



Papel de los fragmentos de complemento unidos a células como biomarcadores para determinar la actividad de la enfermedad en pacientes con lupus eritematoso sistémico

Diana Marcela Muñoz Urbano
Diana Carolina Quintero González

Trabajo de grado presentado para optar al título de Especialistas en Reumatología

Tutores

Gloria Vásquez, Doctor (PhD) en Inmunología y Esp en Reumatología

Luis Alonso González Naranjo, Especialista (Esp) en Reumatología

Mauricio Rojas, PostDoctor (PostDoc) en Inmunología

Joaquín Rodelo, Magíster (MSc) en Epidemiología

Universidad de Antioquia
Facultad de Medicina
Especialización en Reumatología
Medellín, Antioquia, Colombia

2022

Cita	Muñoz-Urbano M y Quintero-González Diana C. (1)
Referencia	(1) Muñoz-Urbano M, Quintero-González DC. Papel de los fragmentos de complemento unidos a células como biomarcadores para determinar la actividad de la enfermedad en pacientes con lupus eritematoso sistémico [Trabajo de grado especialización]. Medellín, Colombia. Universidad de Antioquia; 2022.
Estilo Vancouver/ICMJE (2018)	



Especialización en Reumatología, Cohorte XXIX.

Grupo de Investigación Reumatología (GRUA) y Grupo de Inmunología celular e Inmunogenética (GICIG)
Sede de Investigación Universitaria (SIU).

Asesora estadística: Alba Luz León Álvarez

Jurados del trabajo de grado: Dra. Carolina Muñoz y Dr. Mauricio Restrepo



Biblioteca Médica

Repositorio Institucional: <http://bibliotecadigital.udea.edu.co>

Universidad de Antioquia - www.udea.edu.co

Rector: John Jairo Arboleda Céspedes

Decano: Carlos Alberto Palacio Acosta

Jefe departamento: Luis Alonso González Naranjo

El contenido de esta obra corresponde al derecho de expresión de los autores y no compromete el pensamiento institucional de la Universidad de Antioquia ni desata su responsabilidad frente a terceros. Los autores asumen la responsabilidad por los derechos de autor y conexos.

Dedicatoria

A nuestros familiares y amigos por el apoyo que recibimos durante estos dos años de residencia en reumatología, así como a nuestros docentes y compañeros de estudio, sin quienes el presente trabajo no hubiese sido posible.

Agradecimientos

Grupo de Inmunología Celular e Inmunogenética (GICIG)
Unidad de citometría de flujo de la Universidad de Antioquia
Personal de salud del Hospital San Vicente Fundación e IPS Artmédica
Pacientes y controles que participaron en el presente estudio
Evaluadores del trabajo: Dra. Carolina Muñoz y Dr. Mauricio Restrepo
Especialmente al resto del equipo de reumatología del HSVF – UdeA

Tabla de contenido

Resumen	8
Abstract	9
Introducción	10
1 Planteamiento del problema	12
2 Justificación	13
3 Objetivos.....	14
3.1 Objetivo general	14
3.2 Objetivos específicos	14
4 Problema de investigación.....	15
5 Hipótesis.....	16
6 Marco teórico.....	17
7 Metodología.....	23
8 Resultados.....	36
9 Discusión	42
10 Conclusiones	47
11 Recomendaciones	48
Referencias	49
Anexos	56

Lista de tablas

Tabla 1. Características demográficas y clínicas	36
Tabla 2. Correlaciones entre los niveles de los CB-CAP y las diluciones de los anticuerpos anti-ADNdc.....	36
Tabla 3. Rendimiento de los CB-CAP para identificar pacientes con actividad lúpica grave (SELENA/SLEDAI _{ns} ≥7puntos).....	37

Lista de figuras

Figura 1 Diagrama con el flujo de pacientes a través de todo el estudio y los principales resultados	38
Figura 2 Correlaciones entre las medianas de la intensidad de fluorescencia de los CB-CAP con la escala SELENA/SLEDAI _{ns} en la totalidad de los pacientes con LES	39
Figura 3 Área bajo la curva ROC.....	39

Siglas, acrónimos y abreviaturas

Anti-ADNdc: anticuerpos contra el ADN de doble cadena

CB-CAP: del inglés *cell-bound complement activation products*

CD: del inglés *cluster of differentiation*

C4d: fracción del complemento C4d

C3d: fracción del complemento C3d

DE: desviación estándar

ELISA: del inglés *enzyme-linked immunosorbent assay*

E: eritrocitos

IFI: inmunofluorescencia indirecta

Ig: inmunoglobulina

LA: Latinoamérica

LES: lupus eritematoso sistémico

MIF: mediana de la intensidad de fluorescencia

μL: microlitros

PBS: del inglés *Phosphate Buffered Saline*

R: reticulocitos

RIC: rango intercuartílico

ROC: del inglés *Receiver Operating Characteristic*

SAF: síndrome antifosfolípidos

SELENA-SLEDAI_{ns}: índice SELENA-SLEDAI no serológico o clínico

TCD4: células T CD4+

TCD8: células T CD

Resumen

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad crónica, autoinmune y multisistémica, caracterizada por recaídas y remisiones, daño orgánico progresivo y aumento de la mortalidad. Por lo que la pronta identificación de los pacientes en riesgo de o en recaída influye en el pronóstico del LES. Uno de los biomarcadores estudiados para medir actividad lúpica han sido los productos de activación del complemento unidos a células (CB-CAP, del inglés *cell-bound complement activation products*), con resultados satisfactorios. Decidimos realizar entonces un estudio transversal analítico para explorar el rol de los CB-CAP en la identificación de la actividad de la enfermedad en pacientes latinoamericanos con LES. Se incluyeron 30 pacientes (93% mujeres), 28 con enfermedad activa según el índice SELENA-SLEDAI no serológico (SELENA-SLEDAI_{ns}). Para todos los pacientes, las correlaciones entre SELENA-SLEDAI_{ns} y la mediana de la intensidad de fluorescencia de C4d unido a linfocitos T CD8+ (TCD8-C4d MIF) y C3d unido a linfocitos T CD8+ (TCD8-C3d MIF) fueron $Rho=0,44$ y $Rho=0,42$, respectivamente. En pacientes con actividad de la enfermedad de leve a moderada, hubo correlaciones significativas entre C4d unido a reticulocitos (R-C4d) MIF ($Rho=0,63$), C4d unido a eritrocitos (E-C4d) MIF ($Rho=0,76$), TCD8-C3d MIF ($Rho=0,85$), C3d unido a reticulocitos (R-C3d) MIF ($Rho=0,82$) y los anticuerpos anti-ADNdc. Finalmente, R-C4d fue el marcador con mejor desempeño para discriminar actividad lúpica grave. Estos datos confirman el buen comportamiento de los CB-CAP como biomarcadores de actividad en LES, especialmente R-C4d. Destacamos los hallazgos de TCD8-C4d como biomarcador de actividad lúpica, no descrito previamente en población occidental.

Palabras clave: Lupus Eritematoso Sistémico, Biomarcador, Activación de Complemento, Citometría de Flujo, Linfocitos T.

Abstract

Systemic lupus erythematosus (SLE) is a chronic, autoimmune, and multisystemic disease, characterized by a relapsing-remitting course, progressive organ damage, and increased mortality. Therefore, the early identification of patients at risk of or in relapse influences the SLE prognosis. One of the biomarkers studied to measure lupus activity has been cell-bound complement activation products (CB-CAP), with satisfactory results. We then decided to conduct an analytical cross-sectional study to explore the role of CB-CAP in identifying disease activity in Latin American lupus patients. Thirty patients (93% women) were included, twenty-eight with active disease according to the non-serological SELENA-SLEDAI index (SELENA-SLEDAIs). For all patients, the correlations between SELENA-SLEDAIs and the median fluorescence intensity of C4d bound to CD8+ T cells (TCD8-C4d MIF) and C3d bound to CD8+ T cells (TCD8-C3d MIF) were $Rho=0.44$ and $Rho=0.42$, respectively. In patients with mild to moderate disease activity, there were significant correlations between C4d bound to reticulocytes (R-C4d) MIF ($Rho=0.63$), C4d bound to erythrocytes (E-C4d) MIF ($Rho=0.76$), TCD8-C3d MIF ($Rho=0.85$), reticulocyte-bound C3d (R-C3d) MIF ($Rho=0.82$), and anti-dsDNA antibodies. Finally, R-C4d was the marker with the best performance in discriminating severe lupus disease activity. These data confirm the reliable performance of CB-CAP as activity biomarkers in SLE, especially R-C4d. We highlight the findings regarding the role of TCD8-C4d as a biomarker of lupus activity, not previously described in the Western population.

Keywords: Systemic Lupus Erythematosus, Biological Markers, Complement Activation, Flow Cytometry, T-Lymphocytes

Introducción

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad crónica, autoinmune y multisistémica (1, 2). El LES se caracteriza por un curso de recaídas y remisiones, daño orgánico progresivo y aumento de la mortalidad (3, 4). Por lo que la pronta identificación de pacientes lúpicos en riesgo de o en recaída es esencial, ya que puede mejorar su pronóstico, permite establecer estrategias preventivas y terapéuticas, e identifica pacientes que podrían responder a un compuesto biológico en particular (5-8). En este sentido, se han desarrollado diferentes medidas compuestas para evaluar la actividad de la enfermedad, como el índice de actividad de la enfermedad del lupus eritematoso sistémico (SLEDAI, del inglés *Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*), la evaluación nacional de la seguridad de los estrógenos en el lupus eritematoso (SELENA, del inglés *Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus National Assessment*) -SLEDAI, la escala del grupo de evaluación del lupus de las islas británicas (BILAG, del inglés *British Isles Lupus Assessment Group*), entre muchas otras. Sin embargo, su complejidad en ocasiones dificulta el uso de estos índices en la práctica clínica diaria (9).

Por otra parte, la actividad de la enfermedad en LES también se puede evaluar a través de biomarcadores (10), como el complemento C3 y C4, los anticuerpos contra el ADN de doble cadena (anti-ADNdc), los recuentos de glóbulos blancos y el análisis de orina se utilizan de forma rutinaria en la práctica clínica. Sin embargo, estos marcadores pueden carecer de precisión para evaluar la actividad de la enfermedad. La fuerza de asociación del anti-ADNdc está condicionada por el método de medición y el nivel de los anticuerpos (11). Respecto a la hipocomplementemia de C3 o C4, esta tiene un amplio rango de normalidad que dificulta la detección de ligeras variaciones, el complemento actúa como reactante de fase aguda que puede enmascarar el consumo y además, la variabilidad genética de C4 puede conducir a una deficiencia persistente (12). Por lo que, en la búsqueda de un biomarcador más confiable, se encontró que los fragmentos del complemento (C4d y C3d) en la superficie de las células sanguíneas tenían una vida media más prolongada que los fragmentos solubles debido a su unión covalente más estable. Bajo estos supuestos, en el año 2004, se publicó por primera vez la descripción de niveles anormales de C4d unido a eritrocitos en pacientes con LES (13). Desde

entonces, el comportamiento de los productos de activación del complemento unidos a células (CB-CAP) se ha descrito principalmente en eritrocitos (E-C4d, E-C3d), linfocitos B (B-C4d) y reticulocitos (R-C4d) (14-21).

Hasta el momento, sabemos que la proporción de CB-CAP anormales (E-C4d, B-C4d) aumenta a medida que aumenta la actividad lúpica, en un porcentaje mayor que la hipocomplementemia y la positividad de los anti-ADNdc (15). Además, existe una correlación significativa entre los CB-CAP y los biomarcadores tradicionales y las puntuaciones de actividad de la enfermedad como SELENA/SLEDAI, la medición de la actividad del lupus sistémico (SLAM, del inglés *Systemic Lupus Activity Measurement*) y la escala del BILAG (14,16-19). Los CB-CAP también se reconocen como una variable independiente para puntuaciones más altas del índice de gravedad del lupus (LSI, del inglés *Lupus Severity Index*), principalmente en pacientes más jóvenes, no caucásicos y con LES de larga duración (21). Un estudio prospectivo destaca su potencial para el seguimiento de la actividad, principalmente E-C3d, al identificar su disminución en el tiempo a medida que mejora la actividad del lupus (17). Finalmente, resaltamos también que algunos autores proponen que los CB-CAP podrían estar relacionados con manifestaciones clínicas específicas del LES como la nefritis lúpica (19, 20).

A pesar del creciente conocimiento, los estudios sobre CB-CAP en poblaciones latinoamericanas son escasos (19) y es difícil extrapolar los resultados de otros grupos étnicos, principalmente debido a la heterogeneidad del LES en cuanto a su gravedad y presentación clínica, en diferentes poblaciones (9). Por lo tanto, este estudio tiene como objetivo explorar el comportamiento de los CB-CAP para determinar la actividad lúpica en pacientes colombianos con LES.

1 Planteamiento del problema

El LES es una enfermedad autoinmune de presentación clínica heterogénea y cuyo diagnóstico sigue siendo clínico (1). Además, se destaca que la mortalidad de los pacientes con LES es mayor que la población general (3). La actividad lúpica a menudo se evalúa utilizando diferentes índices compuestos como el SLEDAI, SLAM, o el índice del BILAG. Sin embargo, estos índices son complejos puesto que incluyen diversos parámetros clínicos y de laboratorio, algunos difíciles de implementar en la práctica clínica (9).

Durante décadas ha habido un interés considerable en la investigación de biomarcadores en el LES, pero en la práctica clínica actual, solo los biomarcadores tradicionales como el complemento, los anticuerpos anti-ADNdc, los recuentos de glóbulos blancos y linfocitos y el uroanálisis siguen utilizándose para evaluar la actividad de la enfermedad, aun a pesar de rendimientos insatisfactorios (10). Si bien la relación entre los títulos altos de anti-ADNdc y la actividad de la enfermedad ha sido validada, la fuerza de la asociación depende del método de medición usado y de los niveles de anticuerpos. Así, títulos altos de anti-ADNdc tienen una relación más robusta con respecto a la actividad, mientras que títulos bajos tienen un LLR (del inglés, *likelihood ratio*) positivo reducido (11). Aunque se han desarrollado una gran variedad de biomarcadores en LES, pocos han sido validados y utilizados en la práctica clínica, y los rendimientos han sido poco satisfactorios, dada la heterogeneidad de la desregulación inmunitaria en LES, no ha surgido un biomarcador único capaz de predecir la actividad de la enfermedad (10).

Los biomarcadores ayudarían también en la distinción de los brotes de lupus versus infecciones, lo que a menudo es un desafío. Además, determinar si un brote ha remitido realmente es importante para no exponer a los pacientes al riesgo potencial de efectos secundarios tóxicos de los inmunosupresores (10). La capacidad de medir la actividad de la enfermedad no solo contribuiría al manejo, sino también a conocer el pronóstico de ésta (7). Considerando lo expuesto, resulta más claro entender por qué existe una necesidad de biomarcadores específicos y confiables en pacientes con LES.

2 Justificación

La necesidad de encontrar biomarcadores que ayuden a establecer actividad lúpica es clara por las siguientes razones: 1. la ausencia de reconocimiento de la actividad de la enfermedad puede provocar daños en los órganos afectados, lo que lleva a mayor morbimortalidad y costos en salud; 2. la identificación por medio de un biomarcador de un brote órgano-específico permitirá la adopción de estrategias terapéuticas preventivas oportunas; 3. un biomarcador farmacodinámico puede ayudar a identificar a los pacientes que responderán favorablemente a un compuesto biológico en particular y también a evaluar su eficacia, lo que disminuiría los efectos adversos de la terapia a largo plazo con glucocorticoides e inmunosupresores utilizados en pacientes con LES (5-6,8). Todo lo anterior apunta a la generación de conocimiento en cuanto a biomarcadores en LES, tema en el cual han incursionado diferentes grupos de investigación a nivel mundial, principalmente en las últimas dos décadas. Así mismo, esta investigación aportaría a la solución de un problema ya establecido, respecto a la medición de la actividad lúpica.

Las ventajas de utilizar productos de activación del complemento unidos a células o CB-CAP como biomarcadores en LES son primero, que son estables y sus vidas medias son significativamente más largas que la de los productos de activación del complemento solubles, lo cual hace que sean biomarcadores adecuados. Segundo, los productos de activación derivados de C3 y C4 contienen enlaces capaces de unirse covalentemente a las células sanguíneas circulantes durante su vida útil (22). Finalmente, muchas células hematopoyéticas expresan receptores para fragmentos proteolíticos generados tras la activación del complemento (23). Como se mencionó anteriormente, los CB-CAP se han estudiado en actividad lúpica y si bien existe evidencia al respecto, esta investigación pretende explorar el comportamiento de los CB-CAP (RC4d, EC4d, BC4d, TC4d, RC3d, EC3d, BC3d y TC3d) en distintas células (eritrocitos, reticulocitos y linfocitos T y B) para determinar la actividad lúpica en pacientes colombianos con LES, lo cual, hasta nuestro conocimiento, previamente no se ha reportado.

3 Objetivos

3.1 Objetivo general

Explorar el comportamiento de los CB-CAP para determinar la gravedad de la actividad lúpica.

3.2 Objetivos específicos

- Caracterizar la muestra de estudio de acuerdo con variables demográficas y clínicas.
- Correlacionar los niveles de CB-CAP con niveles séricos de anticuerpos anti-ADNdc, del complemento sérico y la escala SELENA-SLEDAI clínica.
- Identificar cuál de los diferentes CB-CAP tiene mejor rendimiento para determinar actividad en LES.

4 Problema de investigación

Comportamiento de los CB-CAP como biomarcador para determinar la gravedad de la actividad en una población latinoamericana con LES.

5 Hipótesis

En una población latinoamericana con LES, los CB-CAP son biomarcadores útiles para determinar la gravedad de la actividad de la enfermedad.

6 Marco teórico

Lupus eritematoso sistémico y el complemento

El LES es una enfermedad autoinmune de presentación clínica heterogénea (1). Dentro de su fisiopatología se ha descrito la deficiencia en las proteínas del complemento como un factor predisponente. El sistema del complemento hace parte de la inmunidad innata donde C3 y C4 son las proteínas más abundantes. Su activación se puede generar a través de la vía clásica, alternativa y la vía de la lectina (24). En general las proteínas del complemento se han diseñado para proteger al huésped de invasiones por patógenos extraños, sin embargo, todas las vías del complemento permiten la acumulación de células y sustancias inflamatorias que pueden inducir daño inmunomediado en los tejidos (25), tal como sucede en el LES gracias a la activación de la vía clásica por autoanticuerpos e inmunocomplejos.

Un biomarcador es un signo físico o característica celular, bioquímica, molecular o genética por la cual un proceso biológico normal o anormal puede ser reconocido y/o monitoreado y puede ser evaluado cualitativa y/o cuantitativamente en laboratorios (10). La identificación de biomarcadores en cualquier enfermedad implica la utilización de tecnologías a diferentes niveles incluyendo ADN (genómicas), epigenética (epigenómicas), proteínas (proteómicas), metabolitos (metabolómicas) y ARNm (transcriptómicas). Sin embargo, se han utilizado estrategias de búsqueda de biomarcadores dirigidas, impulsadas en la hipótesis de un sustrato que está implicado en vías genéticas, celulares o moleculares de la patología a estudio. En el caso de LES, unas de las proteínas ampliamente identificadas y reconocidas, son las del sistema del complemento (26). Cabe mencionar que entre los criterios de clasificación de SLICC y EULAR/ACR para LES se incluyen las proteínas C3 y C4, debido a la alta especificidad de la activación del complemento que lleva a la disminución sérica de estas proteínas en la enfermedad (27).

Tanto las proteínas del complemento como sus derivados pueden encontrarse en su forma soluble pero también unidas a células circulantes como eritrocitos o células tisulares como las endoteliales. Entre las células estudiadas como blancos de unión de productos de activación del complemento (CAP), los eritrocitos fueron las primeras

utilizadas, debido a su abundancia fisiológica (13). Posterior al uso de eritrocitos se consideró la utilización de reticulocitos con el mismo fin (14). Estudios adicionales exploraron la posibilidad de que CAP también se pudieran unir a plaquetas y linfocitos T y B (28, 29). En investigaciones realizadas en plaquetas unidas al fragmento C4d (PC4d), se ha encontrado que los pacientes positivos para este biomarcador son negativos para anticuerpos IgG e IgM antiplaquetarios, lo que sugiere que los anticuerpos antiplaquetarios no son responsables de la activación del complemento o el depósito de C4d en las plaquetas. Adicionalmente, existe un aumento en los niveles séricos de PC4d en pacientes con lupus y trombosis venosa o antecedentes de síndrome antifosfolípido (SAF) en comparación con los pacientes sin esas manifestaciones, lo que sugiere la utilidad de PC4d como marcador de trombosis venosa en el LES (30).

La utilidad de los CB-CAP se ha demostrado tanto en diagnóstico como en actividad de LES. En cuanto a su utilización como biomarcador diagnóstico, se ha confirmado utilidad para C4d unido a eritrocitos (EC4d), C4d unido a linfocitos T (TC4d) C4d unido a linfocitos B (BC4d) y en PC4d. Distintas investigaciones han mostrado incluso mejor sensibilidad y especificidad diagnóstica para EC4d, PC4d, TC4d y BC4d cuando se comparan con anticuerpos anti-ADNdc y mejor especificidad en comparación con los anticuerpos antinucleares (14, 28-29). En cuanto a actividad de la enfermedad, estudios iniciales con EC4d demostraron cambios sucesivos relacionados con fluctuaciones en la actividad de la enfermedad en LES, comparando los resultados con marcadores que se han utilizado tradicionalmente para medir de la actividad de la enfermedad como anticuerpos anti-ADNdc y niveles de complemento sérico (16).

CB-CAP como biomarcadores de actividad del LES

La asociación entre la actividad en LES y los componentes del complemento fue descrita por primera vez en 1951 en 4 pacientes con disminución de los valores de complemento hemolítico total (CH50) (31). Esta relación se fundamenta en la fisiopatología de la enfermedad donde la activación del complemento por anticuerpos o inmunocomplejos cumple un rol esencial en los episodios de exacerbación desencadenando el consumo de sus proteínas y la formación de productos derivados proporcionales al grado de actividad. Sin embargo, aunque la plausibilidad biológica

existe, se han descrito varios inconvenientes en su interpretación, entre ellos la amplia variación de los límites normales de C3 y C4 lo que dificulta la detección de pequeñas variaciones en sus niveles y puede no dar valores por debajo de los rangos normales; segundo, las proteínas del complemento actúan como reactantes de fase aguda durante la inflamación lo que puede enmascarar su disminución por consumo. Por último, la variabilidad genética de C4 limita su uso como biomarcador de LES puesto que las deficiencias de C4 son comunes entre estos pacientes (12).

Para superar las contradicciones que se generan con la medición de la forma nativa de las proteínas del complemento, se ha escrito en las últimas décadas sobre la correlación entre C3d, C4d y la actividad de la enfermedad (26,32,33). EC4d y BC4d son unos de los fragmentos más relacionados con actividad debido a su expresión variable en las diferentes condiciones en pacientes con lupus. En un estudio transversal en 2009, Deng-Ho Yang y col. demostraron que los niveles de EC4d se correlacionaron positivamente con el SLEDAI y negativamente con los niveles séricos de C3 / C4. Los autores compararon los niveles de EC4d en tres grupos de sujetos con LES, encontrando niveles promedios significativamente más altos en pacientes con LES y anemia hemolítica que en pacientes sin anemia hemolítica o pacientes con enfermedad renal crónica. Sin embargo, sólo el subgrupo sin anemia hemolítica o enfermedad renal crónica tuvo una correlación significativa entre los niveles de EC4d y la actividad de la enfermedad, incluyendo el puntaje de SLEDAI, los niveles de C3-C4 y anti-ADNdc ($p < 0,05$) (34).

Así mismo, la correlación entre EC4d y la actividad estratificada según la puntuación SELENA-SLEDAI_{ns} (no serológica) (35) en la que se excluye niveles de complemento y anti-ADNdc, fue valorada en los siguientes estudios. Putterman y cols. demostraron en 3 grupos con puntaje de 0, 1–6 y >6, que un nivel mayor de actividad de la enfermedad se asoció con una proporción mayor de pacientes que dieron positivo para niveles elevados de EC4d o BC4d ($p = 0,027$). La tasa de positividad de los niveles elevados de CB-CAP fue superior a la del anti-ADNdc e hipocomplementemia en pacientes con puntajes de 0 (62%, 36%, 29%, respectivamente), entre 1-6 (70%,47%,32%, respectivamente) y >6(87%,70%,60%, respectivamente). Por lo tanto, estos fragmentos pueden ser una herramienta apropiada en la identificación

principalmente de los pacientes con menor actividad (15). En el segundo estudio, 124 pacientes de 3 cohortes con mediana de SELENA-SLEDAIs de 8, 6 y 2 puntos y de PGA de 1,6, 1,2 y 0,5 fueron evaluados prospectivamente (media de 5 visitas) encontrando correlación entre EC4d y los 3 grupos de SELENA-SLEDAIs (p 0,042). En el análisis multivariado la adición de EC4d a pacientes con hipocomplementemia C3/C4 resultó en una mayor proporción de varianza explicada ($R^2= 7,7\%$ para SELENA-SLEDAIs) comparado con complemento bajo solo ($R^2= 3,7\%$). Adicionalmente se demostró que en los pacientes con hipocomplementemia crónica (78%) por cada log de EC4d la escala SELENA-SLEDAIs aumentó 1.2 y el PGA 0,19 puntos. Lo anterior permitió concluir que EC4d puede ser útil en discernir sobre la actividad en pacientes con discrepancias entre el puntaje de las escalas y el complemento (18).

Arriens y col. en una publicación de 2020 describieron la asociación con una nueva escala de actividad, el LSI (del inglés, *Lupus Severity Index*) (36), este estudio de corte transversal y multicéntrico que incluyó 495 pacientes con LES encontró que los CB-CAP (EC4d o BC4d) positivos fueron más prevalentes que la hipocomplementemia independiente de la categoría de LSI (bajo y alto $\geq 5,95$, p 0.0001). El análisis de regresión lineal multivariable reveló que CB-CAP anormales, menor edad en la visita, mayor duración de la enfermedad y la etnia fueron los predictores más fuertes del LSI actual, representando el 14.5% de su variabilidad. Estos datos sugieren que la activación del complemento medida por CB-CAP es paralela a la actividad de la enfermedad y se asocia con la severidad de la enfermedad, especialmente en sujetos más jóvenes o no blancos y en aquellos con enfermedad de larga duración. Sin embargo, el modelo debe interpretarse con precaución pues explica un porcentaje de variabilidad pequeño del LSI (20). Dentro de la evaluación de severidad, una complicación a descartar relevante por su aumento en la morbimortalidad es la nefritis lúpica (NL). En 2011 Batal y col evaluaron en un estudio de cohorte prospectiva de pacientes con nefritis lúpica versus dos grupos control (con enfermedad renal y con LES sin NL) la asociación entre la histología y la presencia de CB-CAP en suero; en cuanto a los CB-CAP, encontraron niveles elevados de EC4d y RC4d en los sujetos con NL y una correlación limítrofe entre EC4d y el nivel de actividad NIH de la NL ($r=0.55$, $p=0.04$) (19).

Otro CB-CAP estudiado, aunque con resultados contradictorios es C3d unido a eritrocitos (EC3d). En la primera cohorte prospectiva de 157 pacientes, EC3d ($p=0.005$) y EC4d ($p=0.006$) aumentaron significativamente en pacientes activos (SELENA-SLEDAIs 1-3, SLAM 2-6) y muy activos (SELENA-SLEDAIs ≥ 4 , SLAM ≥ 7). EC4d se mostró como una variable independiente y significativa con respecto a las dos escalas de actividad mientras que EC3d solo fue significativo para el puntaje SLAM (16). Sin embargo, un segundo estudio prospectivo publicado en 2016 demostró superioridad de EC3d comparado con EC4d como biomarcador independiente, al relacionar su disminución con la reducción del puntaje de actividad BILAG $p=0,001$ (17).

Los reticulocitos como precursores de los eritrocitos maduros tienen una vida media corta de 24 a 48 horas, esta característica ha sido atractiva en la búsqueda de un marcador de actividad pues una vez emergen de médula ósea los reticulocitos de pacientes con LES son recubiertos por C4d de manera proporcional al grado de activación del complemento, reflejando por lo tanto la actividad de la enfermedad.

Chau-Ching y col. evaluaron en una cohorte prospectiva el impacto de RC4d y EC4d en 156 pacientes con LES, demostrando que los niveles de RC4d se correlacionaron moderadamente con el puntaje SELENA-SLEDAIs ($R=0,45$ $p=0,0001$) y débilmente con SLAM ($r=0,23$, $p=0.003$). En comparación con los valores de EC4d la correlación de RC4d con la escala SELENA-SLEDAIs fue mayor ($r=0,46$ versus $r=0,37$). Por último, un estudio transversal de 62 pacientes realizado en Colombia demostró resultados a favor de RC4d y su capacidad de diferenciar entre los grupos de pacientes activos e inactivos para las escalas SELENA-SLEDAIs y BILAG 2004 comparado con los niveles de anti-ADNdc ($p=0,0001$ versus $p=0,535$); así mismo la correlación con el puntaje de SELENA-SLEDAIs fue fuerte y estadísticamente significativa para RC4d y no para anti-ADNdc ($r^2=0,738$ $p=0.0001$ versus $r^2=0,008$ $p=0,701$). Con respecto a la medición de actividad por BILAG los valores de RC4d fueron diferentes entre los pacientes activos e inactivos para el dominio constitucional, mucocutáneo, renal, gastrointestinal, hematológico mientras que el anti-ADNdc solo fue diferente en el dominio musculoesquelético; el número reducido de pacientes activos en algunos dominios impidió la realización de un análisis estadístico. Sobre estos hallazgos los autores infieren

que RC4d puede ser un biomarcador de actividad válido tanto en la evaluación global como de dominios específicos en paciente con LES (37).

7 Metodología

7.1 Diseño metodológico

7.1.1 Tipo de estudio

Transversal analítico, prueba de diagnóstico.

7.2 Marco muestral

7.2.1 Tipo de muestreo

Muestreo no probabilístico de casos consecutivos de todos los sujetos que cumplan criterios de inclusión.

7.2.2. Población a estudio

Población con LES.

7.2.3. Población Blanco

Pacientes con LES que consultan al Hospital San Vicente Fundación y la institución prestadora de salud ART médica.

7.2.4 Tamaño de la muestra

Queriendo detectar una correlación positiva ($H_0: \rho = 0$; $H_a: \rho > 0$) de al menos 0,45 entre los CB-CAP y la actividad de la enfermedad medida con la escala SELENA-SLEDAI_{ns}, con un poder del 80% y un nivel de significancia del 5% se determinó un tamaño de muestra de 30 sujetos usando el paquete estadístico STATA versión 14. Para este cálculo se tomaron datos de los resultados de la investigación de Putterman y colaboradores (15).

7.2.5 Población a estudio

Se incluirán los pacientes con LES que ingresen a la institución a los servicios de urgencias, hospitalización, unidad de cuidado intensivo o consulta externa; de esta atención se obtendrán los datos que corresponden a la variable dependiente

principal (puntaje de actividad por SELENA-SLEDAIns) y las variables independientes además de una muestra de sangre.

Escala de actividad SELENA-SLEDAIns: la escala SELENA/SLEDAI no serológica excluye los valores del anti-ADNdc y el complemento sérico (C3, C4).

Puntaje	Descriptor	Definición
8	Convulsión	Inicio reciente (últimos 10 días). Excluir causas metabólicas, infecciosas o asociadas a drogas o convulsiones debido a daño del sistema nervioso central irreversible en el pasado
8	Psicosis	Habilidad alterada para funcionar en actividades normales debido a disturbios severos en la percepción de la realidad. Incluye: alucinaciones, incoherencia, asociaciones sueltas marcadas, contenido del pensamiento empobrecido, pensamiento ilógico marcado, comportamiento catatónico, desorganizado o extraño. Excluir causas como uremia o drogas.
8	Síndrome cerebral orgánico	Función mental alterada con alteración de la orientación, memoria u otras funciones intelectuales, con inicio rápido y características clínicas fluctuantes. Incluye: la nubosidad de la conciencia con una menor capacidad de concentración e incapacidad para mantener la atención al medio, más al menos 2 de los siguientes: alteración de la percepción, habla incoherentes, insomnio o somnolencia diurna o actividad psicomotora aumentada o disminuida. Excluir causas metabólicas, infecciosas o farmacológicas.
8	Alteración visual	Cambios por LES en ojos y retina. Incluye: cuerpos citoides, hemorragia retiniana, exudados serosos o hemorragias en la coroides, neuritis óptica, escleritis o episcleritis. Excluir: hipertensión arterial, infección o causas farmacológicas.
8	Desorden de los nervios craneales	Neuropatía motora o sensorial de nuevo inicio que compromete nervios craneales. Incluye vértigo debido a LES.
8	Cefalea lúpica	Cefalea persistente severa: puede ser migrañosa, pero no debe responder a analgesia narcótica.
8	ACV	Accidente cerebrovascular de nuevo inicio. Excluye: aterosclerosis o causas hipertensivas.
8	Vasculitis	Ulceración, gangrena, nódulos dolorosos en los dedos, infartos periungulares, hemorragias en astilla o biopsia o angiograma que demuestre vasculitis.

4	Artritis	Más de 2 articulaciones con dolor y signos de inflamación (dolor, edema o efusión)
4	Miositis	Debilidad/dolor muscular proximal, asociado a elevación de la creatina fosfatasa/aldolasa o cambios electromiográficos o biopsia que muestre miositis.
4	Cilindros urinarios	Cilindros hemo-granulares o de glóbulos rojos.
4	Hematuria	5 glóbulos rojos por campo de alto poder. Excluir cálculos, infección u otras causas.
4	Proteinuria	Nuevo inicio o incremento reciente de más de 0,5 gramos en 24 horas.
4	Piuria	5 leucocitos por campo de alto poder. Excluir infección.
2	Rash	Rash inflamatorio por lupus continuo
2	Alopecia	Pérdida de cabello anormal, irregular o difusa continua debido al lupus activo.
2	Úlceras orales	Ulceración nasal u oral continua debido a lupus activo.
2	Pleuritis	Dolor torácico pleurítico clásico y severo o frote o derrame pleural o nuevo engrosamiento pleural debido a lupus.
2	Pericarditis	Dolor pericárdico clásico y severo o frote o derrame o confirmación por electrocardiograma.
1	Fiebre	38 °C. Excluir causas infecciosas.
1	Trombocitopenia	100.000 plaquetas/mm ³ .
1	Leucopenia	3.000 leucocitos células/mm ³ . Excluir causas farmacológicas.

7.3 Criterios de inclusión

- Pacientes con edad igual o superior a 18 años.
- Pacientes que cumplan los criterios clasificatorios para LES ACR/EULAR (del inglés, European Alliance of Associations for Rheumatology, American College of Rheumatology) 2019 (21).

Criterio de entrada
Título de anticuerpos antinucleares (ANA) mayor o igual a 1:80 en células HEp2
o una prueba positiva equivalente



Si es negativo no clasifica como LES
Si es positivo aplicar los criterios adoptivos



Criterios adoptivos			
<p>No cuente un criterio adoptivo si hay una explicación más probable que el LES</p> <p>La ocurrencia del criterio al menos en una ocasión es suficiente</p> <p>La clasificación como LES requiere al menos un criterio clínico e igual o más de 10 puntos</p> <p>Los criterios no requieren ocurrir de manera simultánea</p> <p>Con cada dominio, solo se cuenta el criterio con mayor ponderación para el puntaje final.</p>			
Dominios y criterios clínicos	Peso	Dominios y criterios inmunológicos	Peso
Constitucional Fiebre	2	Anticuerpos antifosfolípidos Anticuerpos anticardiolipinas o anticuerpos anti B2GP1 o anticoagulante lúpico	2
Hematológico Leucopenia	3	Proteínas del complemento Bajo C3 o bajo C4	3
Trombocitopenia	4	Bajo C3 y bajo C4	4
Hemólisis autoinmune	4		
Neuropsiquiátrico Delirium	2	Anticuerpos específicos de LES Anticuerpos anti-ADNdc o anticuerpos anti-Smith	6
Psicosis	3		
Convulsiones	5		
Mucocutáneos Alopecia no cicatricial	2		
Úlceras orales	2		
Lupus cutáneo subagudo o lupus discoide	4		
Lupus cutáneo agudo	6		
Serosas Derrame pleural o pericárdico	5		
Pericarditis aguda	6		
Musculoesquelético Compromiso articular	6		
Renal Proteinuria mayor a 0,5 gramos/24 horas	4		
Biopsia renal con nefritis lúpica clase II o V	8		
Biopsia renal con nefritis lúpica clase III o IV	10		

7.4 Criterios de exclusión

- Pacientes con cualquier tipo de infección.
- Pacientes en embarazo.

- Pacientes con neoplasia activa.
- Paciente con enfermedades reumatológicas o autoinmunes sistémicas adicionales, excepto síndrome de Sjögren o SAF.

7.5 Descripción de las variables

La operacionalización de las variables se registra en el **anexo 1**.

7.6 Plan de procesamiento de los CB-CAP

Se tomarán dos muestras de 20 mL de sangre periférica por venopunción de cada individuo (por las investigadoras MMU o DCQ) en un tubo con citrato para la identificación de fracciones del complemento asociadas a reticulocitos y en un tubo con EDTA para la identificación de fracciones del complemento asociadas a eritrocitos y linfocitos, respectivamente. Estas muestras serán trasladadas a la Unidad de Citometría de la Universidad de Antioquia localizada en la SIU de la Universidad de Antioquia, para ser procesadas en un tiempo no mayor a 24 horas desde su toma.

De cada sujeto se medirán RC4d, EC4d, BC4d, TC4d, RC3d, EC3d, BC3d y TC3d mediante citometría de flujo. Todos los análisis FACS se realizarán utilizando un citómetro LSR Fortessa II (BD Biosciences, San José, CA) con el programa FACS DIVA. El procesamiento de cada inmunofenotipo se describe a continuación.

Reticulocitos

Se fijará una muestra de sangre del tubo citratado (25 µl) con solución Carnoy (es un fijador ácido especialmente indicado para preservar ácidos nucleicos [núcleos, cromatina, grumos de Nissl] y glucógeno, compuesta por 3:1 de etanol: ácido acético). Después de la fijación, las células se lavarán y se teñirán con Ioduro de propidio para excluir las células 2 N y se adicionan anticuerpos monoclonales anti-C4d humano seguido de anti-IgG F (ab') unido a isocianato de ficoeritrina (FITC) como anticuerpo secundario. Luego la muestra a temperatura ambiente se incubará por 20 minutos y se suspenderán en una solución salina tamponada con fosfatos; posteriormente, para identificar los reticulocitos se añadirán a la suspensión los anticuerpos monoclonales anti-CD61 APC y anti-CD71-V450.

Eritrocitos

De cada paciente se tomará una muestra de 25 μ l de sangre del tubo con EDTA. En el siguiente paso se adicionan anticuerpos monoclonales anti-C4d humano seguido de anti-IgG F (ab') unido a isocianato de ficoeritrina (FITC) como anticuerpo secundario. Luego se incuba la muestra a temperatura ambiente por 20 minutos, las muestras se lavarán dos veces con PBS conteniendo 1% de Suero Bovino Fetal (SBF) y se suspenderán en solución salina tamponada con fosfatos más 1% de SBF. Posteriormente se añadirán los anticuerpos monoclonales anti-CD45-PeCy7, para la exclusión de leucocitos, y anti-CD235-PE para identificar eritrocitos, respectivamente.

Linfocitos B y linfocitos T

En cada muestra de sangre de 30 μ L (tubo con EDTA) se van a teñir secuencialmente anticuerpos monoclonales anti-C4d humano y anti-IgG F (ab') unido a isocianato de ficoeritrina (FITC) como anticuerpo secundario, las muestras se lavarán dos veces con PBS conteniendo 1% de Suero Bovino Fetal (SBF) y se suspenderán con solución salina tamponada con fosfatos más 1% de SBF. Se teñirán con 5 μ L de anticuerpos anti-CD19-PE y anti-CD3-V450 para identificar los linfocitos B y los linfocitos T, respectivamente. Al finalizar, la muestra se incubará a temperatura ambiente por 20 minutos y se adicionará el tampón OptiLyse C seguido por agua destilada para completar la lisis de eritrocitos.

Para identificar los fragmentos del complemento C3d unidos a las células, se va a seguir el mismo procedimiento descrito, en este caso añadiendo a la muestra anticuerpos monoclonales anti-C3d en reemplazo de los anticuerpos anti-C4d. Finalmente las células marcadas (RC4d, EC4d, BC4d, TC4D, RC3d, EC3d, BC3d y TC3d) serán analizadas en el citómetro de flujo. Los resultados se expresarán en términos de porcentaje de células positivas, inmunofluorescencia (IMF) y mediana de la intensidad de fluorescencia de manera individual.

Se tomarán muestras de personas sanas del mismo género (control técnico), cuya edad oscile entre más o menos 5 años con respecto a la edad del paciente. Una vez se haya explicado el objetivo del estudio y se hayan aclarado dudas se firmará el

consentimiento informado para proceder a la toma de las muestras de sangre y seguir el protocolo. La evaluación de los CB-CAP en estos sujetos se realizará con el fin de tener un control técnico del día para validar los resultados de los pacientes con LES.

La compensación se calculará utilizando “Anti-Mouse Ig, κ/Negative Control Compensation Particles Set” (BD Biosciences) mezcladas con los anticuerpos conjugados con los fluorocromos. Se verificará con las tinciones individuales de las muestras.

7.7 Descripción de las variables de laboratorio

Variable	Valor normal	Técnica
Complemento C3	90-180 mg/dL (según el límite del laboratorio) (Otra referencia: bajos en una concentración inferior al percentil 95 de sujetos sanos normales)	Nefelometría y turbidimetría
Complemento C4	10-40 mg/dL (según el límite del laboratorio) (Otra referencia: bajos en una concentración inferior al percentil 95 de sujetos sanos normales)	Nefelometría y turbidimetría
Anti-ADNdc	Según el límite del laboratorio	Inmunofluorescencia indirecta (sustrato células Hep2)
Anti-DNAdc	Mayor a 3011 U/mL Según el límite del laboratorio	ELISA
EC4d IMF	A determinar	Citometría de flujo
BC4d IMF	A determinar	Citometría de flujo
TC4d IMF	A determinar	Citometría de flujo
RC4d IMF	A determinar	Citometría de flujo
EC4d mediana de la intensidad de fluorescencia	A determinar	Citometría de flujo
BC4d mediana de la intensidad de fluorescencia	A determinar	Citometría de flujo
TC4d mediana de la intensidad de fluorescencia	A determinar	Citometría de flujo

RC4d mediana de la intensidad de fluorescencia	A determinar	Citometría de flujo
EC4d porcentaje de células positivas	A determinar	Citometría de flujo
BC4d porcentaje de células positivas	A determinar	Citometría de flujo
TC4d porcentaje de células positivas	A determinar	Citometría de flujo
RC4d porcentaje de células positivas	A determinar	Citometría de flujo
EC3d IMF	A determinar	Citometría de flujo
BC3d IMF	A determinar	Citometría de flujo
TC3d IMF	A determinar	Citometría de flujo
RC3d IMF	A determinar	Citometría de flujo
EC3d mediana de la intensidad de fluorescencia	A determinar	Citometría de flujo
BC3d mediana de la intensidad de fluorescencia	A determinar	Citometría de flujo
TC3d mediana de la intensidad de fluorescencia	A determinar	Citometría de flujo
RC3d mediana de la intensidad de fluorescencia	A determinar	Citometría de flujo
EC3d porcentaje de células positivas	A determinar	Citometría de flujo
BC3d porcentaje de células positivas	A determinar	Citometría de flujo
TC3d porcentaje de células positivas	A determinar	Citometría de flujo
RC3d porcentaje de células positivas	A determinar	Citometría de flujo

7.8 Descripción de los anticuerpos a usar en el laboratorio, con su respectiva clona y los sitios web de donde se tomó la información

Variables de laboratorio	Antígeno	Nombre de la clona	Enlace
--------------------------	----------	--------------------	--------

Complemento	Complement C4d Antibody (12D11)	12D11	https://www.novusbio.com/products/complement-c4d-antibody-12d11_nbp2-62802
Complemento	C3d-APC	053A-1149.3.1.4	https://www.novusbio.com/products/complement-c3d-antibody-053a-1149314_nb100-65510apc?utm_source=biocompare&utm_medium=referral&utm_campaign=product_NB100-65510APC&utm_term=primaryantibodies&utm_content=editorial#datasheet
Reticulocitos	anti-CD71-V421	M-A712	https://www.bdbiosciences.com/us/applications/research/stem-cell-research/mesenchymal-marrow/human/positive-markers/bv421-mouse-anti-human-cd71-m-a712/p/562995
Reticulocitos	anti-CD61 BV650	VI-PL2	https://www.bdbiosciences.com/us/reagents/research/antibodies-buffers/immunology-reagents/anti-human-antibodies/cell-surface-antigens/bv650-mouse-anti-human-cd61-vi-pl2-also-known-as-vipl2/p/564172
Eritrocitos	BV650 Mouse Anti-Human CD235a Clone GA-R2 (HIR2) (RUO)	HIR2	https://www.bdbiosciences.com/us/reagents/research/antibodies-buffers/immunology-reagents/anti-human-antibodies/cell-surface-antigens/bv650-mouse-anti-human-cd235a-ga-r2-hir2/p/740583
Linfocitos	APC-Cy™7 Mouse Anti-Human CD4	RPA-T4	https://www.bdbiosciences.com/us/applications/research/t-cell-immunology/th-1-cells/surface-markers/human/apc-cy7-mouse-anti-human-cd4-rpa-t4/p/561839
Linfocitos	BV421 Mouse Anti-Human CD8	RPA-T8	https://www.bdbiosciences.com/us/reagents/research/antibodies-buffers/immunology-reagents/anti-human-antibodies/cell-surface-antigens/bv421-mouse-anti-human-cd8-rpa-t8/p/562428

Linfocitos	PE Mouse Anti-Human CD19	HIB19	https://www.bdbiosciences.com/us/applications/research/clinical-research/oncology-research/blood-cell-disorders/surface-markers/human/pe-mouse-anti-human-cd19-hib19/p/561741
Panleucocitos	PE-Cy™7 Mouse Anti-Human CD45	HI30	https://www.bdbiosciences.com/us/applications/research/stem-cell-research/cancer-research/human/pe-cy7-mouse-anti-human-cd45-hi30/p/557748

7.9 Plan de procesamiento de datos

Se diseñará un formato de recolección usando el programa Magpi, el cual procesará posteriormente la información en formato de Excel. El diseño estará a cargo del epidemiólogo del estudio. Una vez los datos de cada paciente se hayan diligenciado, la base de datos se exportará a formato.dta. La base de datos será analizada usando el Software estadístico Stata 14 (College Station, Texas 77845, EE. UU.) por el epidemiólogo del estudio y por un bioestadístico independiente.

7.10 Análisis estadístico

Las variables cualitativas se analizarán mediante frecuencias absolutas y relativas, para las variables cuantitativas se determinará la distribución usando la prueba de Shapiro-Wilk para normalidad y aquellas con distribución normal serán expresadas como medias y desviación estándar, y en caso contrario se expresarán como medianas y rangos intercuartílicos. Las variables cualitativas se compararán a través de pruebas chi cuadrado de independencia o test exacto de Fisher dependiendo de las frecuencias esperadas. Las diferencias entre los niveles de CB-CAP (EC4d, RC4d, BC4d, TC4d, EC3d, RC3d, BC3d y TC3d) anti-ADNdc, C3, C4 y el puntaje en la escala SELENA/SLEDAIns se analizará con la prueba t de student o U de Mann-Whitney, también de acuerdo con su distribución.

El coeficiente de correlación de Spearman se utilizará para determinar la correlación entre los niveles de CB-CAP con el anti-ADNdc, C3, C4 y el puntaje SELENA/SLEDAIns. Un modelo de regresión logística se llevará a cabo donde la variable

dependiente será la actividad leve, moderada y severa de LES según la escala SELENA-SLEDAI y como variables independientes los niveles fragmentos de activación del complemento unidos a células

Se establecerán los valores de corte de los fragmentos a través de modelos de regresión logística, utilizando la actividad lúpica como variable dependiente dicotómica (leve contra moderada/severa) y (leve/moderada contra severa). La precisión predictiva de los modelos se obtendrá mediante la determinación de los estimadores de discriminación y calibración. El poder de discriminación se calculará a través del área bajo la curva ROC (del inglés, *Receiver Operating Characteristic*), mientras que la calibración se evaluará mediante la prueba de bondad de ajuste de Hosmer-Lemeshow. Finalmente, la determinación del marcador con mejor rendimiento para determinar actividad lúpica se realizará determinando los valores diagnósticos.

7.11 Presentación de resultados

Se espera llevar los productos de la investigación a diferentes eventos científicos en formatos de póster o para presentación oral y además producir artículos científicos que puedan ser publicados en revistas de alto impacto.

7.12 Aspectos éticos

El diseño del presente estudio fue concebido teniendo en cuenta lineamientos internacionales y nacionales respecto a la bioética con el fin de garantizar la no vulneración de los derechos de los participantes.

Adicionalmente el personal participante en el proyecto cuenta con formación certificada en buenas prácticas clínicas.

Lineamientos internacionales

- Principios de bioética: Autonomía (los registros utilizados de las historias clínicas del Hospital San Vicente Fundación de Medellín serán usados tal cual están plasmados), justicia (se incluirán todos los pacientes que cumplan los criterios de inclusión), beneficencia (la población con lupus eritematoso sistémico se

beneficiará de los resultados obtenidos en el presente estudio) y no maleficencia (Ningún sujeto incluido en el estudio será sometido a riesgo)

- Declaración de Helsinki: Teniendo en cuenta el principio básico del respeto por el individuo, se mantendrá siempre el beneficio del paciente por encima de los fines de la investigación. En cuanto a los principios operacionales, antes de iniciar el proceso del proyecto se solicitará autorización por parte de una entidad ética para su ejecución, en este caso el comité de Ética médica de la Universidad de Antioquia, el Hospital San Vicente Fundación de Medellín y la institución prestadora de salud ART médica. Respecto a las regulaciones adicionales, los investigadores cuentan con formación certificada en buenas prácticas clínicas, certificado adjunto.
- Reporte Belmont: Se tendrán en cuenta los tres principios éticos fundamentales: beneficencia, justicia y respeto a las personas, mediante la confidencialidad de su información, ya que cada paciente será codificado y se anonimiza en la base de datos, solo el investigador principal tendrá acceso a la información para desanonimizar los pacientes en caso de que se requiera verificación de la información
- Pautas éticas internacionales para la investigación biomédica en seres humanos en colaboración con la organización mundial de la salud

Lineamientos nacionales

- Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de la República Colombia:
- Lineamientos de buenas prácticas ambientales de la presidencia de la República de Colombia y el plan de gestión ambiental del Ministerio del Interior de la República de Colombia: Se evitará el uso de papel, por lo que los formatos de recolección de datos serán magnéticos.

Previo al inicio de la recolección de la información y toma de muestra de sangre se solicitará la autorización de la institución en la que se captarán los sujetos y se recolectará la información, así como la autorización por parte de los individuos del estudio por medio de la firma del consentimiento informado (**anexo 2**).

Se mantendrá el principio de confidencialidad registrando los pacientes bajo un código que garantiza su anonimato, siguiendo las recomendaciones de buenas prácticas clínicas. A la base de datos sólo tendrá acceso el staff de investigación, únicamente para los propósitos del presente estudio.

8 Resultados

Características demográficas y clínicas de la población

Inicialmente, se evaluaron 45 pacientes para participar en el estudio; entre ellos, 15 fueron excluidos por razones como infección activa (3), neoplasia (1), otra enfermedad autoinmune (4), y tiempo en el que se realizaron los niveles de complemento sérico y anti-ADNdc mayor a 30 días con respecto a la fecha de reclutamiento (7). Finalmente, se incluyeron y analizaron 30 pacientes con diagnóstico de LES. Las características demográficas y clínicas de los pacientes con LES se presentan en la **tabla 1**. La **figura 1** muestra el flujo de participantes a lo largo del estudio y los principales resultados.

Se incluyeron dos sujetos inactivos, 11 pacientes con actividad leve y 17 con actividad lúpica grave según la escala SELENA/SLEDAI_{ns}. Las características demográficas, la duración de la enfermedad y las comorbilidades no tuvieron diferencias significativas entre los pacientes con diferentes grados de actividad lúpica. La mediana de la puntuación de SELENA/SLEDAI_{ns} para pacientes con actividad leve a moderada fue de 3 (RIC 2-4) y para aquellos con actividad grave fue de 12 (RIC 8-14). No hubo diferencias significativas en los resultados de las diluciones de anti-ADNdc por IFI entre pacientes con actividad de la enfermedad leve/moderada versus grave.

En cuanto a los resultados de los CB-CAP en pacientes con LES versus controles técnicos sanos hubo diferencias significativas en la mediana [RIC] de la MIF de TCD4-C3d (1827 [1389-2337] vs 1258 [486-2076], $p=0,046$), TCD4-C3d% (0,09 [0,02-0,22] vs 0,03 [0,003-0,075], $p=0,055$), E-C3d MIF (125,0 [66,2-602,0] vs 76,0 [52,5-142,0], $p=0,050$), el porcentaje de eritrocitos con C4d (E-C4d%) (1.5 [0.4-27.2] vs 0.5 [0.2-1.6], $p=0,038$), y los eritrocitos C4d-/C3d- (63.5 [6.4-98.9] vs 99.0 [97.2-99.8], $p<0,001$). No obstante, no encontramos diferencias significativas en las MIF ni en los porcentajes en reticulocitos entre pacientes con LES y controles. Los resultados de los CB-CAP en el subgrupo de actividad de la enfermedad grave también se compararon con controles sanos, el porcentaje de eritrocitos C4d+/C3d- obtuvo un resultado estadísticamente significativo (1,9 [0,6-31,0] vs 0,5 [0,2-1,6], $p=0,022$), así como E-C3d MIF (129,0 [69,7-1186,5] vs 76,0 [52,5-142,0], $p=0,042$).

Correlación entre los CB-CAP con las diluciones de los anti-ADNdc y niveles de complemento sérico

La **tabla 2** muestra las correlaciones entre los CB-CAP con las diluciones de los anti-ADNdc, incluyendo la población total y aquellos pacientes con actividad lúpica leve a moderada y grave. En cuanto a las correlaciones entre los CB-CAP con los niveles de complemento sérico, encontramos correlaciones significativas y positivas entre R-C4d MIF con C4 (Rho= 0,66; p=0,026) y TCD8-C4d MIF con C3 (Rho= 0,61; p=0,047), en pacientes con LES y actividad leve a moderada. Sin embargo, en el subgrupo de pacientes con actividad lúpica grave, solo hubo una correlación significativa entre TCD8-C4d MIF con C3, negativa en este caso (Rho= -0,51, p=0,037). No se encontraron resultados estadísticamente significativos al evaluar las correlaciones entre el complemento sérico y los CB-CAP al evaluar la totalidad de pacientes con LES.

Correlación entre los CB-CAP y los biomarcadores habituales con el índice SELENA/SLEDAIs

Hubo correlaciones estadísticamente significativas entre SELENA-SLEDAIs con TCD8-C4d MIF y TCD8-C3d MIF (**figura 2**). Los resultados mostraron una correlación negativa significativa entre los niveles séricos de C3 y el índice de actividad para todos los pacientes (Rho= -0,57; p=<0,001) y para el subgrupo de pacientes con actividad de la enfermedad grave (Rho= -0,65; p=0,004). En el caso de los niveles de C4, la correlación fue de -0,51 (p=0,004) para los treinta sujetos con LES. Los coeficientes de correlación de Spearman no fueron significativos entre anti-ADNdc por IFI y el índice SELENA/SLEDAIs en el total de pacientes (Rho= -0,17; p=0,368), en el subgrupo de actividad leve/moderada (Rho= -0,07; p=0,831) ni en aquellos con actividad grave (Rho= -0,42; p=0,092).

Desempeño de los CB-CAP como biomarcadores de actividad

Los resultados de sensibilidad, especificidad, valores predictivos negativo y positivo y área bajo la curva ROC se describen en la **tabla 3**. Entre los CB-CAP evaluados, R-C4d MIF y E-C4d MIF tuvieron los mayores porcentajes de sensibilidad, 75% y 71%, respectivamente. Así mismo, R-C4d MIF tuvo la mejor especificidad (64%) y área bajo la curva ROC (0,7 IC 95% 0,53-0,87). Por tanto, entre todos los CB-CAP, R-

C4d MIF fue el biomarcador con mejor rendimiento para discriminar actividad grave (SELENA/SLEDAI ≥ 7 puntos) en pacientes con LES (**figura 3**).

Tabla 1. Características demográficas y clínicas.

Edad (años) (promedio \pm DE)	36,6 \pm 12.3
Sexo – Femenino (n %)	28 (93%)
Etnia (n %)	
Mestizos	23 (77%)
Afroamericanos	3 (10%)
Caucásicos	4 (13%)
Edad al diagnóstico (años) (promedio \pm DE)	30,9 \pm 11,2
Tiempo desde el diagnóstico (meses) (mediana RIC)	57 (9-132)
Dominios clínicos afectados (n %)	
Musculoesquelético	20 (67%)
Hematológico	17 (57%)
Cutáneo	16 (53%)
Renal	12 (40%)
Comorbilidades (n %)	
Hipotiroidismo	6 (20%)
Hipertensión arterial	5 (17%)
SAF	3 (10%)
Puntaje SELENA/SLEDAI clínico (mediana RIC)	8 (3-12)
Estudios paraclínicos ^a	
C3 (mg/dl) (mediana RIC) ^b	72 (54-107)
C4 (mg/dl) (mediana RIC) ^b	10 (6-17)
Positividad de anti-ADNdc por IFI (n=27)	19 (63%)
Anti-ADNdc por ELISA (n=3) (U/ml) (mediana RIC)	10 (3,2-63,7)
Tratamiento (n %)	
Glucocorticoides	29 (97%)
Antimaláricos	24 (80%)
Inmunosupresores convencionales	25 (83,3%)
Terapia biológica	1 (3%)

Anti-ADNdc, anticuerpos anti-ADN de doble cadena; C3, complemento C3; C4, complemento C4; DE, desviación estándar; ELISA, del inglés *enzyme-linked immunosorbent assay*; IFI, inmunofluorescencia indirecta; SAF, síndromes antifosfolípidos, RIC, rango intercuartílico.

a. Tomados en el momento del reclutamiento.

b. El complemento bajo se definió como niveles de C3 o C4 por debajo del rango normal establecido en cada uno de los sitios de la toma.

Tabla 2. Correlaciones entre los niveles de los CB-CAP y las diluciones de los anticuerpos anti-ADNdc.^a

	Todos los pacientes n = 30 Rho Valor de p	Pacientes con actividad de la enfermedad leve a moderada n = 11 Rho Valor de p	Pacientes con actividad de la enfermedad grave n = 17 Rho Valor de p
Correlaciones entre los CB-CAP de linfocitos T y los anti-ADNdc			
TCD8-C3d MIF	0.16 0.398	0.85 0.001	-0.20 0.452
Correlaciones entre los CB-CAP de reticulocitos y los anti-ADNdc			
R-C3d MIF ^b	0.09 0.618	0.82 0.002	-0.49 0.048
R-C4d MIF ^c	0.18 0.331	0.63 0.038	0.01 0.958
Correlaciones entre los CB-CAP de eritrocitos y los anti-ADNdc			
E-C4d MIF ^d		0.76 0.007	0.17 0.516

Anti-ADNdc, anticuerpos anti-ADN de doble cadena; C4d y C3d: fragmentos del complemento; E, eritrocitos; MIF, mediana de la intensidad de fluorescencia; TCD8, linfocitos T CD8+; R, reticulocitos.

a. Se usó el coeficiente de correlación de Spearman para determinar la correlación entre los niveles de CB-CAP y las diluciones de los anticuerpos anti ADNdc.

b. Reticulocitos C4d-/ C3d+

c. Reticulocitos C4d+/ C3d-

d. Eritrocitos C4d+/ C3d+

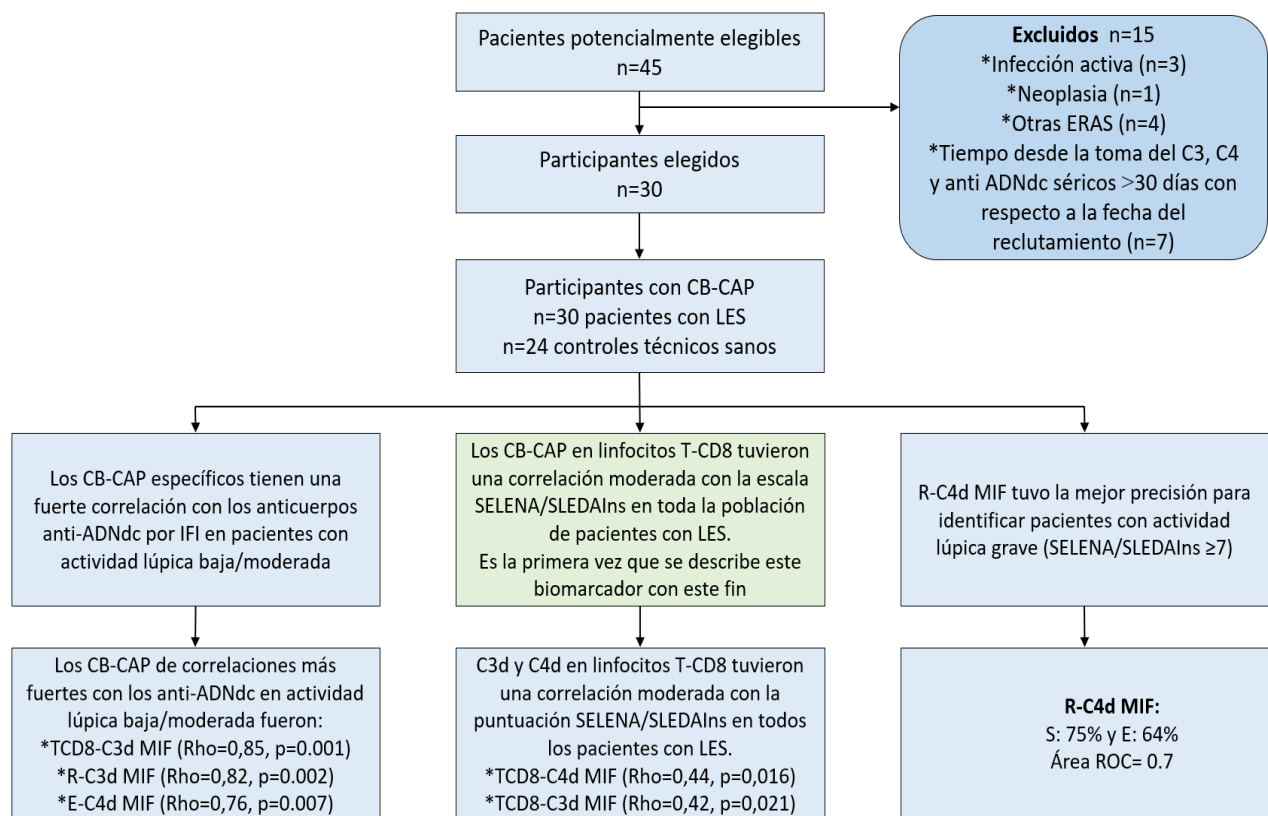
Tabla 3. Rendimiento de los CB-CAP para identificar pacientes con actividad lúpica grave (SELENA/SLEDAI_{ns} ≥7puntos)

CB-CAP	Punto de corte	Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	VPP (%)	VPN (%)	Área ROC	IC 95%
TCD8-C3d MIF	1495	47	33	41	39	0.40	0.22 – 0.58
TCD8-C4d MIF	801	67	53	59	62	0.60	0.42 – 0.78

R-C3d MIF	4566	60	47	53	54	0.53	0.35 – 0.72
R-C4d MIF	1451	75	64	71	69	0.70	0.53 – 0.87
E-C4d MIF	486	71	60	63	69	0.66	0.48 – 0.83
E-C3d MIF	125	60	50	56	54	0.55	0.36 – 0.74

CB-CAP, del inglés *cell-bound complement activation products*; C4d y C3d, fragmentos del complemento; E, eritrocitos; MIF, mediana de la intensidad de fluorescencia; VPP, valor predictivo positivo; VPN, valor predictivo negativo; TCD8, linfocitos T CD8+; R, reticulocitos.

Figura 1. Diagrama con el flujo de pacientes a través de todo el estudio y los principales resultados.



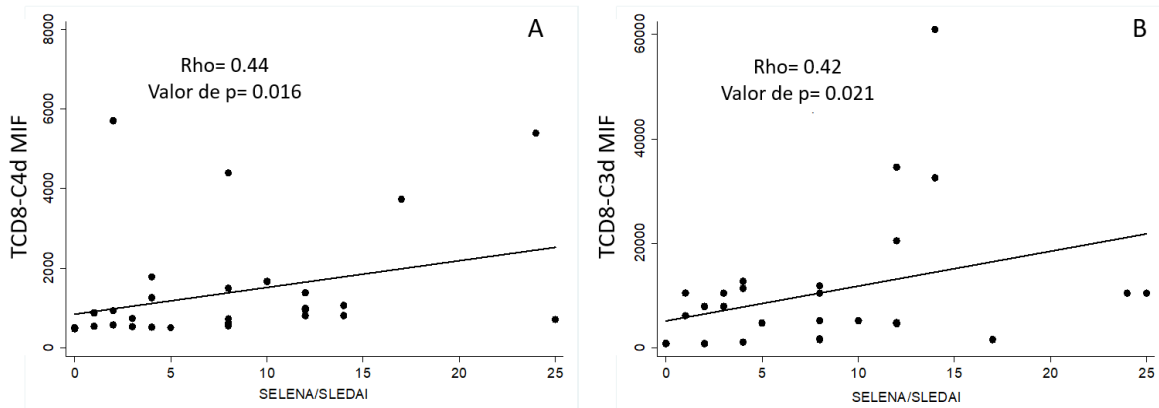


Figura 2. Correlaciones entre las medianas de la intensidad de fluorescencia (MIF) de los CB-CAP con la escala SELENA/SLEDAI en la totalidad de los pacientes con LES. **A** muestra la correlación entre el puntaje de SELENA/SLEDAI y la MIF de C4d en linfocitos T CD8+ (TCD8-C4d MIF) y **B** representa la correlación entre la escala SELENA/SLEDAI y la MIF de C3d en linfocitos T CD8+ (TCD8-C3d MIF).

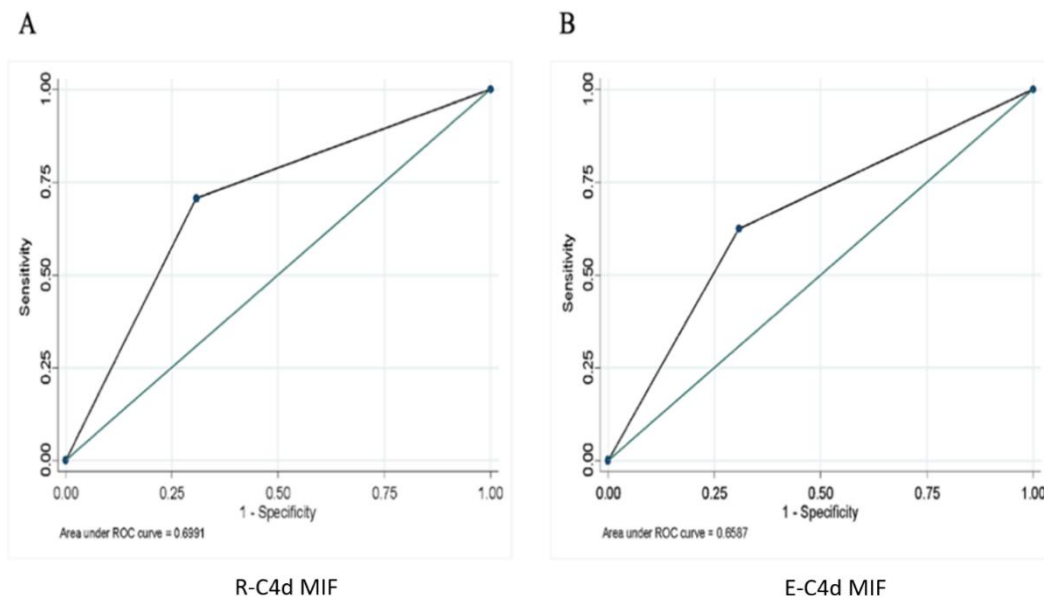


Figura 3. Área bajo la curva ROC. **A.** MIF de C4d in reticulocitos y **B.** MIF de C4d en eritrocitos.

9 Discusión

En este estudio, exploramos el comportamiento de los CB-CAP para determinar la actividad del LES en una población latinoamericana. Hemos descrito algunos CB-CAP específicos con correlaciones de moderadas a altas con biomarcadores tradicionales, principalmente en pacientes con actividad lúpica baja/moderada, y precisión moderada en la detección de actividad grave de la enfermedad. Anteriormente, se demostró la utilidad de los CB-CAP unidos a eritrocitos o reticulocitos como biomarcadores de la actividad en LES (14-21, 34). Sin embargo, hasta donde sabemos, esta es la primera vez que los fragmentos del complemento C3d y C4d unidos a células T CD8+ demuestran una correlación significativa con anti-ADNdc y la escala SELENA/SLEDAIs.

La literatura describe cómo la actividad de la enfermedad en LES, el daño y la mortalidad de esta están relacionados con las etnias y los aspectos socioeconómicos, puesto que afecta más gravemente a los grupos poblacionales minoritarios menos favorecidos (38, 39). Por lo tanto, los intentos de validar los resultados de los estudios realizados principalmente en poblaciones caucásicas son válidos. Los CB-CAP han informado previamente resultados bastante prometedores en términos de actividad lúpica. Kao *et al.* informaron que los niveles de E-C3d y E-C4d no se modificaban por la edad o el origen étnico. Sin embargo, los mismos autores no mostraron datos al respecto y en el mismo estudio, el 88,3% de la población total era caucásica (16).

Inicialmente, no encontramos diferencias estadísticas para los CB-CAP en reticulocitos de pacientes versus controles. Nuestros análisis tampoco mostraron diferencias significativas en las medianas de las diluciones de los anticuerpos anti-ADNdc en pacientes con actividad lúpica leve/moderada versus grave. Pero encontramos una fuerte correlación entre R-C3d MIF y R-C4d MIF y las diluciones de anti-ADNdc en aquellos pacientes con actividad lúpica leve a moderada. Previamente, un estudio de pacientes colombianos con LES (19) encontró una diferencia significativa en el valor de R-C4d entre los grupos de actividad de la enfermedad leve y moderada. Al comparar las medianas de los anti-ADNdc y R-C4d para los diferentes grupos de actividad, no encontraron una diferencia significativa para los anti-ADNdc. Este hallazgo podría

explicarse por el hecho de que la escala SELENA-SLEDAI evalúa la actividad de la enfermedad en los últimos diez días, mientras que el anti-ADNdc podría estar elevado hasta 3 meses antes de que se evidencie una recaída lúpica (40).

Fue difícil interpretar las correlaciones entre el complemento C3 o C4 y los CB-CAP, lo que podría deberse a que todo el grupo de pacientes con LES tenía una mediana de C4 normal (10 mg/dL) y una mediana de C3 ligeramente disminuida (72 mg/dL). Más aun, los pacientes con actividad lúpica de leve a moderada tenían niveles séricos de C3 y C4 casi siempre normales, en este subgrupo de pacientes las correlaciones estadísticamente significativas entre los CB-CAP y el complemento sérico fueron positivas. Además, destacamos que la única correlación entre el complemento sérico y los CB-CAP que resultó significativa en el subgrupo de pacientes con actividad lúpica grave fue negativa. En este mismo sentido, un estudio de cohorte prospectivo, que incluyó a 15 sujetos con nefritis lúpica (NL) y dos grupos de control, tres pacientes con NL tuvieron reportes de anti-ADNdc negativos, el C4 sérico estaba solo levemente disminuido y por el contrario tenían niveles elevados de R-C4d MIF (20). Mientras que, Liu C *et al.* encontraron una correlación inversa de débil a moderada entre R-C4d y el complemento C3 ($r = -0,42$ $p < 0,0001$) y C4 ($r = -0,36$ $p < 0,0001$) (14). Como lo han hecho otros autores, previamente hemos descrito las limitaciones en la interpretación del complemento sérico como marcador de la actividad en LES (16).

En eritrocitos, encontramos diferencias significativas entre pacientes con LES y controles en cuanto a E-C3d MIF, E-C4d% y el porcentaje de células doble negativas. Yang D *et al.* analizaron E-C4d en pacientes con lupus y detectaron una correlación inversa entre E-C4d y C3 ($r = -0,442$, $p < 0,001$) y C4 ($r = -0,584$, $p < 0,001$). Sin embargo, no encontraron correlación entre E-C4d y los anticuerpos anti-ADNdc (34). Se describieron hallazgos similares del complemento sérico C3 y C4 y los CB-CAP en eritrocitos en otras dos investigaciones extensas de pacientes con LES (15, 16). En la presente investigación se encontró una fuerte correlación entre E-C4d MIF y los anti-ADNdc en pacientes con actividad lúpica leve a moderada. La función fisiológica de E-C4d no está completamente clara y también se pueden encontrar niveles altos de E-C4d en SAF (34). Otros autores han considerado que algunos aspectos podrían afectar los niveles de E-C4d y su

correlación con la actividad en LES, como la presencia de uremia y anemia hemolítica (34).

No encontramos diferencias significativas entre controles sanos y pacientes en los CB-CAP relacionados con linfocitos B, ni correlación entre los CB-CAP de linfocitos B con los anti-ADNdc ni con el complemento sérico. Otros autores han descrito la utilidad de B-C4d como biomarcador de actividad lúpica, y se ha correlacionado positivamente con el LSI (21). Los CB-CAP en los linfocitos T fueron descritos previamente por investigadores chinos (41), quienes informaron niveles más altos de T-C4d en pacientes con LES versus controles. En nuestra investigación, TCD8-C3d MIF fue uno de los CB-CAP con una correlación fuerte respecto a los anti-ADNdc en el subgrupo de pacientes con actividad lúpica baja a moderada. También evidenciamos una correlación moderada entre TCD8-C4d MIF y los niveles de C3 sérico en pacientes con actividad grave. Estos novedosos hallazgos deberían ser estudiados con profundidad más adelante en investigaciones con poblaciones más grandes. Además, la literatura respecto al efecto de diferentes fragmentos del complemento C3 en las células T humanas es escasa. Sin embargo, T-C4d y T-C3d fueron evaluados por otros autores como biomarcadores para el diagnóstico de LES (28,41,42).

De acuerdo con la actividad de la enfermedad, demostramos correlaciones significativas por primera vez entre el índice SELENA/SLEDAIns y la MIF de TCD8-C4d y TCD8-C3d. Aunque la literatura sobre linfocitos T unidos a fragmentos de complemento en LES es escasa, Liu *et al.* demostraron la presencia de niveles más altos de C4d y C3d unidos a subconjuntos de linfocitos (CD4+ y CD8+) en pacientes con LES en comparación con los controles, lo que brinda una plausibilidad biológica potencial como biomarcador (28). Asimismo, describieron a TCD4-C4d MFI como uno de los CB-CAP con mayor frecuencia en pacientes no caucásicos, señalando la diferencia de su expresión entre etnias (28). En cuanto a la actividad de la enfermedad, Li *et al.* encontraron en una población asiática una fuerte correlación entre la MIF de TCD4-C4d y el índice SELENA/SLEDAI ($r=0.75$, $p<0.001$), además de una mejor especificidad de este CB-CAP en el diagnóstico de pacientes chinos con LES (94,3 %) (43) en comparación con los pacientes caucásicos (80%) (28). El hecho de que los fragmentos del complemento unidos a las células T sean biomarcadores diagnósticos más precisos en pacientes no

caucásicos podría permitir suponer su mejor correlación con el índice de actividad en minorías raciales. Sin embargo, es necesario realizar estudios prospectivos en una población grande con representación de diferentes etnias para validar estos resultados.

Al comparar las correlaciones entre CB-CAP y biomarcadores habituales con la escala SELENA/SLEDAI_{ns}, los coeficientes Rho de TCD8-C4d y TCD8-C3d fueron de magnitud cercana a los encontrados para C3 (Rho= -0,57) y C4 (Rho= -0,51) en todos los pacientes con LES; ambos con una fuerza de correlación moderada. Los anticuerpos anti-ADNdc no tuvieron resultados significativos en nuestra población, lo que podría explicarse por los amplios niveles de variación en el tiempo, la fluctuación según los dominios clínicos afectados y el hecho de que no todos los anticuerpos son patógenos (10). Investigaciones previas en pacientes caucásicos con lupus también mostraron una correlación inversa entre los niveles de C3 ($r = -0,46$; $p = 0,001$) y C4 ($r = -0,49$; $p = 0,001$) con el índice SLEDAI, y su mejor desempeño con respecto a los anticuerpos anti-ADNdc ($r = 0,3$; $p = 0,032$) (19). Sin embargo, en contraste con nuestros resultados, estas investigaciones demostraron que E-C4d ($r = 0,77$; $p = 0,001$) y R-C4d ($r = 0,74$; $p = 0,0001$) fueron los CB-CAP con los valores de correlación más altos de acuerdo con la actividad (19-21).

Según los análisis exploratorios sobre el comportamiento de los CB-CAP para determinar pacientes con actividad severa (SELENA/SLEDAI_{ns} ≥ 8), R-C4d MFI tuvo la mayor sensibilidad (75%), especificidad (64%) y área bajo la curva ROC de todos los CB-CAP. Estos resultados refuerzan la hipótesis de la utilidad de los reticulocitos para monitorear la actividad de la enfermedad con base en un mecanismo biológicamente plausible. Teniendo en cuenta que los reticulocitos permanecen en circulación durante un período corto, R-C4d podría ser más predictivo de los brotes agudos de la enfermedad cuando se realiza más cerca del evento (14). A la fecha, una investigación evaluó la sensibilidad según los subgrupos SELENA/SLEDAI_{ns}, encontrando que, en pacientes con puntaje mayor a seis, la sensibilidad de los CB-CAP anormales (E-C4d y B-C4d) fue de 87%, siendo superior a los hallazgos de la hipocomplementemia (70%) y la positividad de anticuerpos anti-ADNdc (60%) (15). En contraste con el rendimiento de los biomarcadores habituales, nuestros resultados son numéricamente superiores a los encontrados por Mok *et al.*, donde la sensibilidad y especificidad del anti-ADNdc en la

actividad lúpica renal y extrarrenal fue del 75% - 49% y del 65% - 48%, respectivamente (44). A pesar de la conocida ventaja de los anticuerpos anti-ADNdc como factor pronóstico de la actividad de la enfermedad, incluso en pacientes multiétnicos, su falta de precisión se debe a que sus niveles en sangre disminuyen a medida que los complejos inmunes se depositan en los tejidos durante los brotes (45).

La mayor fortaleza de nuestro estudio fue la evaluación por primera vez en una población de AL de un mayor número de CB-CAP además de R-C4d. Lo anterior nos permitió explorar, en un mismo momento, el comportamiento de los CB-CAP respecto a la escala SELENA/SLEDAI_{ns} y de los biomarcadores habituales, brindándonos un panorama generalizado en pacientes específicos. Sin embargo, el estudio tiene limitaciones basadas principalmente en el pequeño tamaño de la muestra, que impidió la realización de un análisis multivariado y la medición de correlación de acuerdo con dominios clínicos, y la falta de centros de reclutamiento de otras regiones, lo que podría afectar la validación externa. Finalmente, este estudio transversal no evaluó el papel de los CB-CAP en el seguimiento de los pacientes, dejando abierta la brecha en el conocimiento sobre su utilidad en medición de actividad a lo largo del tiempo.

10 Conclusiones

TCD8-C4d MIF y TCD8-C3d MIF fueron los CB-CAP que se correlacionaron con la actividad de la enfermedad medida por SELENA/SLEDAI_{ns} en una cohorte de pacientes latinoamericanos. Los análisis exploratorios destacan, según sus valores de AUC, el rendimiento de R-C4d y E-C4d para identificar pacientes con LES grave. Lo anterior expone a los CB-CAP como una herramienta que en el futuro podría cambiar la práctica clínica de los médicos que siguen y tratan a pacientes con LES.

La actividad de la enfermedad está en estrecha relación con el daño acumulado y la mortalidad, por lo tanto, cuanto mejores sean las herramientas utilizadas para detectar la actividad, mejores serán sus resultados primarios. Como clínicos, podríamos intentar mejorar la evidencia científica sobre la utilidad de los CB-CAP y evaluar estudios de costo-beneficio, más aún en países donde los recursos económicos para la atención de la salud son limitados, como es el caso de varios países de LA.

11 Recomendaciones

En la actualidad se necesita de estudios con alto rigor científico como los ensayos clínicos para validar el rendimiento de los CB-CAP en la identificación de la actividad de la enfermedad en pacientes con LES de diferentes grupos étnicos.

Referencias

1. Kaul A, Gordon C, Crow MK, Touma Z, Urowitz MB, Van Vollenhoven R, et al. Systemic lupus erythematosus. *Nat Rev Dis Prim.* 2016;2:1–21. DOI: 10.1038/nrdp.2016.39.
2. Fanouriakis A, Tziolos N, Bertsias G, Boumpas DT. Update in the diagnosis and management of systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis.* 2021;80(1):14–25. DOI: 10.1136/annrheumdis-2020-218272.
3. Yurkovich M, Vostretsova K, Chen W, Aviña-Zubieta JA. Overall and cause-specific mortality in patients with systemic lupus erythematosus: A meta-analysis of observational studies. *Arthritis Care Res.* 2014;66(4):608–16. DOI: 10.1002/acr.22173.
4. Ugarte-Gil MF, Acevedo-Vásquez E, Alarcón GS, Pastor-Asurza CA, Alfaro-Lozano JL, Cucho-Venegas JM, et al. The number of flares patients experience impacts on damage accrual in systemic lupus erythematosus: Data from a multiethnic Latin American cohort. *Ann Rheum Dis.* 2015;74(6):1019–23. DOI: 10.1136/annrheumdis-2013-204620.
5. Ahearn JM, Liu CC, Kao AH, Manzi S. Biomarkers for systemic lupus erythematosus. Vol. 159, *Translational Research.* 2012;159(4):326–42. DOI: 10.1016/j.trsl.2012.01.021.
6. Ahearn JM, Manzi S, Liu CC. The lupus biomarker odyssey: One experience. *Methods Mol Biol.* 2014;1134:17–35. DOI: 10.1007/978-1-4939-0326-9_2.
7. Abu-Shakra M, Urowitz MB, Gladman DD, Gough J. Mortality studies in systemic lupus erythematosus. Results from a single center. I. Causes of death. *J Rheumatol.* 1995;22(7):1259–64.

8. Mok CC. Biomarkers for lupus nephritis: A critical appraisal. *J BioMed Research International*. 2010;2010:0-11. DOI: 10.1155/2010/638413.
9. Wallace D, Hahn B. *Dubois' Lupus Erythematosus and Related Syndromes*. Elsevier; 2019. p. 614–630.
10. González LA, Ugarte-Gil MF, Alarcón GS. Systemic lupus erythematosus: The search for the ideal biomarker. *Lupus*. 2021;30(2):181-203. DOI: 10.1177/0961203320979051.
11. Ghiggeri GM, D'alessandro M, Bartolomeo D, Degl'innocenti ML, Magnasco A, Lugani F, et al. An update on antibodies to nucleosome components as biomarkers of systemic lupus erythematosus and of lupus flares. *Int J Mol Sci*. 2019;20(22):5799. DOI: 10.3390/ijms20225799.
12. Liu CC, Manzi S, Kao AH, Navratil JS, Ahearn JM. Cell-Bound Complement Biomarkers for Systemic Lupus Erythematosus: From Benchtop to Bedside. *Rheum Dis Clin North Am*. 2010;36(1):161–72. DOI: 10.1016/j.rdc.2009.12.003.
13. Manzi S, Navratil JS, Ruffing MJ, Liu CC, Danchenko N, Nilson SE, et al. Measurement of erythrocyte C4d and complement receptor 1 in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2004;50(11):3596–604. DOI: 10.1002/art.20561.
14. Liu CC, Manzi S, Kao AH, Navratil JS, Ruffing MJ, Ahearn JM. Reticulocytes bearing C4d as biomarkers of disease activity for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2005;52(10):3087–99. DOI: 10.1002/art.21305.
15. Putterman C, Furie R, Ramsey-Goldman R, Askanase A, Buyon J, Kalunian K, et al. Cell-bound complement activation products in systemic lupus erythematosus: Comparison with anti-double-stranded DNA and standard complement

-
- measurements. *Lupus Sci Med*. 2014;1(1):e000056. DOI: 10.1136/lupus-2014-000056.
16. Kao AH, Navratil JS, Ruffing MJ, Liu CC, Hawkins D, McKinnon KM, et al. Erythrocyte C3d and C4d for monitoring disease activity in systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2010;62(3):837–44. DOI: 10.1002/art.27267.
 17. Buyon J, Furie R, Putterman C, Ramsey-Goldman R, Kalunian K, Barken D, et al. Reduction in erythrocyte-bound complement activation products and titres of anti-C1q antibodies associate with clinical improvement in systemic lupus erythematosus. *Lupus Sci Med*. 2016;3(1):1–8. DOI: 10.1136/lupus-2016-000165.
 18. Merrill JT, Petri MA, Buyon J, Ramsey-Goldman R, Kalunian K, Putterman C, et al. Erythrocyte-bound C4d in combination with complement and autoantibody status for the monitoring of SLE. *Lupus Sci Med*. 2018;5(1):1–7. DOI: 10.1136/lupus-2018-000263.
 19. Batal I, Liang K, Bastacky S, Kiss LP, McHale T, Wilson NL, et al. Prospective assessment of C4d deposits on circulating cells and renal tissues in lupus nephritis: A pilot study. *Lupus*. 2011;21(1):13–26. DOI: 10.1177/0961203311422093.
 20. Arriens C, Alexander RV, Narain S, Saxena A, Collins CE, Wallace DJ, et al. Cell-bound complement activation products associate with lupus severity in SLE. *Lupus Sci Med*. 2020;7(1):1–6. DOI: 10.1136/lupus-2019-000377.
 21. Aringer M, Costenbader K, Daikh D, Brinks R, Mosca M, Ramsey-Goldman R, et al. 2019 European League Against Rheumatism/American College of Rheumatology classification criteria for systemic lupus erythematosus. *Ann Rheum Dis*. 2019;78(9):1151–9. DOI: 10.1136/annrheumdis-2018-214819.

22. Law SK. the Covalent Binding Reaction of C3 and C4. *Ann N Y Acad Sci.* 1983;421(1):246–58. DOI: 10.1111/j.1749-6632.1983.tb18113.x.
23. Tilley CA, Romans DG, Crookston MC. Localisation of Chido and Rodgers determinants to the C4d fragment of human C4. *Nature*; 1978;276:713–5. DOI: 10.1038/276713a0.
24. Sarma JV, Ward PA. The complement system. *Cell Tissue Res.* 2011;343(1):227–35. DOI i: 10.1007/s00441-010-1034-0.
25. Ling M, Murali M. Analysis of the Complement System in the Clinical Immunology Laboratory. *Clin Lab Med.* 2019;36(4):579-90. DOI: 10.1016/j.cll.2019.07.006.
26. Ahearn JM, Liu CC, Manzi S. Cell-bound complement activation products as lupus biomarkers: diagnosis, monitoring and stratification. *Expert Rev Clin Immunol.* 2017;13(12):1133–42. DOI: 10.1080/1744666X.2017.1392238.
27. Weinstein A, Bordwell B, Stone B, Tibbetts C, Rothfield NF. Antibodies to native DNA and serum complement (C3) levels. Application to diagnosis and classification of systemic lupus erythematosus. *Am J Med.* 1983;74(2):206–16. DOI: 10.1016/0002-9343(83)90613-7.
28. Liu CC, Kao AH, Hawkins DM, Manzi S, Sattar A, Wilson N, et al. Lymphocyte-bound complement activation products as biomarkers for diagnosis of systemic lupus erythematosus. *Clin Transl Sci.* 2009;2(4):300–8. DOI: 10.1111/j.1752-8062.2009.00135.x.
29. Navratil JS, Manzi S, Kao AH, Krishnaswami S, Liu CC, Ruffing MJ, et al. Platelet C4d is highly specific for systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2006;54(2):670–4. DOI: 10.1002/art.21627.

30. Lood C, Eriksson S, Gullstrand B, Jönsen A, Sturfelt G, Truedsson L, et al. Increased C1q, C4 and C3 deposition on platelets in patients with systemic lupus erythematosus-a possible link to venous thrombosis? *Lupus*. 2012;21(13):1423–32. DOI: 10.1177/0961203312457210.
31. Vaughan JH, Bayles TB, Favour CB. The response of serum gamma globulin level and complement titer to adrenocorticotrophic hormone therapy in lupus erythematosus disseminatus. *J Lab Clin Med*. 1951;37(5):698–702.
32. Liu CC, Kao AH, Manzi S, Ahearn JM. Biomarkers in systemic lupus erythematosus: Challenges and prospects for the future. *Ther Adv Musculoskelet Dis*. 2013;5(4):210–33. DOI: 10.1177/1759720X13485503.
33. Ramsey-Goldman R, Li J, Dervieux T, Alexander RV. Cell-bound complement activation products in SLE. *Lupus Sci Med*. 2017;4(1):1–8. DOI: 10.1136/lupus-2017-000236.
34. Yang DH, Chang DM, Lai JH, Lin FH, Chen CH. Usefulness of erythrocyte-bound C4d as a biomarker to predict disease activity in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology*. 2009;48(9):1083–7. DOI: 10.1093/rheumatology/kep161.
35. Jaffe RB. Combined oral contraceptives in women with systemic lupus erythematosus: Commentary. *Obstet Gynecol Surv*. 2006;61(4):251–3.
36. Bello GA, Brown MA, Kelly JA, Thanou A, James JA, Montgomery CG. Development and validation of a simple lupus severity index using ACR criteria for classification of SLE. *Lupus Sci Med*. 2016;3(1):1–6. DOI: 10.1136/lupus-2015-000136.

37. Mora C, Medina-Rosas J, Santos AM, Jaimes DA, Arbeláez AM, Romero C, et al. Associations of the levels of C4d-bearing reticulocytes and high-avidity anti-dsDNA antibodies with disease activity in systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2016;43(9):1657–64. DOI: 10.3899/jrheum.150486.
38. Crosslin KL, Wiginton KL. The impact of race and ethnicity on disease severity in systemic lupus erythematosus. *Ethn Dis.* 2009;19(3):301–7.
39. Alarcón GS, McGwin GJ, Bastian HM, Roseman J, Lisse J, Fessler BJ, et al. Systemic lupus erythematosus in three ethnic groups. VII [correction of VIII]. Predictors of early mortality in the LUMINA cohort. LUMINA Study Group. *Arthritis Rheum.* 2001 Apr;45(2):191–202. DOI: 10.1002/1529-0131(200104)45:2<191::AID-ANR173>3.0.CO;2-2.
40. Bootsma H, Spronk PE, Ter Borg EJ, Hummel EJ, de Boer G, Limburg PC, et al. The predictive value of fluctuations in IgM and IgG class anti-dsDNA antibodies for relapses in systemic lupus erythematosus. A prospective long-term observation. *Ann Rheum Dis.* 1997 Nov;56(11):661–6. DOI: 10.1136/ard.56.11.661.
41. Huang J, Ma H, Li Z, Cheng L, Zhang P, Li X, et al. [Detection of cell-bound immune complexes and its diagnostic value in systemic lupus erythematosus]. *Chinese J Cell Mol Immunol.* 2019 Feb;35(2):162–8.
42. Török K, Kremlitzka M, Sándor N, Tóth EA, Bajtay Z, Erdei A. Human T cell derived, cell-bound complement iC3b is integrally involved in T cell activation. *Immunol Lett.* 2012 Mar;143(1):131–6. DOI: 10.1016/j.imlet.2012.02.003.
43. Li J, An L, Zhang Z. Usefulness of Complement Activation Products in Chinese Patients With Systemic Lupus Erythematosus. *Clin Exp Rheumatol.* 2014;32(1):48–53.

-
44. Mok CC, Ho LY, Leung HW, Wong LG. Performance of anti-C1q, antinucleosome, and anti-dsDNA antibodies for detecting concurrent disease activity of systemic lupus erythematosus. *Transl Res.* 2010;156(6):320–5. DOI: 10.1016/j.trsl.2010.07.009.

 45. Bengtsson A, Nezlin R, Shoenfeld Y, Sturfelt G. DNA levels in circulating immune complexes decrease at severe SLE flares - Correlation with complement component C1q. *J Autoimmun.* 1999;13(1):111–9. DOI: 10.1006/jaut.1999.0300.

Anexos

Anexo 1. Definición operacional de las variables

Definición operacional de la variable dependiente

Variable	Definición operativa	Tipo de variable	Unidad de medida
SELENA-SLEDAIns	Cálculo de la escala sin incluir niveles de complemento o anti-ADNdc. Los datos utilizados deben ser actuales (menos de 1 mes desde la toma)	Cuantitativa discreta	Valor numérico

Definición operacional de las variables independiente

Variable	Definición operativa	Tipo de variable	Unidad de medida
Sociodemográficas			
Código	Número asignado en orden consecutivo a cada paciente que ingrese al estudio	Cuantitativa discreta	Valor numérico
Edad	Número de años que el paciente tenga al momento del ingreso al estudio	Cuantitativa discreta	Valor numérico
Género	Género reportado en documento de identidad del paciente	Cualitativa nominal	Hombre: 1 Mujer: 0
Etnia	Categorías de individuos con rasgos fenotípicos comunes que se perpetúan por herencia	Cualitativa nominal	Blanca Mestiza Afro-latinoamericana Indígena Desconocida Otra
Nivel educativo	Máximo grado educativo alcanzado hasta el momento de la valoración	Cualitativa nominal	Desconocido Analfabeto Educado 1 año Educado 2 años -- Educado 20 años
Edad al diagnóstico	Edad al diagnóstico de la enfermedad en años	Cuantitativa discreta	Valor numérico

Duración de la enfermedad	Tiempo en meses desde el inicio de los síntomas hasta la valoración del paciente	Cuantitativa discreta	Valor numérico
Comorbilidades	Descripción de las otras enfermedades que padece el paciente	Cualitativa nominal	Respuesta abierta
Manifestaciones acumuladas de LES			
Manifestaciones generales			
Fiebre	Haber presentado 1 o más episodios febriles desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Fatiga	Haber presentado cuadro de fatiga desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Linfadenopatías	Haber presentado linfadenopatías desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Manifestaciones piel y mucosas			
Eritema malar	Haber presentado 1 o más episodios eritema malar desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Lupus ampoloso	Tener diagnóstico de lupus ampoloso durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Necrólisis epidérmica tóxica	Tener diagnóstico de necrólisis epidérmica tóxica durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Lupus cutáneo subagudo	Tener diagnóstico de lupus cutáneo subagudo durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Fotosensibilidad	Haber presentado 1 o más episodios de fotosensibilidad desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Lupus discoide	Tener diagnóstico de lupus discoide durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Lupus verrugoso o hipertrófico	Tener diagnóstico de lupus verrugoso o hipertrófico durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Paniculitis	Tener diagnóstico de paniculitis durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0

Lupus tumidus	Tener diagnóstico de lupus tumidus durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Lupus pernio	Tener diagnóstico de lupus pernio durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Úlceras orales	Haber presentado 1 o más episodios de úlceras orales desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Alopecia	Haber presentado 1 o más episodios de alopecia desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Fenómeno de Raynaud	Haber presentado fenómeno de Raynaud desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Vasculitis cutánea	Tener diagnóstico de lupus pernio durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Livedo	Haber presentado episodios de livedo desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Manifestaciones musculoesqueléticas			
Artralgias	Haber presentado 1 o más episodios de artralgias de al menos 2 articulaciones desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Artritis	Haber presentado 1 o más episodios de artritis de al menos 2 articulaciones desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Jacoud	Tener diagnóstico de artropatía de Jacoud durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Necrosis avascular ósea	Tener diagnóstico de necrosis avascular ósea durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Miositis	Tener diagnóstico de miositis durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Manifestaciones renales			
Proteinuria persistente	No lograr una reducción del 50% o más de la proteinuria basal a los 6 meses de seguimiento	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0

Proteinuria nefrótica	Haber presentado 1 o más episodios de proteinuria en rango nefrótico (≥ 3.5 g/24h) desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Cilindruria	Haber presentado 1 o más episodios de cilindruria desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Insuficiencia renal aguda	Tener diagnóstico de insuficiencia renal aguda durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Insuficiencia renal crónica	Tener diagnóstico de insuficiencia renal crónica durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
NL clase I	Tener diagnóstico de nefritis lúpica clase I durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
NL clase II	Tener diagnóstico de nefritis lúpica clase II durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
NL clase III	Tener diagnóstico de nefritis lúpica clase III durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
NL clase IV	Tener diagnóstico de nefritis lúpica clase IV durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
NL clase V	Tener diagnóstico de nefritis lúpica clase V durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
NL clase VI	Tener diagnóstico de nefritis lúpica clase VI durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Manifestaciones neuro-psiquiátricas			
Convulsiones	Haber presentado 1 o más episodios de convulsiones sin causa aparente desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Psicosis	Haber presentado 1 o más episodios de psicosis desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Mononeuritis múltiple	Tener diagnóstico de mononeuritis múltiple durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0

Mielitis transversa	Tener diagnóstico de mielitis transversa durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Neuritis craneal	Tener diagnóstico de neuritis craneal durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Neuropatía periférica	Tener diagnóstico de neuropatía periférica durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Síndrome confusional agudo	Tener diagnóstico de lupus pernicio durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
ACV isquémico	Tener diagnóstico de ACV isquémico durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
ACV hemorrágico	Tener diagnóstico de ACV hemorrágico durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Accidente isquémico transitorio	Tener diagnóstico accidente isquémico transitorio durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Déficit cognitivo	Haber presentado 1 o más episodios de déficit cognitivo desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Manifestaciones oculares			
Xeroftalmia	Haber presentado 1 o más episodios de xeroftalmia desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Neuritis óptica	Tener diagnóstico de neuritis óptica durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Serositis			
Pleuritis	Haber presentado 1 o más episodios de pleuritis desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Pericarditis	Tener diagnóstico de lupus pernicio durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Peritonitis	Haber presentado 1 o más episodios de peritonitis desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Manifestaciones cardiovasculares			

Miocarditis	Tener diagnóstico de miocarditis durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Libman Sacks	Tener diagnóstico de endocarditis de Libman Sacks durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Infarto agudo de miocardio	Tener diagnóstico de infarto agudo de miocardio durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Angina de pecho	Haber presentado 1 o más episodios de angina de pecho desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Isquemia digital	Haber presentado 1 o más episodios de isquemia digital desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Gangrena digital	Haber presentado 1 o más episodios de gangrena digital desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Trombosis venosa profunda	Tener diagnóstico de trombosis venosa profunda durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Trombosis arterial	Tener diagnóstico de trombosis arterial durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Manifestaciones pulmonares			
Enfermedad pulmonar intersticial	Tener diagnóstico de enfermedad pulmonar intersticial durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Hemorragia pulmonar	Tener diagnóstico de hemorragia pulmonar durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Hipertensión pulmonar	Tener diagnóstico de hipertensión pulmonar durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Tromboembolismo pulmonar	Tener diagnóstico de tromboembolismo pulmonar	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0

	durante el transcurso de la enfermedad		
Pulmón encogido	Tener diagnóstico de pulmón encogido durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Manifestaciones gastrointestinales			
Xerostomia	Haber presentado 1 o más episodios de xerostomia desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Hepatomegalia	Tener diagnóstico de hepatomegalia durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Esplenomegalia	Tener diagnóstico de esplenomegalia durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Hepatitis autoinmune	Tener diagnóstico de hepatitis autoinmune durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Pancreatitis autoinmune	Tener diagnóstico de pancreatitis autoinmune durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Manifestaciones hematológicas			
Anemia	Haber presentado 1 o más episodios de anemia desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Anemia hemolítica	Tener diagnóstico de anemia hemolítica durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Coombs directo	Tener en 1 o más ocasiones coombs directo positivo desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Leucopenia	Haber presentado 1 o más episodios de leucopenia desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Linfopenia	Haber presentado 1 o más episodios de linfopenia desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Neutropenia	Haber presentado 1 o más episodios de neutropenia desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Trombocitopenia	Haber presentado 1 o más episodios de	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0

	trombocitopenia desde el diagnóstico de LES		
Anticuerpos y complemento inicial			
Complemento C3	Valor de primer C3 disponible	Cuantitativa continua	Valor en mg/dL
Complemento C4	Valor de primer C4 disponible	Cuantitativa continua	Valor en mg/dL
Anticuerpos anti-ADNdc	Valor superior al límite superior normal	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Anticuerpos anti-ADNdc Por IFI	Valor del anticuerpo anti-ADNdc realizado por inmunofluorescencia indirecta con <i>Critidia luciliae</i>	Cuantitativa discreta	Valor numérico
Anticuerpos anti-ADNdc por ELISA	Valor del anticuerpos anti-ADNdc realizado por técnica de ensayo en ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas	Cuantitativa continua	Valor numérico
ANAs	Título de ANAs mayor o igual a 1:80 en células HEp2 o una prueba positiva equivalente	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Anticuerpos Anti SSA	Valor positivo del primer anticuerpo anti SSA disponible	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Anticuerpos Anti-SSB	Valor positivo del primer anticuerpo anti-SSB disponible	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Anticuerpos anti RNP	Valor positivo del primer anticuerpo anti RNP disponible	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Anticuerpos anti-Sm	Valor positivo del primer anticuerpo anti-Sm disponible	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Anticuerpos anti cardiolipina IgG	Valor positivo del primer anticuerpo anti cardiolipina IgG disponible	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Anticuerpos anti cardiolipina IgM	Valor positivo del primer anticuerpo anti cardiolipina IgM disponible	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Anticuerpos anti B2GP1 IgG	Valor positivo del primer anticuerpo anti B2GP1 IgG disponible	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0

Anticuerpos anti B2GP1 IgM	Valor positivo del primer anticuerpo anti B2GP1 IgM disponible	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Anticoagulante lúpico tamizaje	Valor d positivo del primer anticuerpo anticoagulante lúpico tamizaje disponible	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Anticoagulante lúpico confirmatorio	Valor positivo del primer anticuerpo anticoagulante lúpico confirmatorio disponible	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Tratamiento actual			
Glucocorticoide	Uso de cualquier glucocorticoide en el último mes	Cualitativa nominal	Presente:1 Ausente: 0
Dosis semanal de esteroide	Dosis en mg administrada a la semana de prednisolona. Si recibe un esteroide diferente a prednisona se debe registrar la dosis equivalente	Cuantitativa continua	Dosis en mg
Cloroquina	Uso de cloroquina en el último mes	Cualitativa nominal	Presente:1 Ausente: 0
Hidroxicloroquina	Uso de hidroxicloroquina en el último mes	Cualitativa nominal	Presente:1 Ausente: 0
Metotrexato	Uso de metotrexato en el último mes	Cualitativa nominal	Presente:1 Ausente: 0
Micofenolato	Uso de micofenolato en el último mes	Cualitativa nominal	Presente:1 Ausente: 0
Azatioprina	Uso de azatioprina en el último mes	Cualitativa nominal	Presente:1 Ausente: 0
Anticuerpo monoclonal	Uso de anticuerpo monoclonal en el último mes	Cualitativa nominal	Presente:1 Ausente: 0
Cual anticuerpo monoclonal	Nombre del anticuerpo monoclonal usado	Cualitativa nominal	Nombre del anticuerpo monoclonal usado
Antiagregante	Uso de antiagregante en el último mes	Cualitativa nominal	Presente:1 Ausente: 0
Anticoagulante	Uso de anticoagulante en el último mes	Cualitativa nominal	Presente:1 Ausente: 0
Manifestaciones actuales del LES			
Manifestaciones generales			
Fiebre	Haber presentado 1 o más episodios febriles desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0

Fatiga	Haber presentado cuadro de fatiga desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Linfadenopatías	Haber presentado linfadenopatías desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Manifestaciones piel y mucosas			
Eritema malar	Haber presentado 1 o más episodios eritema malar desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Lupus ampoloso	Tener diagnóstico de lupus ampoloso durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Necrólisis epidérmica tóxica	Tener diagnóstico de necrólisis epidérmica tóxica durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Lupus cutáneo subagudo	Tener diagnóstico de lupus cutáneo subagudo durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Fotosensibilidad	Haber presentado 1 o más episodios de fotosensibilidad desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Lupus discoide	Tener diagnóstico de lupus discoide durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Lupus verrugoso o hipertrófico	Tener diagnóstico de lupus verrugoso o hipertrófico durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Paniculitis	Tener diagnóstico de paniculitis durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Lupus tumidus	Tener diagnóstico de lupus tumidus durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Lupus pernio	Tener diagnóstico de lupus pernio durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Úlceras orales	Haber presentado 1 o más episodios de úlceras orales desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Alopecia	Haber presentado 1 o más episodios de alopecia desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0

Fenómeno de Raynaud	Haber presentado fenómeno de Raynaud desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Vasculitis cutánea	Tener diagnóstico de lupus pernio durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Livedo	Haber presentado episodios de livedo desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Manifestaciones musculoesqueléticas			
Artralgias	Haber presentado 1 o más episodios de artralgias de al menos 2 articulaciones desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Artritis	Haber presentado 1 o más episodios de artritis de al menos 2 articulaciones desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Jacoud	Tener diagnóstico de artropatía de Jacoud durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Necrosis avascular ósea	Tener diagnóstico de necrosis avascular ósea durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Miositis	Tener diagnóstico de miositis durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Manifestaciones renales			
Proteinuria persistente	No lograr una reducción del 50% o más de la proteinuria basal a los 6 meses de seguimiento	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Proteinuria nefrótica	Haber presentado 1 o más episodios de proteinuria en rango nefrótico (≥ 3.5 g/24h) desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Cilindruria	Haber presentado 1 o más episodios de cilindruria desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Insuficiencia renal aguda	Tener diagnóstico de insuficiencia renal aguda durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0

Insuficiencia renal crónica	Tener diagnóstico de insuficiencia renal crónica durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
NL clase I	Tener diagnóstico de nefritis lúpica clase I durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
NL clase II	Tener diagnóstico de nefritis lúpica clase II durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
NL clase III	Tener diagnóstico de nefritis lúpica clase III durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
NL clase IV	Tener diagnóstico de nefritis lúpica clase IV durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
NL clase V	Tener diagnóstico de nefritis lúpica clase V durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
NL clase VI	Tener diagnóstico de nefritis lúpica clase VI durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Manifestaciones neuro-psiquiátricas			
Convulsiones	Haber presentado 1 o más episodios de convulsiones sin causa aparente desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Psicosis	Haber presentado 1 o más episodios de psicosis desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Mononeuritis múltiple	Tener diagnóstico de mononeuritis múltiple durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Mielitis transversa	Tener diagnóstico de mielitis transversa durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Neuritis craneal	Tener diagnóstico de neuritis craneal durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Neuropatía periférica	Tener diagnóstico de neuropatía periférica durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0

Síndrome confusional agudo	Tener diagnóstico de lupus pernicio durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
ACV isquémico	Tener diagnóstico de ACV isquémico durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
ACV hemorrágico	Tener diagnóstico de ACV hemorrágico durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Accidente isquémico transitorio	Tener diagnóstico accidente isquémico transitorio durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Déficit cognitivo	Haber presentado 1 o más episodios de déficit cognitivo desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Manifestaciones oculares			
Xeroftalmia	Haber presentado 1 o más episodios de xeroftalmia desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Neuritis ótica	Tener diagnóstico de neuritis ótica durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Serositis			
Pleuritis	Haber presentado 1 o más episodios de pleuritis desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Pericarditis	Tener diagnóstico de lupus pernicio durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Peritonitis	Haber presentado 1 o más episodios de peritonitis desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Manifestaciones cardiovasculares			
Miocarditis	Tener diagnóstico de miocarditis durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Libman Sacks	Tener diagnóstico de endocarditis de Libman Sacks durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Infarto agudo de miocardio	Tener diagnóstico de infarto agudo de miocardio durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0

Angina de pecho	Haber presentado 1 o más episodios de angina de pecho desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Isquemia digital	Haber presentado 1 o más episodios de isquemia digital desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Gangrena digital	Haber presentado 1 o más episodios de gangrena digital desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Trombosis venosa profunda	Tener diagnóstico de trombosis venosa profunda durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Trombosis arterial	Tener diagnóstico de trombosis arterial durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Manifestaciones pulmonares			
Enfermedad pulmonar intersticial	Tener diagnóstico de enfermedad pulmonar intersticial durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Hemorragia pulmonar	Tener diagnóstico de hemorragia pulmonar durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Hipertensión pulmonar	Tener diagnóstico de hipertensión pulmonar durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Tromboembolismo pulmonar	Tener diagnóstico de tromboembolismo pulmonar durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Pulmón encogido	Tener diagnóstico de pulmón encogido durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Manifestaciones gastrointestinales			
Xerostomia	Haber presentado 1 o más episodios de xerostomia desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Hepatomegalia	Tener diagnóstico de hepatomegalia durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0

Esplenomegalia	Tener diagnóstico de esplenomegalia durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Hepatitis autoinmune	Tener diagnóstico de hepatitis autoinmune durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Pancreatitis autoinmune	Tener diagnóstico de pancreatitis autoinmune durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Manifestaciones hematológicas			
Anemia	Haber presentado 1 o más episodios de anemia desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Anemia hemolítica	Tener diagnóstico de anemia hemolítica durante el transcurso de la enfermedad	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Coombs directo	Tener en 1 o más ocasiones coombs directo positivo desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Leucopenia	Haber presentado 1 o más episodios de leucopenia desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Linfopenia	Haber presentado 1 o más episodios de linfopenia desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Neutropenia	Haber presentado 1 o más episodios de neutropenia desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Trombocitopenia	Haber presentado 1 o más episodios de trombocitopenia desde el diagnóstico de LES	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Laboratorios actuales			
C3	Valor de último C3 disponible no mayor a 1 mes)	Cuantitativa continua	Valor en mg/dL
C4	Valor de último C4 disponible no mayor a 1 mes)	Cuantitativa continua	Valor en mg/dL
Anticuerpos anti-ADNdc	Valor superior al límite superior normal	Cualitativa nominal	Presente: 1 Ausente: 0
Anticuerpos anti-ADNdc Por IFI	Valor del anticuerpo anti-ADNdc realizado por	Cuantitativa discreta	Valor numérico

	inmunofluorescencia indirecta con <i>Crithidia luciliae</i>		
Anticuerpos anti-ADNdc por ELISA	Valor del anticuerpos anti-ADNdc realizado por técnica de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas	Cuantitativa continua	Valor numérico
Hemoglobina	Valor de la última hemoglobina (no mayor a 1 mes)	Cuantitativa discreta	g/dL
Leucocitos absolutos	Valor de los últimos leucocitos (no mayor a 1 mes)	Cuantitativa discreta	Cel/mm ³
Neutrófilos absolutos	Valor de los últimos neutrófilos (no mayor a 1 mes)	Cuantitativa discreta	Cel/mm ³
Linfocitos absolutos	Valor de los últimos linfocitos (no mayor a 1 mes)	Cuantitativa discreta	Cel/mm ³
Plaquetas	Valor de las últimas plaquetas (no mayor a 1 mes)	Cuantitativa discreta	Cel/mm ³
Creatinina	Valor de la última creatinina (no mayor a 1 mes)	Cuantitativa continua	mg/dL
BUN	Valor del último BUN (no mayor a 1 mes)	Cuantitativa continua	mg/dL
EC4d IMF	IMF de C4d eritrocitos (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Intensidad media de fluorescencia
BC4d IMF	IMF de C4d unido a linfocitos B (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Intensidad media de fluorescencia
TC4d IMF	IMF de C4d unido a linfocitos T (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Intensidad media de fluorescencia
RC4d IMF	IMF de C4d unido a reticulocitos (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Intensidad media de fluorescencia
EC4d mediana de la intensidad de fluorescencia	Mediana de la intensidad de fluorescencia de C4d eritrocitos (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Mediana de la intensidad de fluorescencia
BC4d mediana de la intensidad de fluorescencia	Mediana de la intensidad de fluorescencia de C4d unido a linfocitos B (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Mediana de la intensidad de fluorescencia

TC4d mediana de la intensidad de fluorescencia	Mediana de la intensidad de fluorescencia de C4d unido a linfocitos T (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Mediana de la intensidad de fluorescencia
RC4d mediana de la intensidad de fluorescencia	Mediana de la intensidad de fluorescencia de C4d unido a reticulocitos (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Mediana de la intensidad de fluorescencia
EC4d porcentaje de células positivas	Porcentaje de células positivas de C4d eritrocitos (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Porcentaje de células positivas
BC4d porcentaje de células positivas	Porcentaje de células positivas de C4d unido a linfocitos B (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Porcentaje de células positivas
TC4d porcentaje de células positivas	Porcentaje de células positivas de C4d unido a linfocitos T (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Porcentaje de células positivas
RC4d porcentaje de células positivas	Porcentaje de células positivas de C4d unido a reticulocitos (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Porcentaje de células positivas
EC3d IMF	IMF de C4d eritrocitos (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Intensidad media de fluorescencia
BC3d IMF	IMF de C4d unido a linfocitos B (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Intensidad media de fluorescencia
TC3d IMF	IMF de C4d unido a linfocitos T (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Intensidad media de fluorescencia
RC3d IMF	IMF de C4d unido a reticulocitos (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Intensidad media de fluorescencia
EC3d mediana de la intensidad de fluorescencia	Mediana de la intensidad de fluorescencia de C4d eritrocitos (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Mediana de la intensidad de fluorescencia
BC3d mediana de la intensidad de fluorescencia	Mediana de la intensidad de fluorescencia de C4d unido a linfocitos B (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Mediana de la intensidad de fluorescencia

TC3d mediana de la intensidad de fluorescencia	Mediana de la intensidad de fluorescencia de C4d unido a linfocitos T (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Mediana de la intensidad de fluorescencia
RC3d mediana de la intensidad de fluorescencia	Mediana de la intensidad de fluorescencia de C4d unido a reticulocitos (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Mediana de la intensidad de fluorescencia
EC3d porcentaje de células positivas	Porcentaje de células positivas de C4d eritrocitos (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Porcentaje de células positivas
BC3d porcentaje de células positivas	Porcentaje de células positivas de C4d unido a linfocitos B (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Porcentaje de células positivas
TC3d porcentaje de células positivas	Porcentaje de células positivas de C4d unido a linfocitos T (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Porcentaje de células positivas
RC3d porcentaje de células positivas	Porcentaje de células positivas de C4d unido a reticulocitos (no mayor a 24 horas desde la toma)	Cuantitativa discreta	Porcentaje de células positivas
SELENA/SLEDAIns			
Convulsión	Inicio reciente (últimos 10 días). Excluir causas metabólicas, infecciosas o asociadas a drogas o convulsiones debido a daño del sistema nervioso central (SNC) irreversible en el pasado	Cuantitativa discreta	8 puntos
Psicosis	Habilidad alterada para funcionar en actividades normales debido a disturbios severos en la percepción de la realidad. Incluye: alucinaciones, incoherencia, asociaciones sueltas marcadas, contenido del pensamiento empobrecido, pensamiento ilógico marcado, comportamiento catatónico, desorganizado o extraño.	Cuantitativa discreta	8 puntos

	Excluir causas como uremia o drogas.		
Síndrome cerebral orgánico	Función mental alterada con alteración de la orientación, memoria u otras funciones intelectuales, con inicio rápido y características clínicas fluctuantes. Incluye: la nubosidad de la conciencia con una menor capacidad de concentración e incapacidad para mantener la atención al medio, más al menos 2 de los siguientes: alteración de la percepción, habla incoherentes, insomnio o somnolencia diurna o actividad psicomotora aumentada o disminuida. Excluir causas metabólicas, infecciosas o farmacológicas.	Cuantitativa discreta	8 puntos
Alteración visual	Cambios por LES en ojos y retina. Incluye: cuerpos citoides, hemorragia retiniana, exudados serosis o hemorragias en la coroides, neuritis óptica, escleritis o episcleritis. Excluir: hipertensión arterial, infección o causas farmacológicas.	Cuantitativa discreta	8 puntos
Desorden de los nervios craneales	Neuropatía motora o sensorial de nuevo inicio que compromete nervios craneales. Incluye vértigo debido a LES.	Cuantitativa discreta	8 puntos
ACV	Accidente cerebrovascular de nuevo inicio. Excluye: arterioesclerosis o causas hipertensivas.	Cuantitativa discreta	8 puntos
Vasculitis	Ulceración, gangrena, nódulos dolorosos en los dedos, infartos periungulares, hemorragias	Cuantitativa discreta	8 puntos

	en astilla o biopsia o angiograma que demuestre la vasculitis.		
Artritis	Más de 2 articulaciones con dolor y signos de inflamación (dolor, edema o efusión)	Cuantitativa discreta	8 puntos
Miositis	Debilidad/dolor muscular proximal, asociado a elevación de la creatina fosfatasa/aldolasa o cambios electromiográficos o biopsia que muestre miositis.	Cuantitativa discreta	4 puntos
Cilindros urinarios	Cilindros hemo-granulares o de glóbulos rojos.	Cuantitativa discreta	4 puntos
Hematuria	> 5 glóbulos rojos por campo de alto poder. Excluir cálculos, infección u otras causas.	Cuantitativa discreta	4 puntos
Proteinuria	Nuevo inicio o incremento reciente de más de 0,5 gramos en 24 horas.	Cuantitativa discreta	4 puntos
Piuria	> 5 leucocitos por campo de alto poder. Excluir infección.	Cuantitativa discreta	4 puntos
Rash	Rash inflamatorio por lupus continuo	Cuantitativa discreta	4 puntos
Alopecia	Perdida de cabello anormal, irregular o difusa continua debido al lupus activo.	Cuantitativa discreta	2 puntos
Úlceras orales	Ulceración nasal u oral continua debido a lupus activo.	Cuantitativa discreta	2 puntos
Pleuritis	Dolor torácico pleurítico clásico y severo o frote o derrame pleural o nuevo engrosamiento pleural debido a lupus.	Cuantitativa discreta	2 puntos
Pericarditis	Dolor pericárdico clásico y severo o frote o derrame o confirmación por electrocardiograma.	Cuantitativa discreta	2 puntos
Fiebre	>38 °C. Excluir causas infecciosas.	Cuantitativa discreta	2 puntos

Trombocitopenia	<100.000 plaquetas/mm ³ .	Cuantitativa discreta	1 puntos
Leucopenia	<3.000 leucocitos células/mm ³ . Excluir causas farmacológicas.	Cuantitativa discreta	1 puntos

Anexo 2. Consentimiento informado

Título del proyecto. “Fragmentos de activación del complemento unidos a células como biomarcadores de actividad de la enfermedad en pacientes con lupus eritematoso sistémico”

Identificación de los investigadores.

Nombre	Dirección	Telefono	Correo	Sitio de trabajo
Diana Carolina Quintero González	*Sección Reumatología HSVF Medellín	4441333	Carolina.quintero1@udea.edu.co	UdeA/ HSVF Medellín
Diana Marcela Muñoz Urbano	*Sección Reumatología HSVF Medellín	4441333	Marcela.muñoz2@udea.edu.co	UdeA/ HSVF Medellín
Gloria María Vásquez Duque (IP)	*Sección Reumatología HSVF Medellín *Sede de Investigación Universitaria (SIU) laboratorio 410	2196446	glomavas@gmail.com	UdeA/ HSVF Medellín
Luis Alonso Gonzalez	Sección Reumatología HSVF Medellín	4441333	lagnvvn68@gmail.com	UdeA/ HSVF Medellín
Mauricio Rojas	Sede de Investigación Universitaria (SIU) laboratorio Citometria de Flujo 4 piso	2196461	mauricio.rojas@udea.edu.co	UdeA

Sitio donde se llevará a cabo el estudio.

La captación de pacientes se realizará en el Hospital San Vicente Fundación Medellín, las muestras de sangre se procesarán en el laboratorio de la Sede de Investigación Universitaria para los ensayos de detección y cuantificación de los fragmentos del complemento unidos a eritrocitos, reticulocitos, linfocitos B y linfocitos T. Los análisis de los resultados y la socialización de estos se llevarán a cabo en la sección de Reumatología de la UdeA/HSVF Medellín.

Entidad que respalda la investigación.

Universidad de Antioquia

Entidad que patrocina la investigación.

GICIG y ASOREUMA

Información para el donante de la muestra

Los investigadores del proyecto “Fragmentos de activación del complemento unidos a células como biomarcadores de actividad de la enfermedad en pacientes con lupus eritematoso sistémico” le explicaron que el propósito de esta investigación es establecer la asociación entre tipos de unas células de la sangre llamadas eritrocitos, reticulocitos, linfocitos B y linfocitos T unidos a unas partículas que hacen parte del sistema inmune denominado complemento y el puntaje de actividad de la enfermedad medido por una escala llamada SELENA/SLEDAI, adicionalmente se comparan los resultados con los obtenidos en las células de controles sanos.

Esta investigación se llevará a cabo en los laboratorios de la Universidad de Antioquia, en la sección de Reumatología y en el servicio de Reumatología del HSVF Medellín.

En este estudio usted participa porque puede ser clasificado como (llene el campo):

<input type="checkbox"/> Paciente con Lupus Eritematoso Sistémico
<input type="checkbox"/> Control sano

Su participación en este estudio es explicada porque usted cumple con las condiciones de alguno de los grupos de estudio que se han definido y como usted serán incluidos pacientes que ingresen al servicio de reumatología del HSVF Medellín con una condición de diagnóstico de Lupus Eritematoso Sistémico (LES).

Su contribución como participante consistirá en darnos una muestra de sangre y en caso de usted ser un paciente nos permitirá realizar un cuestionario con diferentes preguntas que están en relación con su enfermedad y nos autoriza a acceder a su historia clínica del HSVF Medellín.

Confirme que ha comprendido lo que ha leído, y lo que le han explicado y, así mismo, que su decisión de participar es totalmente libre, lo mismo que su decisión de retirarse del estudio en el momento en que usted lo decida, incluso luego de la toma de la muestra de sangre.

Procedimientos del estudio.

Los investigadores le explicaron que tomarán una muestra de 20 ml de sangre (lo que cabría en una cuchara grande) mediante punción venosa, lo cual únicamente hará una persona habilitada para ello.

Para tomarle la muestra de sangre le limpiarán con algodones que han sido esterilizados y humedecidos en alcohol y utilizarán 2 tubos uno con citrato y otro con EDTA (de tapa amarilla y morada, respectivamente) de 10 mL. Este procedimiento, tiene riesgos mínimos para su salud. Durante el procedimiento, puede aparecer un morado por efecto de salida de sangre, pero esto no representa riesgo alguno.

En caso de que esta extracción de sangre le ocasione algún problema o efecto indeseable como infección, acumulación de sangre abundante sobre la vena y debajo de la piel u otro problema derivado directamente del procedimiento, la investigación se hará cargo de su tratamiento.

Como usted, en el estudio, se espera que participen otras donantes en condiciones similares a las suyas y controles sanos. Las muestras que se tomen para este estudio serán utilizadas en el proyecto “Fragmentos de activación del complemento unidos a células como biomarcadores de actividad de la enfermedad en pacientes con lupus eritematoso sistémico” y podrán utilizarse en otros proyectos con su previo consentimiento.

Su identidad será sólo conocida por los investigadores y la información que se derive de este proyecto no será compartida con personas ajenas al proyecto, las muestras serán debidamente codificadas y los códigos serán manejados exclusivamente por el personal de la investigación.

Su participación en el proyecto terminará una vez este se dé por terminado (2023) o una vez usted así lo decida, si quisiera retirarse antes de terminada la investigación. Usted como colaborador del proyecto no tendrá que incurrir en ningún gasto referente al mismo, ni tampoco recibirá dinero o remuneración de otro tipo por su colaboración.

Alternativas del estudio.

Los investigadores le explicaron que no existen métodos alternativos para estudios de este tipo y que es necesario tomar muestras de sangre para su ingreso a estudio.

Beneficios para el participante.

Con su participación en este proyecto no tendrá ningún beneficio directo. Si este proyecto es exitoso, esto podrá ayudar a mejorar las decisiones de tratamiento del Lupus Eritematoso Sistémico y disminuir complicaciones en este grupo de pacientes. Esto beneficiaría a las personas que padecen esta enfermedad.

Obligaciones del participante

Su participación en el proyecto es únicamente en la toma de muestra de sangre. No habrá ninguna participación adicional. Y, dado que este procedimiento representa un riesgo mínimo para su salud, no requiere de seguimiento alguno, a menos que se presente algún problema de salud relacionado con la extracción de la sangre.

Obligaciones del investigador.

Los investigadores se comprometen a guardar la confidencialidad de todos los datos, además a utilizar las muestras solo en este proyecto y, si se requirieran en proyecto futuros, solicitarán su autorización. Adicionalmente respetarán su derecho a retirarme del proyecto en cualquier momento.

Resultados esperados

Se espera identificar la capacidad de las células de la sangre unidas a moléculas del complemento para determinar actividad del lupus eritematoso sistémico, las cuales en un futuro puedan ser útiles como marcadores de la presencia del compromiso por la enfermedad siendo una herramienta adicional para clasificar de manera más precisa la gravedad y dirigir así las intervenciones de tratamiento. Esto finalmente se traduce en mejorar la calidad de vida de estos pacientes.

Estudios posteriores

El proyecto se plantea ser una base de consulta para otras investigaciones, por lo que podría llegar a ser necesario la utilización de las muestras obtenidas (sangre) como objeto de estudio en proyectos diferentes al presente.

Para ello, yo,, manifiesto que he sido informado/a de la posibilidad de emplear las muestras obtenidas a partir de mi sangre y la información de mi historia clínica, bajo la única condición de que haya una aprobación previa al proyecto, por parte del comité de bioética que en el momento sea responsable.

Entiendo que la participación es voluntaria, y que las muestras pueden ser utilizadas por otros investigadores ajenos a este proyecto.

Para constancia de mi consentimiento sobre la utilización de las muestras obtenidas, en proyectos futuros, firmo (o coloco mi huella digital)

Autorización para muestras futuras Si No

Nombre _____ Documento _____ de

identidad _____

Firma _____ Huella

Personas a contactar para información

Diana Carolina Quintero González	*Sección Reumatología HSVf Medellín	4441333	Carolina.quintero1@udea.edu.co	UdeA/ HSVf Medellín
Diana Marcela Muñoz Urbano	*Sección Reumatología HSVf Medellín	4441333	Marcela.muñoz2@udea.edu.co	UdeA/ HSVf Medellín

Si tiene inquietudes o quejas sobre sus derechos como participante en el estudio, puede comunicarse con el presidente del Comité de Ética de la Investigación del Hospital San Vicente Fundación, Dr. Carlos Alberto Cardeño Castro, Teléfono: 4441333 Extensión: 3388, Correo comite_etica_investigacion@sanvicentefundacion.com

Aceptación de la participación

Yo,, manifiesto que he sido informado/a sobre los propósitos de la presente investigación y del papel que cumplirá mi sangre y la información de mi historia clínica en este proyecto. Manifiesto también, que he sido informado/a que no recibiré ningún beneficio económico o de cualquier otra índole por participar en el estudio y que tampoco me representará ningún costo. Igualmente, se me informó de las posibles molestias con la toma de la sangre y que eso no afectará permanentemente mi salud. **Manifiesto que no he recibido**

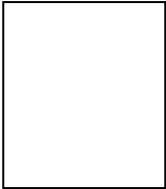
presiones verbales, escritas y/o mímicas para participar en el estudio; que dicha decisión la tomó en pleno uso de mis facultades mentales, sin encontrarme bajo efectos de medicamentos, drogas o bebidas alcohólicas, consciente y libremente.

Finalmente, entiendo que mi participación es voluntaria y se mantendrá en estricta confidencialidad.

Para constancia de mi consentimiento firmo (o coloco mi huella digital) dos copias, una para el investigador y otra para el participante (donante de la muestra).

Participante:

Nombre _____ Documento _____ de
identidad _____
Fecha _____
Teléfono: _____ Firma _____ Huella _____
Dirección: _____



DEL TESTIGO #1:

Nombre del testigo: _____
Cédula de ciudadanía: _____
Dirección permanente: _____
Teléfono: _____
Correo electrónico: _____

DEL TESTIGO #2:

Nombre del testigo: _____
Cédula de ciudadanía: _____
Dirección permanente: _____
Teléfono: _____
Correo electrónico: _____