	AUC	Cut-off	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)
Ratio FE NGAL /FE proteína (%)	0,636	>0,022	89	39	49	85
uTWEAK (pg/mg Cr)	0,634	>0,939	47	89	75	71
uAPRIL (ng/mg Cr)	0,701	>0,008	97	45	54	96
uMCP-1 (pg/mg Cr)	0,803	<0,585	84	75	84	75
uNRP-1(ng/mg Cr)	0,886	>319,47	90	73	80	86

AUC, área bajo la curva ROC; VPP, valor predictivo positivo; VPN, valor predictivo negativo; Ratio FE NGAL/ FE Proteína (%), Fracción de excreción (FE) de NGAL en relación a la fracción de excreción de proteínas; uTWEAK (pg/mg Cr) factor de necrosis tumoral inductor débil de la apoptosis normalizado con los niveles de creatinina urinaria; Ratio FE APRIL/ FE Proteína (%), Fracción de excreción (FE) de APRIL en relación a la fracción de excreción de proteínas; uMCP-1 (pg/mg/Cr), Proteína quimiotáctica de los monocitos tipo 1 urinaria normalizada con los niveles de creatinina urinaria; uNRP-1, uNRP-1 (ng/mg Cr), Neuropilina-1 urinaria normalizada con los niveles de creatinina urinaria.

A continuación en la tabla 7, se resumen los mejores biomarcadores para diferenciar el grupo de pacientes con NLA de los diferentes grupos clínicos estudiados. De este modo, los valores de urinarios de NRP-1 (ng/mg Cr) superiores a 199,88, 143,66 y 319,47 mostraron las mejores curva ROC para diferenciar el grupo de NLA de aquellos con brote extrarenal [ROC AUC 0,960 (IC del 95%:0,912- 1,000)], LES inactivo [ROC AUC 0,962 (IC del 95%:0,912- 1,000)] y RP [ROC AUC 0,886 (IC del 95%: 0,811- 0,960)], respectivamente. El ratio de FE NGAL/ FE Proteína = 2,350 % mostró la mejor curva para

diferenciar los pacientes con NLA de aquellos que habían conseguido tras el tratamiento una RC [ROC AUC 0,94 (IC del 95% 0,887- 0,996)].

Tabla 7. Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de los biomarcadores para diferenciar la NLA de los diferentes de grupos clínicos				
Grupos	Brote extrarenal	LES inactivo	RC	RP
Biomarcador	uRNP-1(ng/mg Cr)	uRNP-1(ng/mg Cr)	Ratio FE NGAL/ FE Proteína (%)	uRNP-1 (ng/mgCr)
AUC	0,960	0,962	0,941	0,886
Cut-off	>199,88	>143,66	=2,350	>319,47
Sensibilidad (%)	95	98	89	90
Especificidad (%)	87	87	86	73
VPP (%)	95	95	89	80
VPN (%)	87	93	86	86

LES, Lupus Eritematoso Sistémico; RC, Respuesta completa; RP, Respuesta parcial; uRNP-1 (ng/mg/Cr), Neuropilina-1 urinaria normalizada con los niveles de creatinina urinaria; Ratio FE NGAL/ FE Proteína (%), Fracción de excreción (FE) de NGAL en relación a la fracción de excreción de proteínas; AUC, área bajo la curva ROC; VPP, valor predictivo positivo; VPN, valor predictivo negativo.

7.4 Estudio de los biomarcadores del estudio durante la evolución de la NL.

Después de estudiar los biomarcadores urinarios en los diferentes grupos de pacientes con LES con y sin afectación renal, nuestro objetivo fue determinar los niveles de los biomarcadores de forma prospectiva durante la evolución de la NL y evaluar su valor predictivo para brote renal, remisión completa, y progresión a insuficiencia renal crónica. Asimismo, mediante el estudio comparativo de los diferentes biomarcadores se evaluó

su utilidad en la práctica clínica en las diferentes situaciones anteriormente descritas así como su valor pronóstico de remisión completa en el momento del diagnóstico.

Durante el período de seguimiento, se obtuvieron un total de 278 observaciones respecto a puntos de referencia en el tiempo. La mediana (Q1-Q3) del número de visitas para los pacientes fue de 4,00 (2,00- 6,00) y el intervalo de tiempo entre las visitas en meses fue de 1,00 (1,00- 3,00). Durante el seguimiento no se perdieron pacientes y fueron seguidos durante una media de 12 meses (3- 30).

7.4.1. Brote renal

Durante la realización del estudio, 13 de los pacientes (29%) presentaron 15 brotes, 11 de los cuales fueron proteinúricos (67%) y 4 nefríticos (33%). Con el objetivo de valorar la presencia de brote renal en los pacientes con LES se determinaron los niveles de los biomarcadores antes y durante el brote renal y se calculó su valor predictor.

7.4.1.1. Evolución de los niveles de los biomarcadores antes y durante el brote renal.

Para el estudio del brote renal, se categorizó el curso de la NL basándose en el cambio de actividad de la enfermedad respecto a la presencia de brote (tiempo A). El cambio de actividad de la enfermedad se determinó comparando 2 puntos en el tiempo: el momento del brote renal (tiempo A) y el tiempo de las anteriores visitas (– A1, – A2) para el total

de brotes y para aquellos del subtipo proteinúrico, ya que fueron los más prevalentes. No se analizaron los brotes nefríticos dado el escaso número de pacientes en este grupo.

NGAL

Antes del brote se observó un aumento progresivo aunque ligero en los niveles urinarios y séricos de NGAL alcanzando ambos su valores máximos en el momento del brote, tiempo (A), encontrándose en ambos casos una diferencia estadísticamente significativa con los valores de NGAL presentes 6 meses antes del brote (-A2) (tabla 8).

Así mismo, se observó un aumento del ratio FE NGAL/FE proteína el tiempo -A1 (3 meses antes del brote) disminuyendo posteriormente en el momento del brote. Estos cambios se acompañaban en el tiempo de valores elevados del rSLEDAls de forma persistente (Tabla 8).

Cuando se analizaron los brotes proteinúricos, se observó un aumento progresivo en los niveles de uNGAL, al igual que para el global de brotes, siendo la diferencia entre los niveles del brote y los 6 meses previos (tiempo – A2) estadísticamente significativa (Tabla 9). Así mismo se observó una disminución progresiva aunque no estadísticamente significativa de los niveles séricos de NGAL (tabla 9).

Al igual que sucedía en el estudio de brotes totales se observó un aumento de los valores del ratio de FE NGAL/FE proteína en las visitas previas al brote (tiempos – A2 y - A1), disminuyendo los valores posteriormente en el momento del brote, el único cambio estadísticamente significativo se observó entre el momento del brote y la visita previa (Tabla 9).

Tabla 9. Niveles longitudinales de rSLEDAls, NGAL urinario y sérico y ratio FE NGAL/ FE Proteína, en el momento del brote proteinúrico									
Tiempo de referencia en el tiempo (A) = Brote (N = 15)									
Tiempos ^a	-A2	-A1	A	A - (-A1)	A - (-A2)	-A1 - (-A2)	A vs -A1	A vs -A2	P
				Media entre los diferentes tiempos (IC 95%)					
rSLEDAl-2K ^b	9 (7- 11)	9 (8- 11)	10 (8- 11)	-1 (-2.8- 0.65)	-1 (-3.5- 1.4)	0 (-2- 2)	NS	NS	NS
uNGAL(ng/Cr mg)	0,3 (0,2- 0,4)	0,4 (0,3- 0,6)	0,7 (0,4- 1,1)	0,2 (-0,12- 0,61)	0,34 (0,01- 0,7)	0,1 (-0,07- 0,27)	NS	0,039	NS
sNGAL (ng/mL)	443 (271-722)	424 (277-651)	393 (250-618)	-32 (-216- 152)	-50 (-162-63)	-18 (-169- 133)	NS	NS	NS
FE NGAL/ FE Proteína (%)	16 (10- 28)	28 (15- 53)	12 (6- 21)	-17 (-34-1,23)	-5 (-15-5,2)	12 (-4- 28)	0,077	NS	NS

rSLEDAl-2K, SLEDAl- 2K renal; uNGAL (ng/mg Cr), Lipocalina de los neutrófilos asociada a la gelatinasa urinaria normalizada con los niveles de creatinina urinaria; sNGAL (ng/mL), Lipocalina de los neutrófilos asociada a la gelatinasa sérica; Ratio FE NGAL/ FE Proteína (%), Fracción de excreción (FE) de NGAL en relación a la fracción de excreción de proteínas; CI 95% = intervalo de confianza del 95%; NS = no significativa

^a Tiempo -A2 = tiempo correspondiente al momento de realización de 2 visitas previas al momento de referencia; tiempo -A1 = tiempo correspondiente al momento de la realización de la visita previa al momento de referencia; tiempo A (Brote) = punto de referencia en el tiempo en el que la enfermedad fue definida. ^b El SLEDAl renal fue calculado mediante el sedimento urinario que muestra la presencia de proteinúria, hematuria, piuria y cilindros urinarios, puntuándose la presencia de cada uno de ellos con 4 puntos de un rango total de 0 a 16.

TWEAK

Se observaron variaciones en los niveles de TWEAK urinario y sérico y en el ratio FE TWEAK/FE proteína en las visitas previas al brote aunque ninguna de ellas fue estadísticamente significativa (Tabla 10) acompañándose de un aumento del rSLEDAs persistentemente en el tiempo (Tabla 10). En el subgrupo de brote proteinúrico, tampoco se observaron diferencias significativas en los niveles de TWEAK sérico y urinario antes del brote. Al igual, que sucedía para el total de brotes se observó un aumento del ratio de FE TWEAK/FE proteína en las visitas previas al brote (-A2 y -A1) disminuyendo posteriormente en el momento del brote. Ninguno de estos cambios alcanzó la significación estadística, aunque el descenso del ratio de FE TWEAK/FE proteína producido en el momento de brote respecto a la visita previa si mostró una tendencia a la significación estadística (Tabla 11). No se analizaron los datos para los brotes nefríticos debido a su número pequeño.

APRIL

Se observó un incremento de los valores de urinarios y séricos de APRIL y del ratio de FE APRIL/FE proteína entre los tiempos -A2 (6 meses antes del brote) y -A1 (3 meses antes del brote) pero ninguno de ellos alcanzó la significación estadística (Tabla 12). En el análisis del grupo de pacientes con brote proteinúrico, se observó entre los 6 (tiempo -A2) y 3 meses antes del brote (tiempo -A1) un aumento de los valores urinarios y séricos de APRIL y del ratio FE APRIL/FE proteína, manteniéndose estables los niveles urinarios y disminuyendo los séricos y el ratio FE APRIL/FE proteína en el momento del brote (tiempo A). Únicamente los cambios entre los valores urinarios entre el brote y los 6 meses previos (tiempos A y -A2) ($p < 0,05$) y el ratio de FE APRIL/FE proteína entre el momento del brote y la visita previa ($p < 0,05$) fueron estadísticamente significativos (Tabla 13).