

Información Importante

La Universidad de La Sabana informa que el(los) autor(es) ha(n) autorizado a usuarios internos y externos de la institución a consultar el contenido de este documento a través del Catálogo en línea de la Biblioteca y el Repositorio Institucional en la página Web de la Biblioteca, así como en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad de La Sabana.

Se permite la consulta a los usuarios interesados en el contenido de este documento, para todos los usos que tengan finalidad académica, nunca para usos comerciales, siempre y cuando mediante la correspondiente cita bibliográfica se le dé crédito al trabajo de grado y a su autor.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, La Universidad de La Sabana informa que los derechos sobre los documentos son propiedad de los autores y tienen sobre su obra, entre otros, los derechos morales a que hacen referencia los mencionados artículos.

BIBLIOTECA OCTAVIO ARIZMENDI POSADA
UNIVERSIDAD DE LA SABANA
Chía - Cundinamarca

El presente formulario debe ser diligenciado por cada documento ó por cada colección* de documentos con el fin de generar datos idóneos que permitan clasificar y catalogar los documentos y de esa manera lograr una efectiva recuperación de información así como la visualización necesaria para su consulta. Debe remitirse a la Biblioteca en formato impreso adjunto al cd-rom con los contenidos

* Colección de documentos se define como una agrupación documental con características de contenido muy similar



Universidad de
La Sabana

DOCUMENTO DIGITAL PARA REPOSITORIO

El presente formulario debe ser diligenciado en su totalidad como constancia de entrega del documento para ingreso al Respositorio Digital (Dspace).

TITULO	Niveles de citocinas pro Th1 en orina de pacientes con lupus eritematoso sistémico		
SUBTITULO	Citoquinas en orina en lupus		
AUTOR(ES) Apellidos, Nombres (Completo) del autor(es) del trabajo	Rueda Sanchez, Juan Camilo		
	Rosero Revelo, Ricardo Javier		
PALABRAS CLAVE (Mínimo 3 y máximo 6)	Lupus		actividad lupica
	citoquinas		
	nefritis		
RESUMEN DEL CONTENIDO (Mínimo 80 máximo 120 palabras)	Los estudios han sugerido que hay un imbalance en la producción de células T helper,		
	(Th1 y Th2) que juega un papel importante en la patogénesis del LES		
	Además, se ha demostrado el predominio de genes de expresión de las citocinas Th1 y MCP-1		
	en el sedimento urinario de pacientes con nefritis lupica activa		
	Se realizó un análisis cuantitativo de las citocinas pro Th-1 (IL-18) y MCP-1 en sedimento urinario de		
	pacientes con LES		
	Nuestros resultados confirman observaciones previamente mencionadas		
	donde hubo elevación de los niveles de MCP-1 en sedimento urinario en pacientes con nefritis lupica		
	además esta es la primera vez que se midió las citocinas pro Th1 (IL-18) en orina		
	encontrando elevación en este mismo grupo de pacientes		

Autorizo (amos) a la Biblioteca Octavio Arizmendi Posada de la Universidad de La Sabana, para que con fines académicos, los usuarios puedan consultar el contenido de este documento en las plataformas virtuales de la Biblioteca, así como en las redes de información del país y del exterior, con las cuales tenga convenio la Universidad.

De conformidad con lo establecido en el artículo 30 de la Ley 23 de 1982 y el artículo 11 de la Decisión Andina 351 de 1993, "Los derechos morales sobre el trabajo son propiedad de los autores", los cuales son irrenunciables, imprescriptibles, inembargables e inalienables.

2013

**NIVELES DE
CITOCINAS PRO TH1
EN ORINA DE
PACIENTES CON
LUPUS ERITEMATOSO
SISTÉMICO**

Las citocinas urinarias parecen jugar un papel en la modulación de la respuesta inmune en la actividad lúpica. La evidencia actual sugiere que las citocinas pro-Th1 tienen un papel patogénico de mayor preponderancia que las citocinas pro-Th2 en la nefritis lúpica.

AUTORES:

Ricardo Rosero

Juan Camilo Rueda

TUTOR TEMÁTICO:

Dr. Alberto De Zubiría

Dra. Paola Santander

TUTOR EPIDEMIOLÓGICO:

Dr. Carlos E. Granados G. Universidad de la Sabana

UNIDAD ACADÉMICA:

Hospital Universitario de la Samaritana

UNIDAD INVESTIGATIVA:

Grupo de Investigación (GICSA) Hospital Universitario de la Samaritana

TÍTULO DEL PROYECTO:

NIVELES DE CITOCINAS PRO TH1 EN ORINA DE PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO.

INTRODUCCIÓN:

El lupus eritematoso sistémico (LES) es el prototipo de enfermedad autoinmune, pues puede tener un gran abanico de manifestaciones. Puede afectar cualquier órgano del cuerpo humano pero el compromiso renal (nefritis lúpica) puede asociarse a una alta morbilidad y progresión a enfermedad renal terminal (1).

La incidencia del LES oscila entre 1.8 a 7.6 casos por 100.000 habitantes, con una prevalencia de 4 a 250 casos por 100.000 (1). La incidencia del compromiso renal es más variable y oscila entre 25 y 75% dependiendo de la población estudiada y los criterios diagnósticos utilizados para identificar el compromiso renal (clínica versus biopsia) (2-5). En general, el 60% de los pacientes con LES desarrollarán nefritis de relevancia clínica durante el curso de su enfermedad (1). La presencia de nefritis lúpica tiende a presentarse en forma temprana aunque puede aparecer en cualquier etapa de la enfermedad y en la mayoría de los casos aparece en los primeros tres años del inicio de la enfermedad (6, 7). Por otra parte, las poblaciones afroamericanas e hispanas parecen desarrollar nefritis más frecuentemente y en forma más temprana y severa (6, 8) La glomérulo nefritis que lleva a proteinuria severa persistente, falla renal y enfermedad renal terminal sigue siendo una de las complicaciones más severas del LES con una morbilidad y mortalidad significativa (9).

Niveles de citocinas pro TH 1 en pacientes con lupus eritematoso sistémico.



MARCO TEÓRICO:

El LES es una enfermedad autoinmune caracterizada por un ambiente de citocinas aberrantes y compromiso multiorgánico (10, 11). Muchas citocinas han sido implicadas en la regulación de la actividad de la enfermedad (12). La producción de citocinas en pacientes con LES difiere de los controles sanos y de los pacientes con otras enfermedades autoinmunes como la artritis reumatoidea (12). Inclusive, la producción de citocinas cambia con diferentes fenotipos de la enfermedad (12). Por ejemplo, la interleuquina 6 (IL6) parece estar aumentada en el líquido cefalorraquídeo de pacientes con compromiso del sistema nervioso central por LES pero no en pacientes con LES sin síntomas neurológicos (13). De igual forma, como en otras enfermedades inflamatorias, el balance entre las citocinas es más importante en el momento de determinar el fenotipo o la severidad, que en determinar la susceptibilidad a la enfermedad (12). El desequilibrio entre la producción de citocinas producidas por dos subtipos de células T-ayudadoras (Th), Th1 y Th2, juega un papel importante en la patogénesis del LES (14). La naturaleza del estímulo, así como el tipo de célula presentadora de antígeno (CPA) y las citocinas, determina la vía de respuesta por parte de los linfocitos T. Los linfocitos pre-Th que son estimulados por células dendríticas, interleuquina 12 (IL12) e interleuquina 18 (IL18) se transformarán en linfocitos secretores de citocinas Th1 (15). A su vez los linfocitos pre-Th que son estimulados por basófilos, la molécula co-estimuladora B7 e interleuquina-4 (IL4) se transformaran en linfocitos secretores de citocinas Th2 (15). La respuesta que se genera frente a un antígeno y el balance de las citocinas secretadas en respuesta al mismo, permite que los linfocitos pre-Th se polaricen generando una respuesta u otra (Th1 o Th2) (15). De esta manera, una respuesta Th1 inhibe la formación de linfocitos Th2 vía IL12 e interferón gamma (IFN- γ), mientras que una respuesta Th2 inhibe la formación de linfocitos Th1 vía IL4 (15). Chan y colaboradores mostraron en sus estudios de expresión génica en nefritis lúpica como algunas citocinas tienen relación con lesiones segmentarias a nivel renal (IFN- γ , interleuquina 10 (IL 10), IL12 e IL18 (16). Pero estas no tienen correlación con la cronicidad de las mismas (16). De Igual manera es importante resaltar como este estudio demostró que la expresión génica a nivel renal no es afectada por la actividad sistémica del lupus o la dosis de corticoides (16).

Aunque el LES es generalmente considerado un prototipo de enfermedad dominado por citocinas pro-Th2, reportes recientes de trabajos en modelos animales y en humanos han demostrado la importancia del papel de las citocinas pro-Th1. Más aun, modelos de nefritis lúpica han demostrado el papel principal patogénico de las citocinas pro-Th1 en su desarrollo y severidad (17). La nefritis lúpica es una enfermedad inflamatoria mediada inmunológicamente caracterizada por un gran depósito de complejos inmunes que se acumulan en el riñón y reclutan células inflamatorias incluyendo macrófagos, células dendríticas y linfocitos T (LT) (17).

Estudios previos en modelos animales han demostrado que existe una gran producción de citocinas y quimioquinas en la nefritis lúpica temprana que es seguida por una infiltración celular progresiva, proteinuria y daño en la función renal (17). La producción a nivel glomerular de IL12 e IL18 favorecen la quimio atracción de células dendríticas que favorecen y perpetúan la respuesta de tipo Th1 (17). De esta manera se postula que el desequilibrio de la

Niveles de citocinas pro TH 1 en pacientes con lupus eritematoso sistémico.



homeostasis de citocinas hacia un fenotipo Th1 contribuye sustancialmente a la propagación de inflamación renal y daño en el LES (17).

Las citocinas urinarias parecen jugar un papel importante en la modulación de la respuesta inmune de la nefritis lúpica. La evidencia actual sugiere que las citocinas pro-Th1 tienen un papel patogénico de mayor preponderancia que las citocinas pro-Th2 en nefritis lúpica aguda (18). Estudios han demostrado que la respuesta Th1 se relaciona más con el subtipo de glomérulo nefritis difusa proliferativa tipos III y IV, al igual que empeoran la enfermedad cuando se correlacionan con los índices de actividad histológica (19, 20). Por el contrario formas inactivas de LES no muestran desequilibrio en el patrón de liberación Th1/Th2, al menos en cultivos celulares (21). El reconocimiento reciente del papel de otras citocinas pro-Th1 como la interleuquina 23 (IL23), y la interleuquina 27 (IL27) hacen que estas deban ser consideradas en la regulación de estas respuestas (22). Igualmente parece importante el papel de las células denominadas Th17 cuya actividad es regulada por acción de la IL6, IL23 y el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), las cuales sintetizan la citocina pro-inflamatoria interleuquina 17 (IL17) (23). El papel de la IL27 parece clave pues en el modelo murino MRL/lpr, la deficiencia del componente WSX-1 del receptor de IL27 induce el cambio de fenotipo de glomérulonefritis proliferativo al membranoso (24).

Por otra parte la expresión de genes tipo t-bet en riñón sugiere fuertemente la presencia de linfocitos Th1, aunque también hay sobreexpresión del gen GATA 3 asociado con Th2 en los glomérulos (16). La sobreexpresión génica de t-bet, IFN- γ , interleuquina 2 (IL2), IL12, IL18, proteína quimiotrayente de monocitos 1 (MCP-1) e IL10 tienen mejor correlación con la actividad lúpica, por lo que la medición de citocinas pro-Th1 en orina podría ser un gran marcador de actividad renal (16). Hasta la actualidad se ha encontrado que el MCP-1 es un biomarcador sensible y específico en el daño renal y ha sido asociado con el grado de severidad del LES (25, 26). De igual manera el MCP-1 aumenta significativamente en el daño renal a pesar de la inmunosupresión moderada o severa (prednisolona, mycofenolato mofetil, azatioprina o ciclofosfamida), lo que sugiere que el MCP-1 es un marcador fuerte en la actividad del LES, que es válido en pacientes quienes tienen enfermedad crónica y están en terapia de larga data y no desciende en paciente que no responden al tratamiento (25, 26). En otros estudios encontraron niveles altos de IL10 tanto en orina como en suero de pacientes con LES, de igual manera se encontraron niveles significativamente altos en pacientes con nefritis lúpica en comparación con aquellos sin nefritis lúpica (25, 26). Sin embargo este hallazgo no ha sido correlacionado con los niveles de IL10 y proteinuria (25, 26).

En la orina de pacientes con LES activo, también se ha reportado la presencia de quimioquinas pro inflamatorias como la MCP-1, la cual parece ser un biomarcador sensible y específico de SLE renal, que se han visto elevadas en pacientes con LES activo que reciben terapia inmunosupresora. (25, 26). Adicionalmente, también se ha observado la expresión de IFN- γ , en el sedimento urinario que a su vez ha correlacionado significativamente con lesiones glomerulares y no con lesiones túbulo-intersticiales (16).

En publicaciones realizados por Chan y colaboradores mostraron que la expresión de IFN- γ en el sedimento urinario se encontraba marcadamente alto en pacientes con nefritis lúpica activa, mientras que la expresión citocinas como (IL2, IL4) no se encontraron elevadas (27). Esto

Niveles de citocinas pro TH 1 en pacientes con lupus eritematoso sistémico.



sugiere la predominancia de la respuesta Th1 en las células renales inflamatorias. Es por esto que se postula que las mediciones de citocinas pro-Th1, podrían ser una excelente herramienta para medir la actividad lúpica a nivel renal (27).

Teniendo en cuenta estos antecedentes, creemos que la determinación seriada de citocinas urinarias que participan de la regulación de la respuesta pro-Th1 en el linfocito T (IL12 e IL18) podrían constituirse como un marcador más sensible y específico de actividad y de pronóstico de los pacientes, con la ventaja de no ser invasivas.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:

Pregunta:

¿Cuáles son los niveles en orina de las citocinas pro-Th1 (IL12 e IL18) en pacientes con o sin actividad lúpica y en controles sanos?

Hipótesis nula:

No hay diferencias entre los niveles de citocinas pro-Th1 (IL12 e IL18) entre los pacientes con lupus activo, inactivo y controles sanos.

Hipótesis alterna:

Los niveles de citocinas pro-Th1 (IL12 e IL18) son diferentes en los pacientes con lupus activo e inactivo frente a los controles sanos.

Los niveles de citocinas pro-Th1 (IL12 e IL18) son diferentes en los pacientes con lupus activo frente a los pacientes con lupus inactivo.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA:

En la fisiopatología del LES, se evidencia como la activación de las citocinas pro-Th1 antecede a la respuesta Th2, lo que se conoce como el pilar inmunológico de la respuesta de la enfermedad, y más en relación con nefritis lúpica que es una de las complicaciones más devastadoras y de alto impacto socio-económico del LES. La detección temprana de actividad lúpica, permite el tratamiento precoz y así evitar la progresión a estados terminales. Los métodos actuales de detección temprana de actividad asociado a una de sus complicaciones mas severa como lo es la nefritis lúpica, carecen de predictibilidad y el “patrón de oro” para evaluar severidad es invasivo lo que no permite su medición de manera repetida en un periodo corto de tiempo. Debido a esto se hace necesario la identificaciones de nuevos métodos de detección no invasivos de fácil reproducción, bajo costo y alta predictibilidad, que identifiquen actividad en lupus, con o sin relación a complicaciones renales.

Niveles de citocinas pro TH 1 en pacientes con lupus eritematoso sistémico.



JUSTIFICACIÓN:

Actualmente la evaluación de los pacientes con LES incluye anticuerpos, complemento, uroanálisis, depuración de creatinina y la medición de la proteinuria (28). Sin embargo, estos parámetros no son predictivos de severidad de actividad lúpica y no tienen relación con la clasificación o severidad de la nefropatía observada en la biopsia, ni tampoco han demostrado ser seguros en evaluar la respuesta al tratamiento (29).

Ante la falta de marcadores no invasivos predictores de actividad lúpica, con buena correlación con las complicaciones mas severas (ejemplo: nefritis), se requiere el desarrollo de nuevas pruebas diagnosticas y pronosticas que permitan una identificación precoz para instaurar un manejo temprano y así lograr reducir la progresión y desenlaces catastróficos.

OBJETIVOS:

Objetivo general:

Determinar los niveles de las citocinas pro-Th1 (IL12 e IL18) en la orina de los pacientes con LES activo, inactivo y controles no enfermos.

Objetivos específicos:

Describir las características clínicas de la muestra estudiada.

Estimar los niveles medios de citocinas pro-Th1 (IL12 e IL18) en pacientes con LES activo, LES inactivo y sujetos sanos.

Explorar si los niveles de citocinas en pro-Th1 (IL12 e IL18) en orina se correlacionan con los parámetros clínicos y paraclínicos de la actividad lúpica.

METODOLOGÍA:

Población estudio:

Se realizó un estudio observacional analítico de corte transversal en pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, los cuales se fraccionaron en dos grupos divididos así: pacientes con lupus activo y pacientes con lupus inactivo, los cuales fueron recolectados por medio de un instrumento predeterminado (Anexo 1), en los servicios de consulta externa, urgencias y hospitalización de los servicios de Medicina Interna e Inmuno-Reumatología del Hospital Universitario de la Samaritana. Para el grupo control se recolectaron mediante muestreo no probabilístico por conveniencia, 30 sujetos sanos, sin antecedentes autoinmunes tanto personales como familiares, pertenecientes al grupo de trabajadores, estudiantes de posgrado y pregrado de medicina interna del Hospital Universitario de la Samaritana.

Niveles de citocinas pro TH 1 en pacientes con lupus eritematoso sistémico.



Se consideró el diagnóstico de lupus cuando el paciente cumplió 4 de 11 criterios de clasificación de LES según el Colegio Americano de Reumatología (30) (Anexo 2). Se evaluó la actividad del lupus con el SLEDAI (Anexo 3), según el cual se consideró sin actividad con puntuación entre 0 y 2, actividad leve cuando el paciente presentó una puntuación entre 2 a 4, moderada cuando el paciente presentó una puntuación entre 4 y 8, y actividad severa cuando el paciente presentó una puntuación mayor a 8 (31-33).

El tipo de muestreo se realizó por muestreo no probabilístico por conveniencia. La muestra se recolectó en un periodo de 2 años.

Uroanálisis y detección de estearasa leucocitaria:

Con el fin de descartar infección de tracto urinario (UTI), a todas las muestras se les realizó uruanálisis y detección de estearasa leucocitaria, utilizando el lector de tiras Multistix (10S6) Clinitek advantus.

Cuantificación de citocinas por citometría de flujo:

La cuantificación de citocinas pro-Th1 en orina se estudió utilizando citometría de flujo multiparamétrica (Beckman Coulter). Para ello, la primera orina de la mañana (10ml) fue recolectada, centrifugada a 2400 g por 10 min, alicuotada y congelada a -70°C hasta ser analizada. La cuantificación de las citocinas IL12, IL18 y MCP-1, se llevó a cabo utilizando un estuche comercial de eBiosciences, La adquisición de las muestras se realizó en un citómetro Gallios de Beckman Coulter. La determinación de la concentración de cada citocina (pg/mg) fue calculada utilizando el software FlowCytomix Pro.

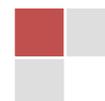
Detección de creatinina en orina:

Adicionalmente y en orden de corregir el estado de hidratación del paciente, la concentración de citocinas fue normalizada y expresada como la proporción de citocina (pg) por miligramo (mg) de creatinina (citocina/creatinina: pg/mg). Para ello la concentración de creatinina fue establecida en el equipo ADVIA 1800 de Siemens.

Discriminación de variables:

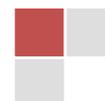
Variable	Definición operacional	Herramienta de medición	Escala de medición
Sexo	Hombres, Mujeres	Cuestionario aplicado por el investigador	Dicotómica
Erupción malar	Comienzo reciente o recurrente de exantema inflamatorio	Cuestionario aplicado por el investigador	Dicotómica
Ulceras orales	Ulceras bucales o nasales de comienzo reciente o recurrente	Cuestionario aplicado por el investigador	Dicotómica

Niveles de citocinas pro TH 1 en pacientes con lupus eritematoso sistémico.



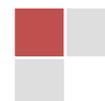
Alopecia	Pérdida difusa o en placas de comienzo reciente o recurrente	Cuestionario aplicado por el investigador	Dicotómica
Artritis	Más de dos articulaciones dolorosas y con signos inflamatorios	Cuestionario aplicado por el investigador	Dicotómica
Pleuritis	Dolor pleurítico con roce o derrame, o engrosamiento pleural	Cuestionario aplicado por el investigador	Dicotómica
Pericarditis	Dolor pericárdico con al menos uno de los siguientes: roce, derrame, cambios electrocardiográficos o confirmación ecocardiográfica	Cuestionario aplicado por el investigador	Dicotómica
Fiebre	> 38 C excluyendo infección	Cuestionario aplicado por el investigador	Dicotómica
Convulsiones	De comienzo reciente. Excluir causas infecciosas, metabólicas y fármacos	Cuestionario aplicado por el investigador	Dicotómica
Cefalea lúpica	Grave, persistente; puede ser migrañosa pero no responde a analgésicos narcóticos	Cuestionario aplicado por el investigador	Dicotómica
Psicosis	Habilidad alterada para la función diaria debido a alteración grave en la percepción de la realidad. Incluye alucinaciones, incoherencia, asociaciones ilógicas, contenido mental escaso, pensamiento ilógico, raro, desorganizado y comportamiento catatónico. Excluir I. renal y fármacos	Cuestionario aplicado por el investigador	Dicotómica
S. Orgánico Cerebral	Función mental alterada con falta de orientación, memoria, u otras funciones intelectuales, de comienzo rápido y manifestaciones clínicas fluctuantes. Incluye disminución del nivel de conciencia con capacidad reducida para focalizar, e inhabilidad para mantener la atención en el medio, más, al menos dos de los siguientes: alteración de la percepción, lenguaje incoherente, insomnio o mareo matutino, o actividad psicomotora aumentada o disminuida. Excluir causas infecciosas, metabólicas y fármacos	Cuestionario aplicado por el investigador	Dicotómica

Niveles de citocinas pro TH 1 en pacientes con lupus eritematoso sistémico.



Alteraciones Visuales	Retinopatía lúpica. Incluye cuerpos citoides, hemorragias retinianas, exudados serosos y hemorragias en la coroides, o neuritis óptica. Excluir HTA, infección o fármacos	Cuestionario aplicado por el investigador	Dicotómica
Alteraciones de pares craneales	De reciente comienzo, motor o sensitivo	Cuestionario aplicado por el investigador	Dicotómica
Vasculitis	Ulceración, gangrena, nódulos dolorosos sensibles, infartos periungueales, hemorragias en astilla o biopsia o angiografía que confirme la vasculitis	Cuestionario aplicado por el investigador	Dicotómica
Miositis	Debilidad proximal/dolor asociado a elevación de las CPK/aldolasa o EMG sugestivo o miositis comprobada por biopsia	Cuestionario aplicado por el investigador	Dicotómica
ECV	De reciente comienzo. Excluir arteriosclerosis	Cuestionario aplicado por el investigador	Dicotómica
Cilindros urinarios	Cilindros hemáticos o granulosos	Visualización directa por microscopia de luz	Dicotómica
Proteinuria en orina 24 horas	> 5 g/24 h. De reciente comienzo o aumento de la proteinuria ya conocida en más de 0.5 g/24 h	Medición por colorimetría	Dicotómica
Leucocitaria	> 5 leucocitos/c. Excluir infección	Visualización directa por microscopia de luz	Dicotómica
Hematuria	>5 hematíes/c. Excluir litiasis, infección u otras causas	Visualización directa por microscopia de luz	Dicotómica
Leucopenia	< 3.000 células/mm ³ . Excluir fármacos	Hemograma de IV generación	Dicotómica
Trombocitopenia	<100.000 plaquetas/mm ³	Hemograma de IV generación	Dicotómica
Anti-DNA	Cualquier dilución	Inmunofluorescencia	Razón.
Hipocomplementemia	Descenso de C3 y/o C4 por debajo del límite inferior del laboratorio	Turbidimetría	Dicotómica
Anti-C1q	Niveles en pg/mg	Microelisa	Razón
Citocinas en orina	Niveles en pg/mg	Citometría de flujo	Cuantitativa continua
MCP-1	Positivo > 2 pg/mg	Citometría de flujo	Cuantitativa continua
SLEDAI	No actividad: 0-2 Actividad leve: >2<4 Actividad moderada: ≥4<8 Actividad severa: ≥8	Cuestionario aplicado por el investigador	Ordinal

Niveles de citocinas pro TH 1 en pacientes con lupus eritematoso sistémico.



Análisis:

Se diseñó una base de datos para el estudio, incluyendo las variables descritas previamente.

Las variables cualitativas se presentan con su distribución de frecuencias. Las variables cuantitativas se resumen con su mediana y rango intercuartil (RIQ) en caso de no seguir una distribución normal. En todos los casos se comprobó la distribución de la variable frente a los modelos teóricos a través de las pruebas estadísticas de varianza y Kurtosis. Se evaluó la asociación entre variables cualitativas con el test de χ^2 o prueba exacta de Fisher, según corresponda. La evaluación de la correlación se realizó utilizando la prueba estadística de coeficiente de correlación de Spearman.

Se realizó comparación de medianas de los niveles de citocinas en orina de individuos con LES activo, LES no activo y sanos a través de la prueba no paramétrica o test estadístico de Kruskal-Wallis.

Los paquetes informáticos utilizados fueron:

- Microsoft Office Excel® 2003: construcción de la base de datos a partir del fichero inicial.
- STATA®, versión 11.0 Statacorp, Collage Station, Texas (USA): análisis estadístico descriptivo e inferencial.

CONSIDERACIONES ÉTICAS:

Según la resolución No 008430 DE 1993, (4 DE OCTUBRE DE 1993), este estudio se encuentra en la categoría de investigación de riesgos mínimos, según el artículo 11 de esta misma resolución. En el anexo 4 se presenta el consentimiento informado.

RESULTADOS:**Población estudiada:**

Se valoraron todos los 77 individuos, clasificando a los pacientes según cumplan los criterios del Colegio Americano de Reumatología (29). Los cuales 47 (61 %) fueron pacientes con LES y 30 (39 %) fueron sanos. Dentro de los pacientes con LES, 30 (63.82%) tenían actividad al momento de la toma de la muestra de orina y 17 (36.17%) se encontraban inactivos, acorde con la puntuación del SLEDAI. De la muestra total estudiada la mediana de edad fue de 26 años con un rango intercuartil (RIC) de 22 a 33 años, de los cuales el 76.62% (n: 59) fueron mujeres y el 23.38% (18) fueron hombres. En la tabla 1 se muestran la edad y sexo en el grupo de pacientes con LES y sanos.

Niveles de citocinas pro TH 1 en pacientes con lupus eritematoso sistémico.



TABLA 1: Edad y sexo según el tipo de sujetos

Parámetro	LES	Sanos	Valor de P
Edad en años (mediana; RIC)	31 (24 a 44)	23.5 (22 a 26)	0.0002
Sexo (n; %)			0.099
-Femenino	39 (66.1)	20 (33.9)	
-Masculino	8 (44.4)	10 (55.5)	

Al realizar la prueba de hipótesis para la diferencia de medianas de edad entre los pacientes con LES y los controles se encontró significancia estadística ($p=0.0002$).

Las características de los pacientes con LES se muestran en la tabla 2.

TABLA 2: Características generales de los pacientes con LES

Parámetro	n	Porcentaje (%)
Compromiso cutáneo	11	23.40
Compromiso articular	7	14.89
Serositis	5	10.64
Compromiso SNC	4	8.51
Compromiso renal	25	53.19
Compromiso hematológico	19	40.43
ANAs positivos	40	85.10
Anti-DNA positivo	31	65.95
Anti-C1q positivo	27	57.44
Hipocomplementemia	30	63.82

En cuanto a la actividad en los pacientes con LES, se encontró un en el SLEDAI una mediana de 10 (RIC: 4 a 20).

Interleucina 12 (IL12):

En la totalidad de la población estudiada se encontró una mediana de 0.15 pg/mg con un RIC de 0 a 0.43. Al analizar entre pacientes con LES y sanos se evidenció una mediana de 0.02 pg/mg (RIC: 0 a 0.5) y de 0.24 pg/mg (RIC: 0.11 a 0.37) respectivamente. Cuando se analizaron los niveles de IL-12 entre pacientes con LES activo y LES no activo se encontró una mediana de 0.12 pg/mg (RIC: 0 a 0.65), y de 0 pg/mg (RIC: 0 a 0.41) respectivamente ($p=0.138$).

Interleucina 18 (IL18):

En la totalidad de la población estudiada se encontró una mediana de 6.62 pg/mg con un RIC Niveles de citocinas pro TH 1 en pacientes con lupus eritematoso sistémico.



de 0 a 20.48. Al analizar entre pacientes con LES y sanos se evidenció una mediana de 0.01 pg/mg (RIC: 0 a 22.28) y de 8.5 pg/mg (RIC: 2.65 a 19.49) respectivamente. Cuando se analizaron los niveles de IL-18 entre pacientes con LES activo y LES no activo se encontró una mediana de 4.86 pg/mg (RIC: 0 a 22.28), y de 0 pg/mg (RIC: 0 a 14.74) respectivamente ($p=0.053$).

Proteína quimiotáctica del monocito-1 (MCP-1):

En la totalidad de la población estudiada se encontró una mediana de 1.16 pg/mg con un RIC de 0.36 a 5.88. Al analizar entre pacientes con LES y sanos se evidenció una mediana de 4.63 pg/mg (RIC: 0.72 a 14.71) y de 0.40 pg/mg (RIC: 0.09 a 0.88) respectivamente. Cuando se analizaron los niveles de MCP-1 entre pacientes con LES activo y LES no activo se encontró una mediana de 11.42 pg/mg (RIC: 4.05 a 22.56), y de 0.72 pg/mg (RIC: 0.54 a 1.23) respectivamente ($p=0.0001$).

En la tabla 3 y 4 se resume los hallazgos de interleucinas en la población estudiada.

TABLA 3: Valores de interleucinas entre pacientes con LES y controles

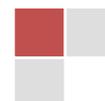
Parámetro	LES Mediana (RIC)	Sanos Mediana (RIC)	Total Mediana (RIC)	Valor de P
IL12 (pg/mg)	0.02 (0 a 0.5)	2.24 (0.11 a 0.37)	0.15 (0 a 0.43)	0.108
IL18 (pg/mg)	0.01 (0 a 22.28)	8.5 (2.65 a 19.49)	6.62 (0 a 20.48)	0.043
MCP-1 (pg/mg)	4.63 (0.72 a 14.71)	0.40 (0.09 a 0.88)	1.16 (0.36 a 5.88)	0.0001

TABLA 4: Valores de interleucinas según actividad lúpica y controles

Parámetro	LES activo Mediana (RIC)	LES inactivo Mediana (RIC)	Sanos Mediana (RIC)	Valor de P
IL12 (pg/mg)	0.12 (0 a 0.65)	0 (0 a 0.41)	2.24 (0.11 a 0.37)	0.138
IL18 (pg/mg)	4.86 (0 a 22.28)	0 (0 a 14.74)	8.5 (2.65 a 19.49)	0.053
MCP-1 (pg/mg)	11.42 (4.05 a 22.56)	0.72 (0.54 a 1.23)	0.40 (0.09 a 0.88)	0.0001

Correlación entre interleucinas y SLEDAI:

Se encontró una correlación positiva débil entre el SLEDAI y las interleucinas IL12 ($r=0.29$; $p=0.042$), positiva moderada entre SLEDAI e IL18 ($r=0.35$; $p=0.014$) y positiva fuerte entre SLEDAI y MCP-1 ($r=0.57$; $p=0.0001$). Figuras 1, 2 y 3.



DISCUSIÓN:

El LES es una enfermedad autoinmune caracterizada por un ambiente de citocinas aberrantes y compromiso multiorgánico (10, 11). Aunque el LES es generalmente considerado un prototipo de enfermedad dominado por citocinas pro-Th2, reportes recientes de trabajos en modelos animales y en humanos han demostrado la importancia del papel de las citocinas pro-Th1.

Nuestro estudio es el primero en evaluar al mismo tiempo los niveles de dos citocinas pro-Th1 (IL12 e IL18) en orina de pacientes con LES y controles sanos, comparándolo con la MCP-1, marcador urinario ya demostrado en LES.

Los resultados mostraron una elevación en los niveles de IL-18 ($p=0.053$), y como era de esperarse de MCP-1 ($p=0.0001$), en la orina de pacientes con LES con significancia estadística, inclusive con mayor expresión en pacientes con LES activo.

Otros estudios han demostrado la presencia de IL18 en orina de pacientes con LES. Migliorini y colaboradores, encontraron que los niveles de IL18 en sangre y orina fueron más altos en pacientes con LES que en los controles sanos, sin embargo solamente se evidenció correlación con la actividad lúpica en los niveles en sangre mas no en orina (34). En dicho estudio, la mayoría de pacientes con LES activo (16 de 22) presentaban nefritis lúpica, lo que genera sesgo al comparar los niveles entre subgrupos de actividad. En contraste, otros estudios han demostrado la elevación de IL18 en orina como marcador de daño renal agudo al igual que predictor de severidad en enfermedad renal aguda en niños críticamente enfermos (35).

La controversia continua, pues nuestro estudio si muestra diferencias entre los niveles de IL18 de pacientes con LES activo y no activo. A diferencia del estudio de Migliorini y colaboradores, nuestro estudio no diferenció entre subgrupos de actividad lúpica, lo que sería interesante estudiar con una muestra más amplia y con un mayor número de pacientes con compromiso renal, al igual que múltiples mediciones a lo largo de la evolución de la enfermedad.

No así ocurrió con la IL12, la cual, aunque fue más alta en pacientes con LES activo en comparación con los pacientes con LES no activo ($p=0.138$), no fue posible establecer significancia estadística. Estudios previos han demostrado la correlación entre los niveles de IL12 en orina y sangre y la actividad lúpica, en especial nefritis (36). Tucci y colaboradores encontraron mayor expresión de IL12 en la orina de pacientes con nefritis lúpica en comparación con pacientes con otra actividad. La falta de diferenciación en los subgrupos de los pacientes con actividad lúpica estudiados en nuestra muestra podría dar una posible explicación a la diferencia entre nuestros hallazgos y los de Tucci y colaboradores.

Los datos obtenidos suman evidencia en cuanto a la medición de MCP-1 en orina de pacientes con LES y confirman su efectividad como marcador de actividad lúpica, pues fue esta la de mayor expresión con clara significancia estadística ($p=0.0001$).

En cuanto a la relación entre la actividad lúpica expresada en el SLEDAI y los niveles de las citocinas urinarias, nuestro estudio fue insuficiente en demostrar una correlación fuerte estadísticamente significativa. Otros estudios como los de Migliorini y colaboradores demostraron correlación entre al actividad de la enfermedad y niveles séricos de IL18, usando otra escala de actividad lúpica (ECLAM). Sin embargo al comparar los pacientes con actividad renal entre los pacientes sin actividad renal no encontraron diferencia significativa (34).

Hasta el momento este es el primer estudio donde se evalúa la correlación entre los niveles



urinarios de IL12 y 18 y la actividad lúpica con SLEDAI.

Nuestro estudio presenta importantes limitaciones. Se requiere de un estudio con mayor número de pacientes con LES, así como mayor número de pacientes con nefritis lúpica para confirmar los hallazgos presentados anteriormente. Este sesgo es común en la mayoría de los estudios realizados para la medición de citocinas en orina. Tal vez sea por esto que existen discrepancias entre los resultados de dichos estudios.

De la misma manera se requiere realizar un estudio de carácter prospectivo para analizar el comportamiento de las citocinas estudiadas evaluando sus concentraciones en momentos claves de la enfermedad (diagnostico, exacerbaciones, post-tratamiento).

ESTRATEGIAS DE COMUNICACIÓN

Los resultados de la investigación serán presentados a la comunidad científica y al público en general a través de presentación de posters y presentaciones orales en congresos nacionales e internacionales de reumatología (EULAR, ACR, Lupus congress, Autoimmunity International Congress, PANLAR, congreso Colombiano de reumatología) y por medio de revistas internacionales indexadas relacionadas con reumatología e inmunología (Annals of Rheumatic Diseases, Rheumatology, Arthritis and Rheumatism, Autoimmunity Reviews, Clinical Reviews in Allergy and Immunology, Journal of Rheumatology, entre otras).

CRONOGRAMA:

El siguiente cronograma presenta fechas durante las cuales se realizaron las diferentes tareas..

Tarea	Fecha	Tarea	Fecha
Revisión de la literatura	Abril a Junio 2010	Presentación a comité de investigación HUS	Octubre 2010
Revisión de base de datos	Abril a Junio 2010	Presentación al comité de ética de HUS	Octubre de 2010
Creación de instrumento	Junio 2010	Presentación sabana	Noviembre 2010, Septiembre 2011, Agosto 2012
Creación de presupuesto	Julio 2010	Recolección de muestras	Octubre 2010 a Septiembre de 2012
Creación de protocolo	Junio a Septiembre 2010	Prueba piloto	Octubre de 2011
Revisión protocolo con epidemiólogo	Septiembre 2010	Presentación comisión de investigación Sabana	Febrero 2013

Niveles de citocinas pro TH 1 en pacientes con lupus eritematoso sistémico.



PRESUPUESTO:

CATEGORIA				COSTO UNITARIO	PRESUPUESTO REQUERIDO	PRESUPUESTO POR FINANCIAR HUS	PRESUPUESTO POR FINANCIAR Sabana		
PERSONAL	Tiempo Dedicado / sem	Horas / año	Cantidad			\$ 0,00	\$ 11.880.000,00	JUSTIFICACIÓN DEL PRESUPUESTO	
1. Investigadores principales	2.5	120	1	50.000	6.000.000		6.000.000		
2. Investigador secundario	2.5	60	1	50.000	3.000.000		3.000.000		
3. Bacteriólogo (procesamiento)	16*	64	1	45.000	2.880.000		2.880.000	* 16 h/sem por 4 semanas	
Total				145.000	11.880.000		11.880.000		
SUMINISTROS :						\$ 227.000,00	\$ 0,00		
1. Papelería			3	50.000	150.000	150.000			
2. Laboratorio									
a) Uroanálisis			85	3.850	327.250	77.000		20 MUESTRAS	
3. Laboratorios Inmunología									
a) Anti-C1q			65	17.687	1.149.655*			*examen NO POS cobro por formato	
b) Anti-DNA			65	44.000	2.860.000				
c) Complemento C3 y C4			65	106.000	6.994.000				
Total				221.537	11.480.905*	227.000		*COBRO A EPS	
EQUIPO:					\$ 9.100.000,00	\$ 8.600.000,00	\$ 0,00		
1. Computador			1	1.500.00	1.500.000	0			
2. Kit de citocinas			1	8.000.000	8.000.000	8.000.000			
3. Equipo o Materiales			1	600.000	600.000	600.000			
GASTOS DE DIVULGACIÓN						\$ 500.000,00	\$ 0,00		
1. IMPRESIONES				500.000	500.000	500.000			
Imprevistos (10%)				\$ 996.653,00	\$ 3.296.000,00	\$ 932.700,00	\$ 1.188.000,00		
GRAN TOTAL					\$ 9.966.537,00	\$ 36.256.000,00	\$ 10.259.700,00	\$ 13.068.000,00	INGRESOS GENERADOS PARA EL HUS \$ 11.253.905

BIBLIOGRAFÍA:

1. Singh S., Saxena R., Lupus nephritis. *Am J Med Sci* 2009; 337: 451-460.
2. Cameron JS. Lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 413-424.
3. Cervera R., Khamashta MA., Font J., et al. Systemic lupus erythematosus: clinical and immunological patterns of disease expression in a cohort of 1000 patients. The European Working Party on systemic lupus erythematosus. *Medicine (Baltimore)* 1993; 72: 113-124.
4. Vlachoyiannopoulos PG., Karassa FB., Karakostas KX., et al. Systemic lupus erythematosus in Greece. Clinical features, evolution and outcome: a descriptive analysis of 292 patients. *Lupus* 1993; 2: 303-312.
5. Wallace DJ., Podell TE., Weiner JM., et al. Lupus nephritis. Experience with 230 patients in a private practice from 1950 to 1980. *Am J Med* 1982; 72: 209-220.
6. Cooper GS., Parks CG., Treadwell EL., et al. Differences by race, sex and age in the clinical and immunologic features of recently diagnosed systemic lupus erythematosus patients in the southeastern United States. *Lupus* 2002; 11: 161-167.
7. Mavragani CP., Moutsopoulos HM. Lupus nephritis: current issues. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 795-798.
8. Reveille JD., Bartolucci A., Alarcón GS. Prognosis in systemic lupus erythematosus. Negative impact of increasing age at onset, black race, and thrombocytopenia, as well as causes of death. *Arthritis Rheum* 1990; 33: 37-48.
9. Bagavant H., Fu SM., Pathogenesis of kidney disease in systemic lupus erythematosus. *Curr Opin Rheumatol* 2009; 21: 489-494.
10. Horwitz DA., Jacob CO. The cytokine network in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus and possible therapeutic implications. *Springer Semin Immunopathol* 1994; 16: 181-200.
11. Kotzin BL. Systemic lupus erythematosus. *Cell* 1996; 85: 303-306.
12. Dean SG., Tyrrell-Price J., Crawley E., et al. Cytokines and systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 243-251.
13. Jara LJ., Irigoyen L., Ortiz MJ., et al. Prolactin and interleukin-6 in neuropsychiatric lupus erythematosus. *Clin Rheumatol* 1998; 17: 110-114.
14. Foster MH., Kelley VR. Lupus nephritis: update on pathogenesis and disease mechanisms. *Semin Nephrol* 1999; 19: 173-181.
15. Abbas AK., Lichtman AH., Pillai S. *Inmunología celular y molecular*. 6ta ed. Barcelona: Elsevier Saunders, 2008.
16. Chan RW., Lai FM., Li EK., et al. Intrarenal cytokine gene expression in lupus Nephritis. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 886-892.
17. Tucci M., Ciavarella S., Strippoli S., et al. Oversecretion of cytokines and chemokines in lupus nephritis is regulated by intraparenchymal dendritic cells. *Ann N. Y. Acad Sci* 2009; 1173: 449-457.
18. Akahoshi M., Nakashima H., Tanak Y., et al. Th1/Th2 balance of peripheral T helper cells in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 1999; 42: 1644-1648.
19. Uhm WS., Na K., Song GW., et al. Cytokine balance in kidney tissue from lupus nephritis patients. *Rheumatology (Oxford)* 2003; 42: 935-938.
20. Masutani K., Akahoshi M., Tsuruya K., et al. Predominance of Th1 immune response in diffuse proliferative lupus nephritis. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 2097-2106.
21. Amit M., Mor A., Weissgarten J., et al. Inactive systemic lupus erythematosus is associated with a normal stimulated Th1/Th2 cytokine secretory pattern. *Cytokine* 2000; 12: 1405-1408.

22. Foster MH. T cells and B cells in lupus nephritis. *Semin Nephrol* 2007; 27: 47-58.
23. Betelli E., Carrier Y., Gao W., et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector Th17 and regulatory T cells. *Nature* 2006; 441: 235-238.
24. Shimizu S., Sugiyama N., Masutani K., et al. Membranous glomerulonephritis development with Th2-type immune deviations in MRL/lpr mice deficient for IL27 receptor (WSX-1). *J. Immunol* 2005; 175: 7185-7192.
25. Rovin BH., Song H., Birmingham DJ., et al. Urine chemokines as biomarkers of human systemic lupus erythematosus activity. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 467-473.
26. Rovin BH., Birmingham DJ., Nagaraja HN., et al. Biomarker discovery in human SLE nephritis. *Bull NYU Hosp Jt Dis* 2007; 65: 187-193.
27. Chan RW., Tam LS., Li EK., et al. Inflammatory cytokine gene expression in the urinary sediment of patients with lupus nephritis. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 1326-1331.
28. Li Y., Tucci M., Narain S., et al. Urinary biomarkers in lupus nephritis. *Autoimmun Rev* 2006; 5: 383-388.
29. Appel GB., Silva FG., Pirani CL., et al. Renal involvement in systemic lupus erythematosus: a study of 5 patients emphasizing histologic classification. *Medicine (Baltimore)* 1978; 57: 371-410.
30. Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 1997; 40: 1725.
31. Bombardier C., Gladman DD., Urowitz MB., et al. Derivation of the SLEDAI. A disease activity index for lupus patients. The committee on prognosis study in SLE. *Arthritis Rheum.* 1992; 35: 630-640.
32. Gladman DD., Urowitz MB., Kagal A., et al. Accurately describing changes in disease activity in Systemic Lupus Erythematosus. *J Rheumatol* 2000; 27: 377-379.
33. Ibañez D., Gladman DD., Urowitz M. Summarizing disease features over time: II. Variability measures of SLEDAI-2K. *J. Rheumatol* 2007; 34: 336-40.
34. Migliorini P., Anzilotti C., Pratesi F., et al. Serum and urinary levels of IL-18 and its inhibitor IL-18BP in systemic lupus erythematosus. *Eur Cytokine Netw* 2010; 21: 264-271.
35. Washburn KK., Zappitelli M., Arikian AA., et al. Urinary interleukin-18 is an acute kidney injury biomarker in critically ill children. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 566-572.
36. Tucci M., Lombardi L., Richards HB., et al. Overexpression of interleukin-12 and T helper 1 predominance in lupus nephritis. *Clin Exp Immunol* 2008; 154: 247-254.



ANEXOS:

ANEXO 1: Instrumento:

INSTRUMENTO ESTUDIO “NIVELES DE CITOCINAS PRO-TH1 EN LA ACTIVIDAD DE LA NEFRITIS LÚPICA”

IDENTIFICACION:

Nombre: _____ **Edad:** _____ **Sexo:** H M **Consecutivo:** _____
Identificación: _____ **Teléfono:** _____ **Peso:** _____ **Talla:** _____

MANIFESTACIONES CLINICAS:

- | | | |
|---|---|---|
| 1. Rash malar: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> | 2. Rash discoide: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> | 3. Fotosensibilidad: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> |
| 4. Ulceras orales: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> | 5. Alopecia: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> | 6. Artritis: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> |
| 7. Pleuritis: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> | 8. Pericarditis: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> | 9. Fiebre: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> |
| 10. Convulsiones: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> | 11. Cefalea lúpica: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> | 12. Psicosis: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> |
| 13. S. orgánico cerebral: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> | 14. Alt. visuales: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> | 15. Alt. pares craneales: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> |
| 16. Vasculitis: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> | 17. Miositis: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> | 18. Pérdida de peso: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> |
| 19. PAS: _____ mmHg | 20. PAD: _____ mmHg | 21. Hipertensión acelerada: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> |
| 22. ACV: S <input type="checkbox"/> N <input type="checkbox"/> | | |

PARACLINICOS:

Renal:

23. Cilindros urinarios: S N Cuales: _____
 24. Proteinuria en orina 24 horas: S N Valor (g): _____
 25. Leucocituria: S N Valor (# por campo): _____
 26. Relación albuminuria/creatinuria: _____
 27. Relación proteinuria/creatinuria: _____
 28. Síndrome nefrótico: S N

Hematológico:

29. Tasa de filtración glomerular (MDRD): _____
 30. Sedimento urinario activo: S N
31. Evidencia histológica de nefritis activa (en los últimos 3 meses): S N Cual: _____
 33. Hematuria: S N Valor: _____

Inmunológico:

34. Leucopenia: S N Valor: _____
 35. Linfopenia: S N Valor: _____
 36. Anemia: S N Valor: _____
 37. Recuento reticulocitos: _____
 38. Trombocitopenia: S N Valor: _____
 39. Coombs positivo: S N
40. Anticuerpos antinucleares: S N Valor y patrón: _____
 41. Anticuerpos anti-DNA: S N Valor: _____
 42. Anti-SM: S N Valor: _____
 43. Hipocomplementemia: S N Valor: C3: _____ C4: _____
 44. Serología positiva: S N

45. Anti-C1q: S N Valor: _____
 46. Otro: Anticardiolipinas, anti-beta 2 glicoproteína 1, anti-Ro, anti-La, anti-RNP: _____

Niveles de citocinas pro TH 1 en pacientes con lupus eritematoso sistémico.



Citocinas en orina:

47. Interleuquina 12: _____

48. Interleuquina 18: _____

49. Interleuquina 23: _____

50. Interleuquina 27: _____

51. MCP-1: _____

Tratamiento (en los últimos 3 meses):

52. Inmunosupresor: S N Cuales (dosis): _____

53. Corticoide: S N Dosis: _____

ANEXO 2: Criterios para la clasificación del LES, según el colegio Americano de Niveles de citocinas pro TH 1 en pacientes con lupus eritematoso sistémico.



Reumatología

Criterio	Definición
Erupción malar	Eritema fijo, plano o alto, sobre las eminencias malares, que no suele afectar los surcos nasogenianos
Erupción discoide:	Placas eritematosas altas, con descamación queratósica adherente y tapones foliculares; puede haber cicatrices atróficas en las lesiones más antiguas
Fotosensibilidad	Erupción cutánea a causa de una reacción insólita a la luz solar, referida por el paciente u observada por el médico.
Úlceras bucales	Ulceración nasofaríngea, por lo común indolora, observada por un médico
Artritis	Artritis no erosiva que afecta dos o más articulaciones periféricas, caracterizada por dolor a la palpación, tumefacción o derrame
Serositis	Pleuritis o pericarditis documentada por electrocardiograma o frote o evidencia de derrame pericárdico
Enfermedad renal	Proteinuria persistente mayor a 0,5g/día o 3+ o cilindros celulares
Trastorno neurológico	Convulsiones o psicosis en ausencia de otra causa conocida.
Trastorno hematológico	Anemia hemolítica o leucopenia (< 4.000/mm ³) o linfopenia: (< 1.500/mm ³) o trombocitopenia (< 100.000/mm ³) en ausencia de fármacos que produzcan esta alteración.
Trastorno inmunológico	Anti-DNA, anti-Sm, y/o Anticuerpos antifosfolipídicos (AFL).
Anticuerpo antinuclear:	Un título anormal de ANA por inmunofluorescencia o análisis equivalente en cualquier momento y en ausencia de medicamentos relacionados con el síndrome de lupus de origen farmacológico.

ANEXO 3: Índice de actividad del Lupus Eritematoso Sistémico

Niveles de citocinas pro TH 1 en pacientes con lupus eritematoso sistémico.



Puntuación	Descriptor	Definición
8	Convulsiones	De comienzo reciente. Excluir causas infecciosas, metabólicas y fármacos.
8	Psicosis	Habilidad alterada para la función diaria debido a alteración grave en la percepción de la realidad. Incluye alucinaciones, incoherencia, asociaciones ilógicas, contenido mental escaso, pensamiento ilógico, raro, desorganizado y comportamiento catatónico. Excluir I. renal y fármacos
8	Síndrome orgánico-cerebral	Función mental alterada con falta de orientación, memoria, u otras funciones intelectuales, de comienzo rápido y manifestaciones clínicas fluctuantes. Incluye disminución del nivel de conciencia con capacidad reducida para focalizar, e inhabilidad para mantener la atención en el medio, más, al menos dos de los siguientes: alteración de la percepción, lenguaje incoherente, insomnio o mareo matutino, o actividad psicomotora aumentada o disminuida. Excluir causas infecciosas, metabólicas y fármacos.
8	Alteraciones visuales	Retinopatía lúpica. Incluye cuerpos citoides, hemorragias retinianas, exudados serosos y hemorragias en la coroides, o neuritis óptica. Excluir HTA, infección o fármacos.
8	Alteración de pares craneales	De comienzo reciente, motor o sensitivo.
8	Cefalea lúpica	Grave, persistente; puede ser migrañosa pero no responde a analgésicos narcóticos.
8	AVC	De reciente comienzo. Excluir arteriosclerosis.
8	Vasculitis	Ulceración, gangrena, nódulos dolorosos sensibles, infartos periungueales, hemorragias en astilla o biopsia o angiografía que confirme la vasculitis.
4	Miositis	Debilidad proximal/dolor asociado a elevación de las CPK/aldolasa o EMG sugestivo o miositis comprobada por biopsia.
4	Artritis	Más de dos articulaciones dolorosas y con signos inflamatorios.
4	Cilindros urinarios	Cilindros hemáticos o granulosos.
4	Hematuria	>5 hematíes/c. Excluir litiasis, infección u otras causas.
4	Proteinuria	> 5 g/24 h. De reciente comienzo o aumento de la proteinuria ya conocida en más de 0.5 g/24 h.
4	Piuria	> 5 leucocitos/c. Excluir infección.
2	Exantema nuevo	Comienzo reciente o recurrente. Exantema inflamatorio.
2	Alopecia	De comienzo reciente o recurrente. Pérdida difusa o en placas.
2	Ulceras bucales	De comienzo reciente o recurrente. Ulceras bucales o nasales.
2	Pleuritis	Dolor pleurítico con roce o derrame, o engrosamiento pleural.
2	Pericarditis	Dolor pericárdico con al menos uno de los siguientes: roce, derrame, cambios electrocardiográficos o confirmación ecocardiográfica.
2	Complemento	Descenso de CH50, C3, C4 por debajo del límite inferior del laboratorio.
2	Anti DNA	> 25%. Técnica de Farr o por encima del valor habitual del laboratorio.
1	Fiebre	> 38°C. Excluir infección.
1	Trombopenia	< 100.000 plaquetas/mm ³ .
1	Leucopenia	< 3.000 células/mm ³ . Excluir fármacos.

ANEXO 4: Consentimiento informado:

Niveles de citocinas pro TH 1 en pacientes con lupus eritematoso sistémico.



TÍTULO: Niveles de Citocinas pro-Th1 en orina de pacientes con lupus eritematoso sistémico.

Tipo de Consentimiento: Determinación niveles de citocinas en orina.

Grupo de Investigación: Grupo de investigación en Inmunología clínica Hospital Universitario de la Samaritana.

CONSENTIMIENTO Y AUTORIZACIÓN.

El Grupo de investigación en inmunología clínica del Hospital Universitario de la Samaritana, lo invitan a participar en el proyecto de investigación titulado "Niveles de Citocinas pro-Th1 en orina de pacientes con lupus eritematoso sistémico". El propósito del mismo es determinar la presencia de citocinas pro-Th1 en orina en pacientes con nefritis lúpica y su utilidad como marcador temprano diagnóstico de la enfermedad.

La ejecución del presente proyecto permitirá al grupo proponente abordar el estudio del patrón de comportamiento de las citocinas secretadas en orina, en los pacientes con diferentes estadios de activación de la nefritis lúpica.

Su participación en el proyecto es completamente voluntaria. Si usted decide hacer parte del mismo, se procederá a diligenciar un consentimiento informado. Usted será sometido a una toma de muestra de orina que corresponde a la primera de la mañana, y esta muestra será utilizada para la determinación de citocinas en orina.

Este formato de consentimiento cuenta con información que lo ayudará a decidir si desea participar. Tome el tiempo que requiera, lea cuidadosamente este formato, y formule las preguntas que tenga al personal del estudio.

¿En qué consiste la determinación de citocinas en orina en pacientes con nefritis lúpica?

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad caracterizada por un ambiente en el que las células del sistema inmune liberan diferentes sustancias, una de ellas, las citocinas han sido asociadas fuertemente con el desarrollo de enfermedad renal conocida como nefritis lúpica. Diferentes citocinas, han sido implicadas en la regulación de la actividad de esta enfermedad y aunque el LES ha sido generalmente considerado un prototipo de enfermedad, dominado por citocinas que inducen la producción de sustancias como anticuerpos (Respuesta Th2), recientemente se ha demostrado que el perfil de respuesta mediado por citocinas, que promueven la diferenciación y activación de las células del sistema inmune (Respuesta Th1), esta correlacionado con el desarrollo y la severidad del daño del riñón. Basados en esta evidencia, es posible que la determinación de las citocinas que regulan la respuesta Th1 como (IL12 e IL18) pueda ser asociadas y utilizadas como marcador pronóstico del desarrollo de esta enfermedad.

¿Por qué se me está pidiendo que autorice la toma de una muestra de sangre y de orina para estos análisis?

Niveles de citocinas pro TH 1 en pacientes con lupus eritematoso sistémico.



Se le está solicitando que autorice el uso de una muestra de sangre para realizar diferentes exámenes de laboratorio que contribuirán a su diagnóstico y una muestra de su orina, debido a que en este tipo de muestra se puede determinar y cuantificar diferentes sustancias liberadas por las células del sistema inmune como citocinas.

Su aceptación para proporcionar esta muestra de orina es opcional y depende totalmente de usted, de contar con ella dependerá que podamos incluirlo en el proyecto.

¿Qué efectos adversos (negativos) puedo sufrir al donar una muestra de sangre y orina?

Se extraerá una cantidad de sangre de 7 mL para los análisis de laboratorio, este tipo de muestra es similar a la que usualmente se toma para realizar exámenes de rutina del laboratorio clínico; este procedimiento es considerado como de riesgo mínimo, puede sentirse además del dolor natural de la punción una leve molestia o la presencia de equimosis o un pequeño hematoma en el sitio de punción, procedimiento que no pondrá en peligro la vida.

Para la toma de muestra de orina, se le pedirá a usted como paciente que recoja la primera orina de la mañana, la toma de este tipo de muestra no tiene un riesgo conocido y no representa un peligro para la vida.

Si la muestra no presenta la condición necesaria para su análisis se le pedirá la toma de una nueva muestra.

¿Cómo se guardará la muestra de sangre y orina y quién podrá utilizar la información que se obtenga de los resultados?

La muestra de sangre será utilizada inmediatamente después de realizada su toma, la muestra de orina por el contrario, será congelada en el laboratorio de Inmunología del HUS en forma segura y se etiquetará con un número único, esta muestra será empleada para cuantificar citocinas pro-Th1. La información que lo identifica directamente, es decir, su nombre, iniciales, dirección y número de teléfono se archivarán en una base de datos; los cuales serán exclusivamente utilizados por los investigadores. Adicionalmente, toda la información que usted suministre y aquella obtenida en la investigación será manejada confidencialmente, y no será utilizada para fines distintos a los científicos. Adicionalmente, usted puede contar con la libertad de retirar su consentimiento en cualquier momento y dejar de participar en el estudio si así lo desea.

¿Se me permitirá tener acceso a la información que se recopile de estos estudios?

Usted puede tener acceso a la información que se recopile como parte del estudio solicitándola al grupo de investigación. Es posible que el director del proyecto le solicite durante el curso del estudio información adicional sobre usted o información familiar.

¿Tendré algún beneficio inmediato del resultado de estos análisis?

Niveles de citocinas pro TH 1 en pacientes con lupus eritematoso sistémico.



No, estos análisis se llevan a cabo como parte de una investigación y no proporcionan ningún beneficio económico; sin embargo, su participación servirá de ayuda para alcanzar nuevo conocimiento, ya que los resultados obtenidos de este estudio permitirán establecer el papel de las citocinas pro-Th1 en orina en la severidad de la nefritis lúpica. Adicionalmente, estos resultados podrán ser utilizados para una posible publicación científica guardando estricta confidencialidad.

¿Conoceré los resultados del estudio?

Si, los estudios serán dados a conocer a usted personalmente por el director del proyecto una vez estén disponibles.

¿Podrá utilizarse la muestra almacenada por el grupo de investigación de inmunología clínica del Hospital Universitario de la Samaritana para otros estudios?

Si, es muy posible que la información que se logre obtener en éste estudio permita realizar nuevas investigaciones (Moleculares y Genéticos) sobre el material preservado en el Hospital Universitario de la Samaritana, y por lo tanto, este consentimiento y su aprobación nos permitirá usarla en otros proyectos.

Este proyecto fue revisado y aprobado por el Comité de Ética del Hospital Universitario de la Samaritana, todos sus protocolos se ajustan a las leyes internacionales y a las disposiciones vigentes en Colombia según la Resolución No, 008430 de 1993, que establecen las normas científicas, técnicas y administrativas para la investigación en salud.

He leído la información que contiene este formulario de consentimiento. He preguntado al personal todas las dudas que he tenido en este momento sobre mi participación en la investigación en la recolección de la muestra.

DILIGENCIAR EN EL ORDEN QUE APARECE

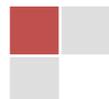
NOTA: ESTA SECCIÓN DEBE SER DILIGENCIADA SOLO POR EL VOLUNTARIO/
A O POR EL TUTOR.

Nombre del Voluntario/a
Fecha

Firma del Voluntario/a

Dirección: _____ Ciudad: _____
Teléfono (fijo y Celular) _____

Niveles de citocinas pro TH 1 en pacientes con lupus eritematoso sistémico.



NOTA: ESTA SECCIÓN DEBE SER DILIGENCIADA SOLO POR EL TESTIGO.

Con mi firma certifico que estuve presente durante la discusión del Formato de Consentimiento, todas las dudas fueron resueltas satisfactoriamente y la participación de este voluntario(a) es voluntaria.

Nombre del Testigo

Firma del testigo

Fecha:

Dirección: _____ Ciudad: _____

Teléfono (fijo y/o celular): _____

Relación con el voluntario/a: _____



NIVELES DE CITOCINAS PRO TH1 EN ORINA DE PACIENTES CON LUPUS ERITEMATOSO SISTEMICO

INVESTIGADORES:

Ricardo Rosero

Juan Camilo Rueda

TUTOR TEMÁTICO:

Dr. Alberto De Zubiría

Dra. Paola Santander

TUTOR EPIDEMIOLOGICO:

Dr. Carlos E. Granados G. Universidad de la Sabana

UNIDAD ACADÉMICA:

Hospital Universitario de la Samaritana

UNIDAD INVESTIGATIVA:

Grupo de Investigación (GICSA) Hospital Universitario de la Samaritana

INTRODUCCIÓN

- Enfermedad autoinmune
- Compromiso multiorgánico
- Ambiente de citocinas aberrantes
 - Difiere de controles sanos, otras enfermedades autoinmunes y diferentes fenotipos del LES

INTRODUCCIÓN

- Balance entre las citocinas determina:
 - Fenotipo
 - Severidad
 - Susceptibilidad a la enfermedad
- Patogénesis del LES:
 - Desequilibrio entre citocinas producidas por linfocitos Th1 y Th2

INTRODUCCIÓN

- Los linfocitos pre-Th + IL12 e IL18 = linfocitos secretores de citocinas Th1
- Trabajos en modelos animales y en humanos han demostrado la importancia del papel de las citocinas pro-Th1

JUSTIFICACIÓN

- Ante la falta de marcadores no invasivos predictores de actividad lúpica, decidimos estudiar los niveles de 2 citocinas pro-Th1 en pacientes con LES, con el fin de poderlas utilizar en un futuro como pruebas diagnósticas y pronósticas que permitan una identificación precoz para instaurar un manejo temprano y así lograr reducir la progresión y desenlaces catastróficos

METODOLOGÍA

POBLACIÓN ESTUDIO

- Se realizó un estudio observacional analítico de corte transversal en pacientes con diagnóstico de LES según los criterios del ACR
- Los pacientes fueron recolectados en los servicios de consulta externa, urgencias y hospitalización de los servicios de Medicina Interna e Inmuno-Reumatología del Hospital Universitario de la Samaritana
- Se dividieron los pacientes en los siguientes grupos:
 - LES activo
 - LES inactivo

POBLACIÓN ESTUDIO

- Se recolectaron de manera aleatoria 30 sujetos sanos, sin antecedentes autoinmunes tanto personales como familiares, los cuales fueron asignados al grupo control
- Se evaluó la actividad del lupus con el SLEDAI
 - Inactividad (0 a 4)
 - Actividad moderada (5 a 8)
 - Actividad severa o grave (mayor a 8)
- El tipo de muestreo se realizó por muestreo no probabilístico por conveniencia durante un periodo de 2 años

UROANÁLISIS Y DETECCIÓN DE ESTEARASA LEUCOCITARIA

- Con el fin de descartar infección de tracto urinario (UTI)
- A todas las muestras se les realizó uroanálisis y detección de estearasa leucocitaria, utilizando el lector de tiras Multistik (10S6) Clinitek advantus.

CUANTIFICACIÓN DE CITOCINAS

- La cuantificación de citocinas pro-Th1 en orina se estudió utilizando citometría de flujo multiparamétrica (Beckman Coulter) con un estuche comercial de eBiosciences (IL-12, IL-18 y MCP-1)
- Con el fin de corregir el estado de hidratación del paciente, la concentración de citocinas fue normalizada y expresada como la proporción de picogramo (pg) de citocina por miligramo (mg) de creatinina (citocina/creatinina: pg/mg)

ANÁLISIS

- Las variables cualitativas se presentaron con su distribución de frecuencias
- Las variables cuantitativas se resumieron con su mediana y rango intercuartil (RIQ)
- Se realizó comparación de medianas de los niveles de citocinas en orina de individuos con LES activo, LES no activo y sanos a través de la prueba no paramétrica o test estadístico de Kruskal-Wallis
- Los paquetes informáticos utilizados fueron:
 - Microsoft Office Excel® 2003: construcción de la base de datos a partir del fichero inicial.
 - STATA®, versión 11.0 Statacorp, Collage Station, Texas (USA): análisis estadístico descriptivo e inferencial

RESULTADOS

POBLACIÓN ESTUDIO

- Se valoraron 77 individuos:
 - 61% (n: 47) fueron pacientes con LES y 39% (n: 30) fueron sanos
 - Mediana de edad: 26 años (RIC: 22 a 33)
 - Sexo:
 - Mujeres: 76.62% (n: 59)
 - Hombres: 23.38% (n: 18)
- Dentro de los pacientes con LES:
 - 63.82% (n: 30) tenían actividad al momento de la toma de la muestra de orina
 - 36.17% (n: 17) se encontraban inactivos

- **Edad y sexo según el tipo de sujetos**

Parámetro	LES	Sanos	Valor de P
Edad en años (mediana; RIC)	31 (24 a 44)	23.5 (22 a 26)	0.0002
Sexo (n; %)			0.099
-Femenino	39 (66.1)	20 (33.9)	
-Masculino	8 (44.4)	10 (55.5)	

- **SLEDAI**

- Mediana: 10
- RIC: 4 a 20

- **Características generales de los pacientes con LES**

Parámetro	n	Porcentaje (%)
Compromiso cutáneo	11	23.40
Compromiso articular	7	14.89
Serositis	5	10.64
Compromiso SNC	4	8.51
Compromiso renal	25	53.19
Compromiso hematológico	19	40.43
ANAs positivos	40	85.10
Anti-DNA positivo	31	65.95
Anti-C1q positivo	27	57.44
Hipocomplementemia	30	63.82

INTERLEUCINAS

- Valores de interleucinas entre pacientes con LES y controles

Parámetro	LES Mediana (RIC)	Sanos Mediana (RIC)	Total Mediana (RIC)	Valor de P
IL12 (pg/mg)	0.02 (0 a 0.5)	2.24 (0.11 a 0.37)	0.15 (0 a 0.43)	<i>0.108</i>
IL18 (pg/mg)	0.01 (0 a 22.28)	8.5 (2.65 a 19.49)	6.62 (0 a 20.48)	<i>0.043</i>
MCP-1 (pg/mg)	4.63 (0.72 a 14.71)	0.40 (0.09 a 0.88)	1.16 (0.36 a 5.88)	<i>0.0001</i>

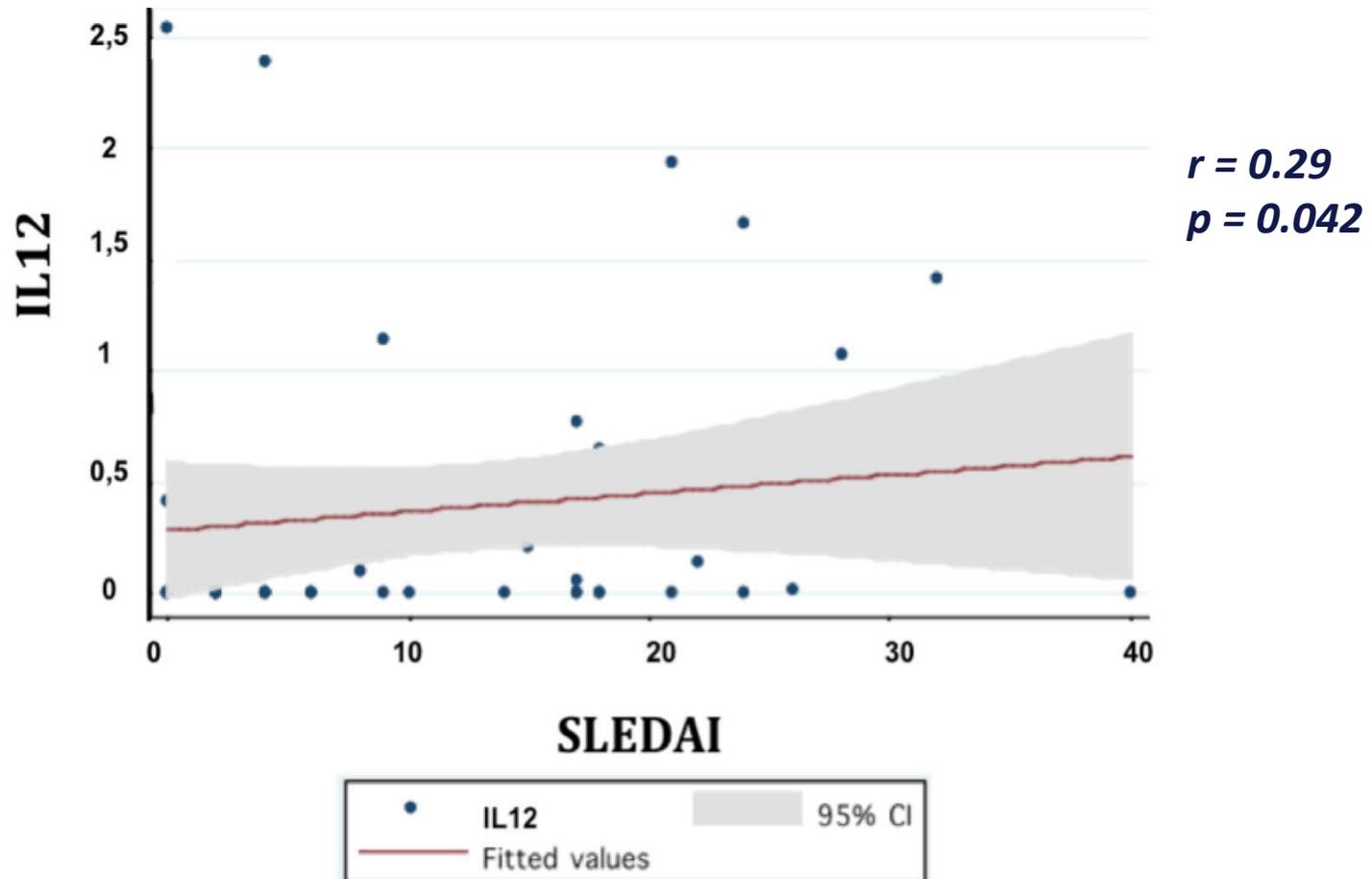
INTERLEUCINAS

- Valores de interleucinas entre pacientes con LES y controles

Parámetro	LES activo Mediana (RIC)	LES inactivo Mediana (RIC)	Sanos Mediana (RIC)	Valor de P
IL12 (pg/mg)	0.12 (0 a 0.65)	0 (0 a 0.41)	2.24 (0.11 a 0.37)	0.138
IL18 (pg/mg)	4.86 (0 a 22.28)	0 (0 a 14.74)	8.5 (2.65 a 19.49)	0.053
MCP-1 (pg/mg)	11.42 (4.05 a 22.56)	0.72 (0,54 a 1.23)	0.40 (0.09 a 0.88)	0.0001

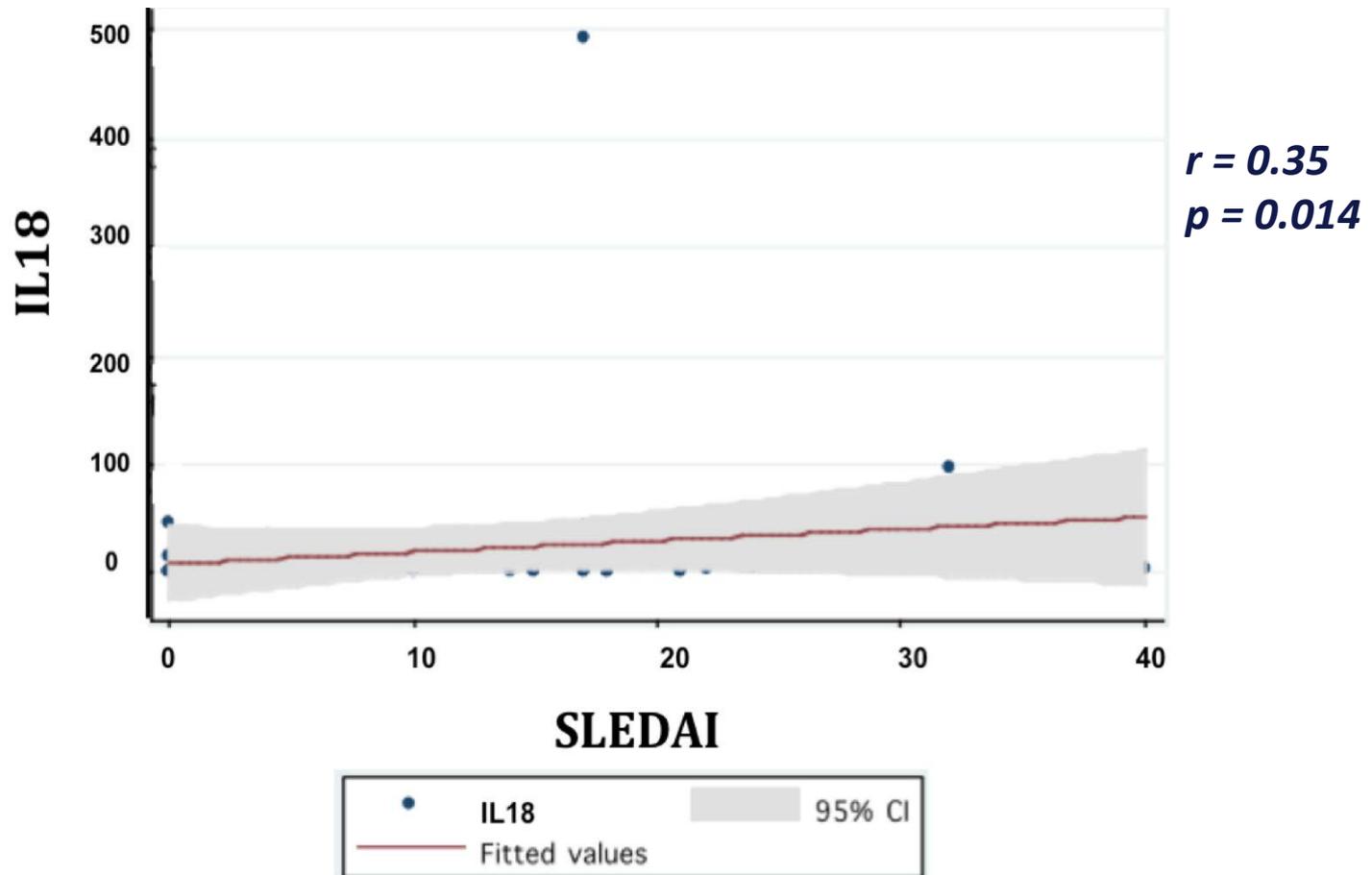
INTERLEUCINAS

- Correlación entre SLEDAI e IL-12



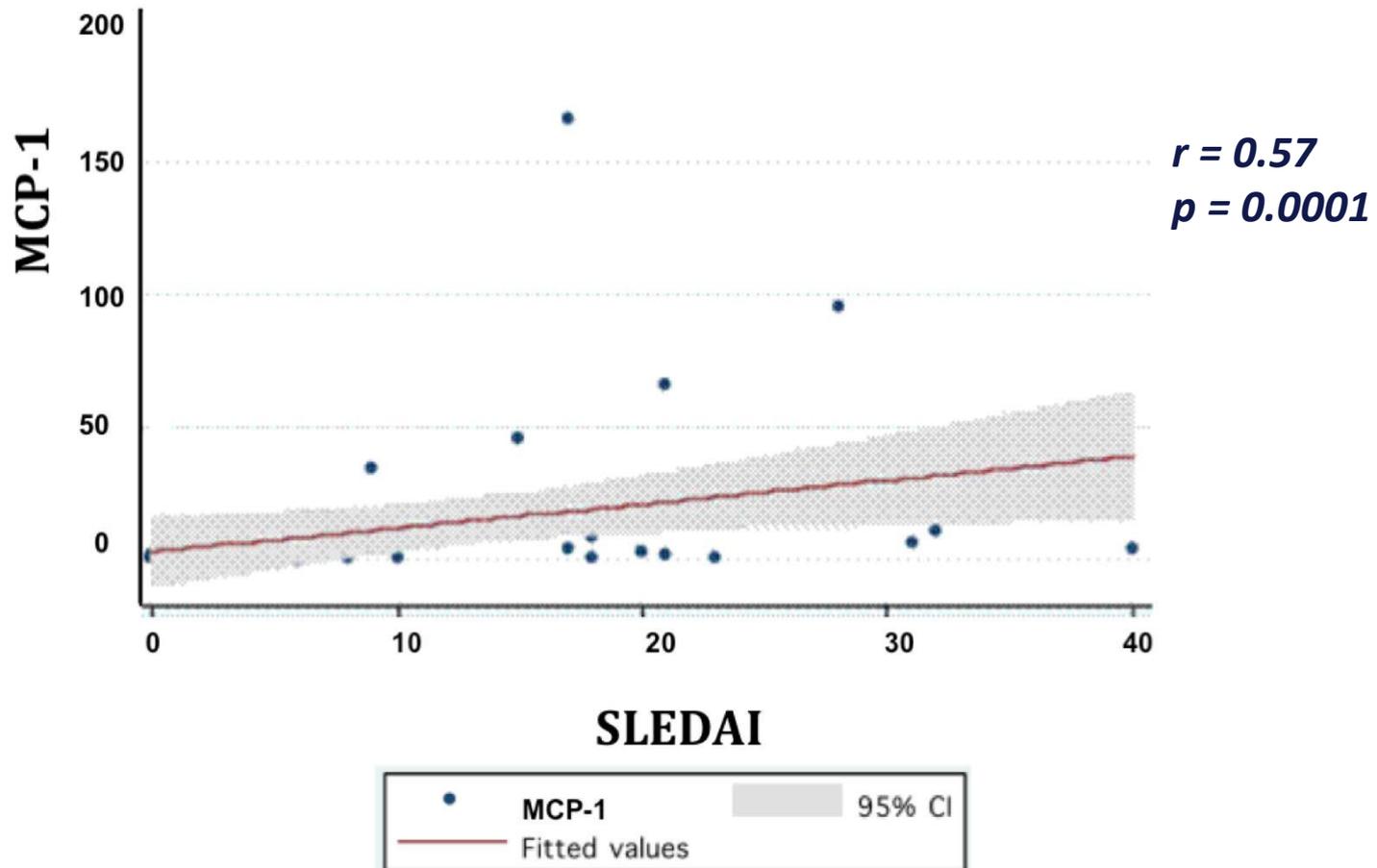
INTERLEUCINAS

- Correlación entre SLEDAI e IL-18



INTERLEUCINAS

- Correlación entre SLEDAI y MCP-1



CONCLUSIONES

POBLACIÓN ESTUDIO

- La distribución de la muestra estudiada es similar a la de la población general con LES, en cuanto a sexo y edad
- La mayoría de los pacientes estudiados presentaban actividad lúpica, lo cual se ve reflejado tanto en la mediana de SLEDAI como en los parámetros serológicos
- Aunque el compromiso renal fue el parámetro de mayor presentación, no se diferenció entre nefritis activa y no activa

IL-12

- No se encontró relación entre niveles elevados de IL-12 y los pacientes con LES tanto activos como no activos
- Tampoco se evidenció correlación fuerte entre el SLEDAI y los niveles elevados de IL-12

IL-18

- Se encontró que en comparación con la IL-12, la IL-18 presenta niveles mas altos, sin embargo con RICs muy amplios
- Se evidenció niveles mas altos de IL-18 en pacientes con LES activo que en pacientes con LES inactivo
- Hubo correlación positiva moderada entre los niveles de SLEDAI y de IL-18

MCP-1

- Fue la citocina con la distribución mas predecible
- Se encontraron niveles mas altos en pacientes con LES que en sanos
- Se evidenció niveles mas altos en pacientes con LES activo en comparación con pacientes con LES inactivo
- Hubo correlación positiva fuerte entre los niveles de SLEDAI y los niveles de MCP-1

DISCUSIÓN

- **Tucci M., et al:**
 - n: 150 pacientes con LES; 69 controles
 - 3 grupos:
 - A: nefritis; n: 52 (dx confirmado por Bx)
 - B: sin nefritis; n: 98
 - C: controles; n: 69
 - ELISA:
 - IL-12p70/p40 e IL-4 (sangre y orina)
 - IL-23p19 e IFN- γ (sangre)
 - Inmunohistoquímica:
 - Acumulación glomerular de IL-12

- **Tucci M., et al:**
 - Mayores niveles de IL-12 en sangre (ptes con NL)
 - No se relacionó IL-4 con daño renal
 - Relación directa entre IFN- γ y severidad de daño renal
 - Acumulación de IL-12 en células mononucleares glomerulares, correlacionado con niveles urinarios

- **Migliorini P., et al:**
 - n: 50 ptes con LES; 32 controles
 - ELISA sangre y orina:
 - IL-18
 - IL-18BP (proteína de unión de la IL-18)
 - Calculo matemático: IL-18 libre
 - Seguimiento de 8 pacientes con LES activo

- **Migliorini P., et al:**

- Niveles séricos mas altos de IL-18, IL-18BP e IL-18 libre en pacientes con LES que en controles
- Niveles urinarios mas altos de IL-18 en pacientes con LES que en controles
- No correlación entre los niveles urinarios de IL-18 y proteinuria
- Niveles séricos mas altos de IL-18 e IL-18 libre en pacientes con LES activo que en LES inactivo

- **Migliorini P., et al:**
 - Correlación entre ECLAM y niveles séricos de IL-18 e IL-18 libre
 - Niveles séricos más altos de IL-18 e IL-18 libre en LES activo sin nefritis que en LES activo con nefritis
 - No encontraron diferencias en los niveles urinarios de IL-18 e IL-18 libre entre LES activo sin nefritis y LES activo con nefritis

CONTROVERSIA

GRACIAS

RESUMEN ANALÍTICO DE INVESTIGACIÓN (R.A.I)

ORIENTACIONES PARA SU ELABORACIÓN:

El Resumen Analítico de Investigación (RAI) debe ser elaborado en Excel según el siguiente formato registrando la información exigida de acuerdo la descripción de cada

No.	VARIABLES	DESCRIPCIÓN DE LA VARIABLE
1	NOMBRE DEL POSTGRADO	Medicina Interna.
2	TÍTULO DEL PROYECTO	Niveles de citocinas pro Th1 en orina de pacientes con lupus eritematos sistémico
3	AUTOR(es)	Rosero Revelo Ricardo Javier, Rueda Sanchez Juan Camilo
4	AÑO Y MES	2013-03.
5	NOMBRE DEL ASESOR(a)	DeZubiria, Alberto, Granados, Carlos.
6	DESCRIPCIÓN O ABSTRACT	<p>Los estudios han sugerido que hay un imbalance en la producción de células T helper, (Th1 y Th2) que juega un papel importante en la patogénesis del LES. Además, se ha demostrado el predominio de genes de expresión de las citocinas Th1 y MCP-1 en el sedimento urinario de pacientes con nefritis lupica activa. Se realizó un análisis cuantitativo de las citocinas pro Th-1 (IL-18) y MCP-1 en sedimento urinario de pacientes con LES. Nuestros resultados confirman observaciones previamente mencionadas, donde hubo elevación de los niveles de MCP-1 en sedimento urinario en pacientes con nefritis lupica, además esta es la primera vez que se midió las citocinas pro Th1 (IL-18) en orina, encontrando elevación en este mismo grupo de pacientes. < Studies have suggested that an imbalance in the cytokines produced by T-helper cells (Th-1 and Th-2) plays an important role in the pathogenesis of SLE. Furthermore, it has been demonstrated the predominance of Th-1 cytokine gene expression and MCP-1 in the urinary sediment of patients with active lupus nephritis. We performed a quantitative analysis of a pro Th-1 cytokine (IL-18) and MCP-1 in the urinary sediment of patients with SLE. Our results confirm previous observations of elevated levels of MCP-1 in urinary sediment of patients with lupus nephritis, however this is the first time that a pro-Th1 cytokine (IL-18) measured in urine is found elevated with in patients with lupus nephritis, proving the role of pro-Th1 cytokines in lupus nephritis. Further analyses with a larger sample and more pro-Th1 cytokines (IL-12, IL-23, IL-27) are needed to confirm these observations <</p>
7	PALABRAS CLAVES	Lupus, citocinas, nefritis, actividad.
8	SECTOR ECONÓMICO AL QUE PERTENECE EL PROYECTO	no aplica.
9	TIPO DE ESTUDIO	Estudio observacional analítico de corte transversal
10	OBJETIVO GENERAL	Determinar los niveles de las citocinas pro-Th1 (IL12 e IL18) en la orina de los pacientes con LES activo, inactivo y controles no enfermos.

11	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	Describir las características clínicas de la muestra estudiada. Estimar los niveles medios de citocinas pro-Th1 (IL12 e IL18) en pacientes con LES activo, LES inactivo y sujetos sanos. Explorar si los niveles de citocinas en pro-Th1 (IL12 e IL18) en orina se correlacionan con los parámetros clínicos y paraclínicos de la actividad lúpica.
----	------------------------------	---

12	RESUMEN GENERAL	<p>El lupus eritematoso sistémico (LES) es el prototipo de enfermedad autoinmune, pues puede tener un gran abanico de manifestaciones. Puede afectar cualquier órgano del cuerpo humano pero el compromiso renal (nefritis lúpica) puede asociarse a una alta morbilidad y progresión a enfermedad renal terminal (1). La incidencia del compromiso renal es más variable y oscila entre 25 y 75% dependiendo de la población estudiada y los criterios diagnósticos utilizados para identificar el compromiso renal (2-5). En general, el 60% de los pacientes con LES desarrollarán nefritis de relevancia clínica durante el curso de su enfermedad (1). Las poblaciones afroamericanas e hispanas parecen desarrollar nefritis más frecuentemente y en forma más temprana y severa (6, 8). La glomérulo nefritis que lleva a proteinuria severa persistente, falla renal y enfermedad renal terminal sigue siendo una de las complicaciones más severas del LES con una morbilidad y mortalidad significativa (9).</p> <p>Actualmente la evaluación de los pacientes con LES incluye anticuerpos, complemento, uroanálisis, depuración de creatinina y la medición de la proteinuria (28). Sin embargo, estos parámetros no son predictivos de severidad de actividad lúpica y no tienen relación con la clasificación o severidad de la nefropatía observada en la biopsia, ni tampoco han demostrado ser seguros en evaluar la respuesta al tratamiento (29).</p> <p>Ante la falta de marcadores no invasivos predictores de actividad lúpica, con buena correlación con las complicaciones más severas, se requiere el desarrollo de nuevas pruebas diagnósticas y pronósticas que permitan una identificación precoz para instaurar un manejo temprano y así lograr reducir la progresión y desenlaces catastróficos.</p> <p>Los objetivos son, determinar los niveles de las citocinas pro-Th1 (IL12 e IL18) en la orina de los pacientes con LES activo, inactivo y controles no enfermos. Describir las características clínicas de la muestra estudiada. Estimar los niveles medios de citocinas pro-Th1 (IL12 e IL18) en pacientes con LES activo, LES inactivo y sujetos sanos. Explorar si los niveles de citocinas en pro-Th1 (IL12 e IL18) en orina se correlacionan con los parámetros clínicos y paraclínicos de la actividad lúpica.</p> <p>Para esto se realizó un estudio observacional analítico de corte transversal en pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, los cuales se fraccionaron en dos grupos divididos así: pacientes con lupus activo y pacientes con lupus inactivo, los cuales fueron recolectados por medio de un instrumento predeterminado, en los diferentes servicios de Medicina Interna e Inmunología del Hospital Universitario de la Samaritana. Para el grupo control se recolectaron mediante muestreo no probabilístico por conveniencia. Se consideró el diagnóstico de lupus activo según la clasificación de LES del Colegio Americano de Reumatología (30). Se evaluó la actividad del lupus con el SLEDAI. El tipo de muestreo se realizó por muestreo no probabilístico por conveniencia. La</p>
----	-----------------	--

13	CONCLUSIONES.	<p>El LES es una enfermedad autoinmune caracterizada por un ambiente de citocinas aberrantes y compromiso multiorgánico (10, 11). Aunque el LES es generalmente considerado un prototipo de enfermedad dominado por citocinas pro-Th2, reportes recientes de trabajos en modelos animales y en humanos han demostrado la importancia del papel de las citocinas pro-Th1.</p> <p>Nuestro estudio es el primero en evaluar al mismo tiempo los niveles de dos citocinas pro-Th1 (IL12 e IL18) en orina de pacientes con LES y controles sanos, comparándolo con la MCP-1, marcador urinario ya demostrado en LES.</p> <p>Los resultados mostraron una elevación en los niveles de IL-18 ($p=0.053$), y como era de esperarse de MCP-1 ($p=0.0001$), en la orina de pacientes con LES con significancia estadística, inclusive con mayor expresión en pacientes con LES activo.</p> <p>Otros estudios han demostrado la presencia de IL18 en orina de pacientes con LES. Migliorini y colaboradores, encontraron que los niveles de IL18 en sangre y orina fueron más altos en pacientes con LES que en los controles sanos, sin embargo solamente se evidenció correlación con la actividad lúpica en los niveles en sangre mas no en orina (34). En dicho estudio, la mayoría de pacientes con LES activo (16 de 22) presentaban nefritis lúpica, lo que genera sesgo al comparar los niveles entre subgrupos de actividad. En contraste, otros estudios han demostrado la elevación de IL18 en orina como marcador de daño renal agudo al igual que predictor de severidad en enfermedad renal aguda en niños críticamente enfermos (35).</p> <p>La controversia continua, pues nuestro estudio si muestra diferencias entre los niveles de IL18 de pacientes con LES activo y no activo. A diferencia del estudio de Migliorini y colaboradores, nuestro estudio no diferenció entre subgrupos de actividad lúpica, lo que sería interesante estudiar con una muestra más amplia y con un mayor número de pacientes con compromiso renal, al igual que múltiples mediciones a lo largo de la evolución de la enfermedad.</p> <p>No así ocurrió con la IL12, la cual, aunque fue más alta en pacientes con LES activo en comparación con los pacientes con LES no activo ($p=0.138$), no fue posible establecer significancia estadística. Estudios previos han demostrado la correlación entre los niveles de IL12 en orina y sangre y la actividad lúpica, en especial nefritis (36). Tucci y colaboradores encontraron mayor expresión de IL12 en la orina de pacientes con nefritis lúpica en comparación con pacientes con otra actividad. La falta de diferenciación en los subgrupos de los pacientes con actividad lúpica estudiados en nuestra muestra podría dar una posible explicación a la diferencia entre nuestros hallazgos y los de Tucci y colaboradores.</p> <p>Los datos obtenidos suman evidencia en cuanto a la medición de MCP-1 en orina de pacientes con LES y confirman su efectividad como marcador de actividad lúpica, pues fue esta la de mayor</p>
----	---------------	--

14	FUENTES BIBLIOGRÁFICAS	<ol style="list-style-type: none"> 1. Singh S., Saxena R., Lupus nephritis. <i>Am J Med Sci</i> 2009; 337: 451-460. 2. Cameron JS. Lupus nephritis. <i>J Am Soc Nephrol</i> 1999; 10: 413-424. 3. Cervera R., Khamashta MA., Font J., et al. Systemic lupus erythematosus: clinical and immunological patterns of disease expression in a cohort of 1000 patients. The European Working Party on systemic lupus erythematosus. <i>Medicine (Baltimore)</i> 1993; 72: 113-124. 4. Vlachoyiannopoulos PG., Karassa FB., Karakostas KX., et al. Systemic lupus erythematosus in Greece. Clinical features, evolution and outcome: a descriptive analysis of 292 patients. <i>Lupus</i> 1993; 2: 303-312. 5. Wallace DJ., Podell TE., Weiner JM., et al. Lupus nephritis. Experience with 230 patients in a private practice from 1950 to 1980. <i>Am J Med</i> 1982; 72: 209-220. 6. Cooper GS., Parks CG., Treadwell EL., et al. Differences by race, sex and age in the clinical and immunologic features of recently diagnosed systemic lupus erythematosus patients in the southeastern United States. <i>Lupus</i> 2002; 11: 161-167. 7. Mavragani CP., Moutsopoulos HM. Lupus nephritis: current issues. <i>Ann Rheum Dis</i> 2003; 62: 795-798. 8. Reveille JD., Bartolucci A., Alarcón GS. Prognosis in systemic lupus erythematosus. Negative impact of increasing age at onset, black race, and thrombocytopenia, as well as causes of death. <i>Arthritis Rheum</i> 1990; 33: 37-48. 9. Bagavant H., Fu SM., Pathogenesis of kidney disease in systemic lupus erythematosus. <i>Curr Opin Rheumatol</i> 2009; 21: 489-494. 10. Horwitz DA., Jacob CO. The cytokine network in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus and possible therapeutic implications. <i>Springer Semin Immunopathol</i> 1994; 16: 181-200. 11. Kotzin BL. Systemic lupus erythematosus. <i>Cell</i> 1996; 85: 303-306. 12. Dean SG., Tyrrell-Price J., Crawley E., et al. Cytokines and systemic lupus erythematosus. <i>Ann Rheum Dis</i> 2000; 59: 243-251. 13. Jara LJ., Irigoyen L., Ortiz MJ., et al. Prolactin and interleukin-6 in neuropsychiatric lupus erythematosus. <i>Clin Rheumatol</i> 1998; 17: 110-114. 14. Foster MH., Kelley VR. Lupus nephritis: update on pathogenesis and disease mechanisms. <i>Semin Nephrol</i> 1999; 19: 173-181. 15. Abbas AK., Lichtman AH., Pillai S. <i>Inmunología celular y molecular</i>. 6ta ed. Barcelona: Elsevier Saunders, 2008. 16. Chan RW., Lai FM., Li EK., et al. Intrarenal cytokine gene expression in lupus Nephritis. <i>Ann</i>
----	------------------------	--

Vo Bo Asesor y Coordinador de Investigación:

RESUMEN ANALÍTICO DE INVESTIGACIÓN (R.A.I)

ORIENTACIONES PARA SU ELABORACIÓN:

El Resumen Analítico de Investigación (RAI) debe ser elaborado en Excel según el siguiente formato registrando la información exigida de acuerdo la descripción de cada

No.	VARIABLES	DESCRIPCIÓN DE LA VARIABLE
1	NOMBRE DEL POSTGRADO	Medicina Interna.
2	TÍTULO DEL PROYECTO	Niveles de citocinas pro Th1 en orina de pacientes con lupus eritematos sistémico
3	AUTOR(es)	Rosero Revelo Ricardo Javier, Rueda Sanchez Juan Camilo
4	AÑO Y MES	2013-03.
5	NOMBRE DEL ASESOR(a)	DeZubiria, Alberto, Granados, Carlos.
6	DESCRIPCIÓN O ABSTRACT	<p>Los estudios han sugerido que hay un imbalance en la producción de células T helper, (Th1 y Th2) que juega un papel importante en la patogénesis del LES. Además, se ha demostrado el predominio de genes de expresión de las citocinas Th1 y MCP-1 en el sedimento urinario de pacientes con nefritis lupica activa. Se realizó un análisis cuantitativo de las citocinas pro Th-1 (IL-18) y MCP-1 en sedimento urinario de pacientes con LES. Nuestros resultados confirman observaciones previamente mencionadas, donde hubo elevación de los niveles de MCP-1 en sedimento urinario en pacientes con nefritis lupica, además esta es la primera vez que se midió las citocinas pro Th1 (IL-18) en orina, encontrando elevación en este mismo grupo de pacientes. < Studies have suggested that an imbalance in the cytokines produced by T-helper cells (Th-1 and Th-2) plays an important role in the pathogenesis of SLE. Furthermore, it has been demonstrated the predominance of Th-1 cytokine gene expression and MCP-1 in the urinary sediment of patients with active lupus nephritis. We performed a quantitative analysis of a pro Th-1 cytokine (IL-18) and MCP-1 in the urinary sediment of patients with SLE. Our results confirm previous observations of elevated levels of MCP-1 in urinary sediment of patients with lupus nephritis, however this is the first time that a pro-Th1 cytokine (IL-18) measured in urine is found elevated with in patients with lupus nephritis, proving the role of pro-Th1 cytokines in lupus nephritis. Further analyses with a larger sample and more pro-Th1 cytokines (IL-12, IL-23, IL-27) are needed to confirm these observations <</p>
7	PALABRAS CLAVES	Lupus, citocinas, nefritis, actividad.
8	SECTOR ECONÓMICO AL QUE PERTENECE EL PROYECTO	no aplica.
9	TIPO DE ESTUDIO	Estudio observacional analítico de corte transversal
10	OBJETIVO GENERAL	Determinar los niveles de las citocinas pro-Th1 (IL12 e IL18) en la orina de los pacientes con LES activo, inactivo y controles no enfermos.

11	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	Describir las características clínicas de la muestra estudiada. Estimar los niveles medios de citocinas pro-Th1 (IL12 e IL18) en pacientes con LES activo, LES inactivo y sujetos sanos. Explorar si los niveles de citocinas en pro-Th1 (IL12 e IL18) en orina se correlacionan con los parámetros clínicos y paraclínicos de la actividad lúpica.
----	------------------------------	---

12	RESUMEN GENERAL	<p>El lupus eritematoso sistémico (LES) es el prototipo de enfermedad autoinmune, pues puede tener un gran abanico de manifestaciones. Puede afectar cualquier órgano del cuerpo humano pero el compromiso renal (nefritis lúpica) puede asociarse a una alta morbilidad y progresión a enfermedad renal terminal (1). La incidencia del compromiso renal es más variable y oscila entre 25 y 75% dependiendo de la población estudiada y los criterios diagnósticos utilizados para identificar el compromiso renal (2-5). En general, el 60% de los pacientes con LES desarrollarán nefritis de relevancia clínica durante el curso de su enfermedad (1). Las poblaciones afroamericanas e hispanas parecen desarrollar nefritis más frecuentemente y en forma más temprana y severa (6, 8). La glomérulo nefritis que lleva a proteinuria severa persistente, falla renal y enfermedad renal terminal sigue siendo una de las complicaciones más severas del LES con una morbilidad y mortalidad significativa (9).</p> <p>Actualmente la evaluación de los pacientes con LES incluye anticuerpos, complemento, uroanálisis, depuración de creatinina y la medición de la proteinuria (28). Sin embargo, estos parámetros no son predictivos de severidad de actividad lúpica y no tienen relación con la clasificación o severidad de la nefropatía observada en la biopsia, ni tampoco han demostrado ser seguros en evaluar la respuesta al tratamiento (29).</p> <p>Ante la falta de marcadores no invasivos predictores de actividad lúpica, con buena correlación con las complicaciones más severas, se requiere el desarrollo de nuevas pruebas diagnósticas y pronósticas que permitan una identificación precoz para instaurar un manejo temprano y así lograr reducir la progresión y desenlaces catastróficos.</p> <p>Los objetivos son, determinar los niveles de las citocinas pro-Th1 (IL12 e IL18) en la orina de los pacientes con LES activo, inactivo y controles no enfermos. Describir las características clínicas de la muestra estudiada. Estimar los niveles medios de citocinas pro-Th1 (IL12 e IL18) en pacientes con LES activo, LES inactivo y sujetos sanos. Explorar si los niveles de citocinas en pro-Th1 (IL12 e IL18) en orina se correlacionan con los parámetros clínicos y paraclínicos de la actividad lúpica.</p> <p>Para esto se realizó un estudio observacional analítico de corte transversal en pacientes que cumplieron con los criterios de inclusión, los cuales se fraccionaron en dos grupos divididos así: pacientes con lupus activo y pacientes con lupus inactivo, los cuales fueron recolectados por medio de un instrumento predeterminado, en los diferentes servicios de Medicina Interna e Inmunología del Hospital Universitario de la Samaritana. Para el grupo control se recolectaron mediante muestreo no probabilístico por conveniencia. Se consideró el diagnóstico de lupus activo según la clasificación de LES del Colegio Americano de Reumatología (30). Se evaluó la actividad del lupus con el SLEDAI. El tipo de muestreo se realizó por muestreo no probabilístico por conveniencia. La</p>
----	-----------------	--

13	CONCLUSIONES.	<p>El LES es una enfermedad autoinmune caracterizada por un ambiente de citocinas aberrantes y compromiso multiorgánico (10, 11). Aunque el LES es generalmente considerado un prototipo de enfermedad dominado por citocinas pro-Th2, reportes recientes de trabajos en modelos animales y en humanos han demostrado la importancia del papel de las citocinas pro-Th1.</p> <p>Nuestro estudio es el primero en evaluar al mismo tiempo los niveles de dos citocinas pro-Th1 (IL12 e IL18) en orina de pacientes con LES y controles sanos, comparándolo con la MCP-1, marcador urinario ya demostrado en LES.</p> <p>Los resultados mostraron una elevación en los niveles de IL-18 ($p=0.053$), y como era de esperarse de MCP-1 ($p=0.0001$), en la orina de pacientes con LES con significancia estadística, inclusive con mayor expresión en pacientes con LES activo.</p> <p>Otros estudios han demostrado la presencia de IL18 en orina de pacientes con LES. Migliorini y colaboradores, encontraron que los niveles de IL18 en sangre y orina fueron más altos en pacientes con LES que en los controles sanos, sin embargo solamente se evidenció correlación con la actividad lúpica en los niveles en sangre mas no en orina (34). En dicho estudio, la mayoría de pacientes con LES activo (16 de 22) presentaban nefritis lúpica, lo que genera sesgo al comparar los niveles entre subgrupos de actividad. En contraste, otros estudios han demostrado la elevación de IL18 en orina como marcador de daño renal agudo al igual que predictor de severidad en enfermedad renal aguda en niños críticamente enfermos (35).</p> <p>La controversia continua, pues nuestro estudio si muestra diferencias entre los niveles de IL18 de pacientes con LES activo y no activo. A diferencia del estudio de Migliorini y colaboradores, nuestro estudio no diferenció entre subgrupos de actividad lúpica, lo que sería interesante estudiar con una muestra más amplia y con un mayor número de pacientes con compromiso renal, al igual que múltiples mediciones a lo largo de la evolución de la enfermedad.</p> <p>No así ocurrió con la IL12, la cual, aunque fue más alta en pacientes con LES activo en comparación con los pacientes con LES no activo ($p=0.138$), no fue posible establecer significancia estadística. Estudios previos han demostrado la correlación entre los niveles de IL12 en orina y sangre y la actividad lúpica, en especial nefritis (36). Tucci y colaboradores encontraron mayor expresión de IL12 en la orina de pacientes con nefritis lúpica en comparación con pacientes con otra actividad. La falta de diferenciación en los subgrupos de los pacientes con actividad lúpica estudiados en nuestra muestra podría dar una posible explicación a la diferencia entre nuestros hallazgos y los de Tucci y colaboradores.</p> <p>Los datos obtenidos suman evidencia en cuanto a la medición de MCP-1 en orina de pacientes con LES y confirman su efectividad como marcador de actividad lúpica, pues fue esta la de mayor</p>
----	---------------	--

14	FUENTES BIBLIOGRÁFICAS	<ol style="list-style-type: none"> 1. Singh S., Saxena R., Lupus nephritis. <i>Am J Med Sci</i> 2009; 337: 451-460. 2. Cameron JS. Lupus nephritis. <i>J Am Soc Nephrol</i> 1999; 10: 413-424. 3. Cervera R., Khamashta MA., Font J., et al. Systemic lupus erythematosus: clinical and immunological patterns of disease expression in a cohort of 1000 patients. The European Working Party on systemic lupus erythematosus. <i>Medicine (Baltimore)</i> 1993; 72: 113-124. 4. Vlachoyiannopoulos PG., Karassa FB., Karakostas KX., et al. Systemic lupus erythematosus in Greece. Clinical features, evolution and outcome: a descriptive analysis of 292 patients. <i>Lupus</i> 1993; 2: 303-312. 5. Wallace DJ., Podell TE., Weiner JM., et al. Lupus nephritis. Experience with 230 patients in a private practice from 1950 to 1980. <i>Am J Med</i> 1982; 72: 209-220. 6. Cooper GS., Parks CG., Treadwell EL., et al. Differences by race, sex and age in the clinical and immunologic features of recently diagnosed systemic lupus erythematosus patients in the southeastern United States. <i>Lupus</i> 2002; 11: 161-167. 7. Mavragani CP., Moutsopoulos HM. Lupus nephritis: current issues. <i>Ann Rheum Dis</i> 2003; 62: 795-798. 8. Reveille JD., Bartolucci A., Alarcón GS. Prognosis in systemic lupus erythematosus. Negative impact of increasing age at onset, black race, and thrombocytopenia, as well as causes of death. <i>Arthritis Rheum</i> 1990; 33: 37-48. 9. Bagavant H., Fu SM., Pathogenesis of kidney disease in systemic lupus erythematosus. <i>Curr Opin Rheumatol</i> 2009; 21: 489-494. 10. Horwitz DA., Jacob CO. The cytokine network in the pathogenesis of systemic lupus erythematosus and possible therapeutic implications. <i>Springer Semin Immunopathol</i> 1994; 16: 181-200. 11. Kotzin BL. Systemic lupus erythematosus. <i>Cell</i> 1996; 85: 303-306. 12. Dean SG., Tyrrell-Price J., Crawley E., et al. Cytokines and systemic lupus erythematosus. <i>Ann Rheum Dis</i> 2000; 59: 243-251. 13. Jara LJ., Irigoyen L., Ortiz MJ., et al. Prolactin and interleukin-6 in neuropsychiatric lupus erythematosus. <i>Clin Rheumatol</i> 1998; 17: 110-114. 14. Foster MH., Kelley VR. Lupus nephritis: update on pathogenesis and disease mechanisms. <i>Semin Nephrol</i> 1999; 19: 173-181. 15. Abbas AK., Lichtman AH., Pillai S. <i>Inmunología celular y molecular</i>. 6ta ed. Barcelona: Elsevier Saunders, 2008. 16. Chan RW., Lai FM., Li EK., et al. Intrarenal cytokine gene expression in lupus Nephritis. <i>Ann</i>
----	------------------------	--

Vo Bo Asesor y Coordinador de Investigación:

RESUMEN ANALÍTICO DE INVESTIGACIÓN (R.A.I)

ORIENTACIONES PARA SU ELABORACIÓN: