



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
INSTITUTO DE SEGURIDAD Y SERVICIOS SOCIALES DE LOS
TRABAJADORES DEL ESTADO

**UTILIDAD DE LA INMUNOHISTOQUÍMICA EN EL
DIAGNÓSTICO DE GLOMERULONEFRITIS
COLAPSANTE.**

TESIS

QUE PARA OBTENER LA ESPECIALIDAD MÉDICA EN
ANATOMÍA PATOLÓGICA

PRESENTA

DR. CÉSAR LUNA RIVERO.

ASESORA

DRA. MARIA EDITH SALGADO ALDAY



MÉXICO, DISTRITO FEDERAL. FEBRERO 2012



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AUTORIZACIÓN DE TESIS

NÚMERO DE REGISTRO DE PROTOCOLO DE TESIS: 077.2011

Dra. Aura Erazo Valle Solís.

Subdirectora de Enseñanza e Investigación.

Dra. María Teresa Gorraéz De La Mora.

Jefe de Servicio de Anatomía Patológica.

Dra. María Edith Salgado Alday.

Asesora de Tesis.

Dr. César Luna Rivero.

Autor.

ÍNDICE.

RESUMEN	1
ANTECEDENTES	2
MARCO TEÓRICO	7
JUSTIFICACIÓN	8
HIPÓTESIS	9
OBJETIVOS	10
MATERIAL Y MÉTODO	11
RESULTADOS	14
DISCUSIÓN	21
CONCLUSIONES	21
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	22

RESUMEN.

Objetivo: Identificar la utilidad de la pérdida de marcadores de maduración (Vimentina y Sinaptopodina) y la expresión de marcadores de proliferación (ki 67) y desdiferenciación (CK AE1/AE3) para establecer el diagnóstico de glomerulonefritis colapsante en biopsias renales de pacientes con diagnóstico de glomeruloesclerosis focal y segmentaria.

Métodos: Se estudiaron a 32 casos previamente diagnosticados con Hematoxilina-Eosina y tinciones especiales como glomeruloesclerosis focal y segmentaria, se sometieron a estudio de inmunohistoquímica para determinar por escala semicuantitativa la pérdida de expresión de marcadores de maduración (Vimentina y Sinaptopodina) y expresión de marcadores de proliferación (ki67) y desdiferenciación (CK AE1/AE3). La evaluación se hizo mediante microscopía de luz. La información obtenida se analizó mediante métodos estadísticos y se correlacionó con los datos reportados en la literatura.

Resultados: Las biopsias de pacientes que cumplieron con el perfil de inmunohistoquímica para ser diagnosticadas como glomerulonefritis colapsantes fueron cuatro y representan el 12.5% del total de la muestra y sobrepasa lo reportado por la literatura.

Conclusiones: Es posible separar los casos de glomerulonefritis colapsante de los casos de glomeruloesclerosis focal y segmentaria mediante inmunohistoquímica, también se observaron concordancias con otras variables como son el predominio en el género femenino y el aumento del índice proteína/creatinina en esta patología con lo reportado en la literatura, aunque no hubo significancia estadística. No se correlacionó en este estudio el diagnóstico de glomerulonefritis colapsante con la evolución clínica del paciente.

ANTECEDENTES

A La glomerulonefritis colapsante, en las primeras descripciones que se hicieron en la década de 1970 se denominaba glomerulosclerosis focal y segmentaria maligna, posteriormente, en la década de 1980, se definió como nefropatía asociada con el virus de inmunodeficiencia humana (VIH)¹.

En 1986, Weiss y colaboradores, describieron una lesión renal similar en pacientes VIH negativos que denominaron glomerulonefritis colapsante².

Es una entidad relativamente reciente y poco conocida considerada como una variante de la glomerulosclerosis focal y segmentaria, en ambas las lesiones podocitarias son diferentes: en la patogenia de la glomerulosclerosis focal y segmentaria típica se produce podocitopenia, mientras que la glomerulonefritis colapsante se caracteriza por proliferación podocitaria³.

En 1994, Detwiler la reconoció como una entidad caracterizada por insuficiencia renal de progresión rápida, con mayor prevalencia en afroamericanos; la lesión histológica se presenta como colapso global o segmentario de los capilares glomerulares e hiperplasia e hipertrofia de las células epiteliales viscerales; tiene mal pronóstico y se ha descrito en pacientes con nefropatía asociada a infección por el virus de la inmunodeficiencia humana, parvovirus B19 y toxicidad por pamidronato¹⁷.

Los podocitos son células epiteliales de la capa visceral glomerular, poseen un citoesqueleto prominente, retículo endoplásmico rugoso y aparato de Golgi bien desarrollados y lisosomas frecuentes. Esta célula emite unas prolongaciones primarias de las que emergen otras finas secundarias terminando en unos ensanchamientos o pedicelos que se entremezclan los de un podocito con otros y forman un recubrimiento sobre los capilares. Los podocitos tienen una morfología peculiar, con microscopía de luz se observan células medianas, ovales, con escaso citoplasma eosinófilo y núcleos redondos con cromatina granular fina, localizados sobre los capilares glomerulares, en la región visceral del penacho glomerular, en microscopía electrónica se observan células con procesos podocitarios que hacen contacto con la parte externa de la membrana basal, estos procesos o pedicelos están unidos entre sí por el diafragma de filtración. En los procesos podocitarios penden pedicelos ricos en actina que están en contacto con la membrana basal glomerular. El filtrado glomerular transcurre a través de hendiduras entre pedicelos, en las que se halla el diafragma de filtración.

Los podocitos son células muy diferenciadas y esto tiene consecuencias inmediatas en la patogenia de la proteinuria, ya que éstas células no se dividen. Existe un número de podocitos

inicial, se calcula que La relación numérica entre los tres tipos de células glomerulares es: mesangial / endotelial / podocitos: 2/3/1, los podocitos se pierden de forma progresiva e irreversible en el transcurso de la lesión glomerular. No obstante, en algunas patologías, como en las glomerulopatías colapsantes⁶, el fenotipo del podocito se altera y son capaces de dividirse. Por otro lado, los podocitos expresan una serie de proteínas que contribuyen a su alto grado de diferenciación y que son, en algunos casos, específicas de podocitos. Desde un punto de vista académico reconocemos tres grandes grupos de proteínas que contribuyen a la función del podocito:

- a) proteínas que mantienen la arquitectura del podocito,
- b) proteínas de anclaje a la membrana basal, y
- c) proteínas de la barrera de filtración⁴.

De hecho se ha constatado que el defecto de algunas de estas proteínas es causa de proteinuria en el ser humano y/o en animales de experimentación²².

Existe un número inicial de podocitos bien diferenciado que se pierden progresivamente durante la progresión del daño glomerular. Sólo los podocitos que pierden proteínas de diferenciación son capaces de dividirse. La diferenciación celular coincide con la expresión de los marcadores de madurez como Vimentina y Sinaptopodina —presente en las sinapsis neuronales— y Common Acute Lymphoblastic Leukemia Antigen (CALLA) a nivel citoplasmático y proteínas de membrana como receptor C3b y glomerular epithelial protein-1 (GLEPP-1) localizadas en la hendidura de filtración²².

Los podocitos tienen un papel fundamental en el mantenimiento de la estructura y función de la barrera de filtración glomerular⁴. La lesión del podocito podría causar disfunción por daño subletal (reversible) o letal (muerte de la célula). Existen datos en la literatura que sugieren que ambos mecanismos pueden coexistir⁵.

Los mecanismos y las consecuencias de la lesión del podocito son todavía mal conocidos. Se han descrito dos tipos de lesión del podocito, con consecuencias clínicas: la lesión subletal de las nefropatías potencialmente reversibles y la lesión letal que daría lugar a una nefropatía progresiva expresada en alguna de las variantes de podocitopatías (cuadro 1).

Clasificación de las podocitopatías.
Nefropatía de cambios mínimos.
Glomeruloesclerosis focal y segmentaria.
Esclerosis mesangial difusa.
Glomerulonefritis colapsante.
Cuadro 1. Clin J Am Soc Nephrol 2: 529-542, 2007

La proteinuria glomerular se suele caracterizar por desaparición de los pedicelos del podocito. En muchos casos de síndrome nefrótico infantil y en la mayoría de las nefropatías protenúricas del adulto, la pérdida de pedicelos es considerada una manifestación temprana de un espectro continuo de lesión del podocito que incluye vacuolización, formación de pseudoquistes, desprendimiento del podocito de la membrana basal, y, finalmente, pérdida del podocito⁵.

La glomerulonefritis colapsante, ha sido reconocida en la edad pediátrica solo en muy pocos casos¹⁴.

Lesión subletal.

Los ejemplos clásicos de lesión subletal del podocito son la nefropatía de cambios mínimos y la nefropatía membranosa. La causa de la lesión del podocito en la nefropatía de cambios mínimos es desconocida. Sin embargo, entre sus consecuencias se encuentra la pérdida de algunos marcadores de diferenciación del podocito, como la redistribución de GLEPP1 y nefrina y la disminución de distroglicano⁶.

Pérdida de podocitos.

La glomerulosclerosis focal y segmentaria es una forma de destrucción glomerular que caracteriza a las nefropatías progresivas, independientemente de su etiología. Uno de los aspectos patogénicos más importantes de la glomerulosclerosis focal y segmentaria es el daño y pérdida de podocitos, con la consecuente insuficiencia podocitaria y colapso del capilar glomerular.⁶

Así, se ha comunicado que en la glomerulosclerosis focal y segmentaria existe una, pérdida a través de la orina de podocitos que permite distinguirla del síndrome nefrótico de cambios mínimos. Es importante reseñar que en las glomerulopatías colapsantes los podocitos pierden marcadores de diferenciación, dejan de comportarse como tales y aumenta su tasa de proliferación y apoptosis⁷.

La causa de la pérdida de los podocitos en las nefropatías glomerulares no está clara. Una posibilidad es que el podocito lesionado pierda la capacidad de permanecer adherido y sea arrastrado por el flujo urinario⁸. Más recientemente se ha apuntado la posibilidad de que la lesión del podocito sea letal¹¹. La apoptosis es la forma más frecuente de pérdida de células en fisiopatología, es una forma de muerte celular activa, que precisa energía y que requiere la activación de vías moleculares intracelulares letales y la inactivación de proteínas protectoras. Las moléculas letales y de supervivencia son específicas de célula y estímulo, y su identificación ofrece la posibilidad de una intervención terapéutica¹². Las células apoptóticas pierden el contacto con células adyacentes y con la matriz extracelular, y la morfología apoptótica se mantiene durante un período de tiempo muy corto (1-2 horas). Este último hecho hace que la apoptosis sea difícil de detectar *in vivo*. En el caso del podocito, éste se ve expuesto a una presión de 40 mmHg por parte del filtrado glomerular, que la empuja hacia el espacio urinario, el estudio de la apoptosis *in vivo* se

complica aún más, puesto que el podocito apoptótico va a ser arrastrado por el flujo urinario. A pesar de estas dificultades, estudios recientes destinados específicamente a ello han identificado la apoptosis de podocitos como un hecho característico en modelos animales de síndrome nefrótico, así como en glomerulopatías colapsantes humanas⁶.

Morfológicamente, la glomerulonefritis colapsante se caracteriza por colapso global o segmentario de las asas capilares, hiperplasia y proliferación podocitaria (seudosemilunas). Se añade una importante lesión túbulo intersticial con microquistes, lesión aguda y atrofia tubular, así como un variable infiltrado inflamatorio intersticial. El estudio de inmunofluorescencia con IgA, IgE, IgG e IgM es negativo o inespecífico. En el microscopio electrónico es habitual encontrar fusión e hiperplasia podocitaria. Según la etiología, pueden observarse inclusiones túbulo-reticulares (virus, lupus eritematoso sistémico) o alteraciones en las mitocondrias (nefropatía CoQ2)⁹.

Las lesiones pueden iniciarse como una consolidación segmentaria a consecuencia de la insudación de proteínas plasmáticas que causa hialinosis, acumulación de células espumosas, tumefacción de las células epiteliales y colapso de los capilares, que ocasionan obliteración de las luces capilares¹⁸.

Estas alteraciones se acompañan de aumento de la matriz de colágena que deriva en el componente esclerótico de la lesión¹⁵.

En las recientes clasificaciones de podocitopatías la glomerulonefritis colapsante se describe como enfermedad glomerular primaria, independiente de la glomeruloesclerosis focal y segmentaria²⁰. En la glomerulonefritis colapsante, la afectación podocitaria implica la desdiferenciación fenotípica, reflejada en la pérdida de expresión de marcadores de podocito maduro y una re-expresión de marcadores de proliferación, habituales en el podocito inmaduro. Así, mientras que en la glomerulonefritis colapsante se ocurre una desdiferenciación y proliferación del podocito, en la glomeruloesclerosis focal y segmentaria la podocitopenia es la lesión característica¹⁰.

La glomerulonefritis colapsante es una forma agresiva de enfermedad renal caracterizada por proteinuria nefrótica, insuficiencia renal grave y mala evolución, con escasa respuesta al tratamiento que conduce rápidamente a una insuficiencia renal terminal¹. Este tipo de lesión no tiene predilección por ningún segmento glomerular en contraste con la lesión de la punta y la parahiliar, se caracteriza por el colapso focal o global de los capilares con obliteración de las luces y las células epiteliales viscerales se destacan sobre los capilares colapsados acompañado en ocasiones de proliferación de estas células¹⁴.

Los datos recientes que indican la posibilidad de regeneración del miocardio lesionado a partir de células pluripotenciales derivadas de la médula ósea y la formación de nuevas neuronas en el adulto, hacen pensar que la pérdida de podocitos puede ser reversible si llegamos a comprender

los mecanismos moleculares que regulan la diferenciación, desdiferenciación, proliferación y supervivencia del podocito¹⁹.

Mamdouh Albaqumi y colaboradores, en el año 2008 describieron el perfil inmunohistoquímico de la glomerulonefritis colapsante; los marcadores expresados por los podocitos son: ciclina D1, ciclina E, ciclina A, Ki67, Desmina, CK AE1/AE3 y CD68. Los marcadores no expresados por los podocitos son CALLA, GLEP1, Podocalixina, Sinaptopodina, WT-1, p27 y p59.

Redondo Pachón y coalaboradores en el año 2010, proponen el uso de CK AE1/AE3, Vimentina, Sinaptopodina y Ki67 para confirmar el diagnóstico de glomerulonefritis colapsantes.

MARCO TEÓRICO

¿Cuál es la utilidad de los marcadores inmunohistoquímicos “Vimentina, Citokeratinas, Ki67 y Sinaptopodina” para precisar el diagnóstico diferencial entre glomerulonefritis colapsante y glomeruloesclerosis focal y segmentaria comparado con Hematoxilina Eosina y tinciones especiales (PAS, Masson y Plata Metenamina)?

JUSTIFICACIÓN

El hallazgo más característico de la glomerulonefritis colapsante es la desregulación del fenotipo podocitario, cuando se pierden marcadores del glomérulo maduro, como Vimentina, WT1, CALLA (CD10) y Sinaptopodina y en cambio se expresan marcadores de proliferación (Ki67) y desdiferenciación como diferentes citoqueratinas (CK, Cam 5.2), presentes en el glomérulo fetal y ausentes en el adulto normal. Por tanto, creemos que, además de la clínica y la histología, estos marcadores de desregulación del fenotipo podocitario son una herramienta muy útil y valiosa para el diagnóstico de la glomerulonefritis colapsante que es una forma agresiva de enfermedad renal y con ello adoptar ésta técnica histológica como estándar de oro para diagnóstico.

Tradicionalmente la glomerulonefritis focal y segmentaria se diagnostica con tinciones de hematoxilina-eosina, PAS, Masson y plata Metenamina, sin embargo, existe información en la literatura médica que indica que un porcentaje importante de pacientes catalogados con este diagnóstico evolucionan tórpidamente con hallazgos postmortem de glomerulonefritis colapsante. Recientemente se ha propuesto el uso de marcadores inmunohistoquímicos para precisar el diagnóstico y reducir la proporción de pacientes con diagnóstico equivocado².

Proponemos este estudio para identificar la utilidad de estos marcadores bioquímicos y favorecer así el diagnóstico oportuno de los pacientes con este tipo de enfermedad renal, para mejorar el manejo médico y posiblemente la sobrevida.

HIPÓTESIS.

La pérdida de marcadores de maduración (Vimentina y Sinaptopodina) y la expresión de marcadores de proliferación (ki 67) y desdiferenciación (CK AE1/AE3) tienen mayor eficacia que el estándar de oro (Hematoxilina-eosina, PAS, Masson y plata Metenamina) para establecer el diagnóstico de glomerulonefritis colapsante en las biopsias renales.

OBJETIVOS.

General:

Identificar la utilidad de la pérdida de marcadores de maduración (Vimentina y Sinaptopodina) y la expresión de marcadores de proliferación (ki 67) y desdiferenciación (CK AE1/AE3) para establecer el diagnóstico de glomerulonefritis colapsante en biopsias renales.

Específicos:

Definir la frecuencia de positividad y negatividad en la inmunorreacción de cada uno de los marcadores empleados (Vimentina, Sinaptopodina, Ki67 y cocktail de citoqueratinas) y de HE.

Establecer la correlación entre los resultados de las pruebas de inmunohistoquímica, con el pronóstico de los pacientes.

Conocer las proporciones de falsos positivos de glomerulonefritis focal y segmentaria.

Conocer la frecuencia de pacientes con glomerulonefritis colapsante sometidos a biopsia renal.

MATERIAL Y MÉTODO.

Se trata de un estudio transversal, observacional, descriptivo.

La muestra consistió en 32 casos de biopsias renales con diagnóstico de glomerulonefritis focal y segmentaria. Se revisaron los expedientes clínicos de todos los pacientes con biopsias renales correspondientes a los años 2004 a 2009, se seleccionaron todos aquellos pacientes con diagnóstico de glomeruloesclerosis focal y segmentaria y expediente completo.

Los casos incluidos se seleccionaron de acuerdo a los siguientes criterios:

Aquellos que contaran con el diagnóstico por biopsia de glomeruloesclerosis focal y segmentaria.

Se excluyeron las biopsias que:

Presentaron lesiones renales asociadas a diabetes e hipertensión arterial.

Cursaran con otra glomerulopatía concomitante.

Presentaran diagnósticos morfológicamente dudosos.

Se eliminaron las biopsias que:

Presentaran muestras mal conservadas, o bloques de parafina con tejido insuficiente para nuevos cortes histológicos.

La muestra final fue de 32 casos.

Las variables dependientes fueron la expresión de Vimentina, Sinaptopodina, los cuáles se consideraron positivos si fueron expresados en más del 10% de los podocitos en tres diferentes glomérulos, Ki67 se consideró positivo si fue expresado en más del 30% de los podocitos en tres diferentes glomérulos, Citokeratinas cocktail se consideró positivo si se expresó en el citoplasma de más del 10% de los podocitos estudiados en tres glomérulos diferentes. El colapso de las luces capilares fue evaluado con hematoxilina eosina usando el siguiente parámetro: leve cuando la reducción del calibre es de un 20 a un 40% del total del diámetro luminal, moderada cuando la reducción en el calibre es de un 41 a un 60% y severa cuando la disminución en el calibre es superior a un 60%. Se considera una variación normal en el calibre menor a un 20%. La expansión del mesangio puede presentar dos patrones, la hiper celularidad mesangial y la expansión mesangial sin hiper celularidad; la hiper celularidad mesangial se calificó como leve, moderada y severa en base al número de núcleos de células mesangiales observados por región mesangial asociado con la distorsión y lobulación del penacho glomerular; la expansión mesangial sin hiper celularidad se evaluó con la tinción de PAS usando los siguientes parámetros: Leve, menos

de un 30% de afectación del glomerular, moderada más de 30% y menos de 60%, severa más del 60% de afectación glomerular.

La esclerosis glomerular fue evaluada mediante la tinción de Masson, usando los siguientes parámetros: Leve, menor de un 30% de afectación del glomérulo, moderada más de 30% y menos de 60%, severa más de un 60% de afectación glomerular.

Las variables independientes fueron glomeruloesclerisis focal y segmentaria que se calificó como presente o ausente y glomerulonefritis colapsante que se calificó del mismo modo.

Método estadístico: Se utilizó el programa estadístico spss 16.0 para Windows. Para el análisis descriptivo se utilizaron medidas de tendencia central y de dispersión. Para el análisis comparativo se emplearon pruebas paramétricas y no paramétricas de acuerdo a la distribución de los datos y tipos de variables. Para determinar la correlación entre variables utilizó correlación de Pearson o Spearman para cada tipo de variable. Para determinar la eficacia de los procedimientos se calculó la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo y negativo de cada procedimiento diagnóstico. Se consideró significancia estadística con $p < 0.05$.

Las laminillas previamente teñidas con Hematoxilina y Eosina (HE) se sometieron a inmunohistoquímica. La evaluación con HE se realizó en microscopio óptico modelo Leica DM1000 de 5 objetivos.

Técnica de Inmunohistoquímica para vimentina.

1. Recuperación antigénica con buffer de citratos ph 7 por 10 minutos a 121 °C en olla de presión.
2. Enfriamiento de la laminilla por 20 minutos a temperatura ambiente.
3. Bloqueo de inmunoperoxidasa endógena por 5 minutos.
4. Incubación del anticuerpo vimentina (DAKO monoclonal mouse, anti-human, Clonel V9) por 30 minutos a temperatura ambiente.
5. Incubación del sistema de detección LSAB por 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Incubación DAB a temperatura ambiente.
7. Contrastar con hematoxilina de Harris.
8. Cubrir la muestra.

Técnica de Inmunohistoquímica para sinaptopodina.

1. Recuperación antigénica con buffer de citratos ph 7 por 10 minutos a 121 °C en olla de presión.
2. Enfriamiento de la laminilla por 20 minutos a temperatura ambiente.
3. Bloqueo de inmunoperoxidasa endógena por 5 minutos.

4. Incubación del anticuerpo vimentina (DAKO monoclonal antibody, 1:100) por 30 minutos a temperatura ambiente.
5. Incubación del sistema de detección LSAB por 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Incubación DAB a temperatura ambiente.
7. Contrastar con hematoxilina de Harris.
8. Cubrir la muestra.

Técnica de Inmunohistoquímica para ki67.

1. Recuperación antigénica con buffer de citratos ph 7 por 10 minutos a 121 °C en olla de presión.
2. Enfriamiento de la laminilla por 20 minutos a temperatura ambiente.
3. Bloqueo de inmunoperoxidasa endógena por 5 minutos.
4. Incubación del anticuerpo vimentina (DAKO ki67 clone MIB-1 Ready to use.) por 30 minutos a temperatura ambiente.
5. Incubación del sistema de detección LSAB por 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Incubación DAB a temperatura ambiente.
7. Contrastar con hematoxilina de Harris.
8. Cubrir la muestra.

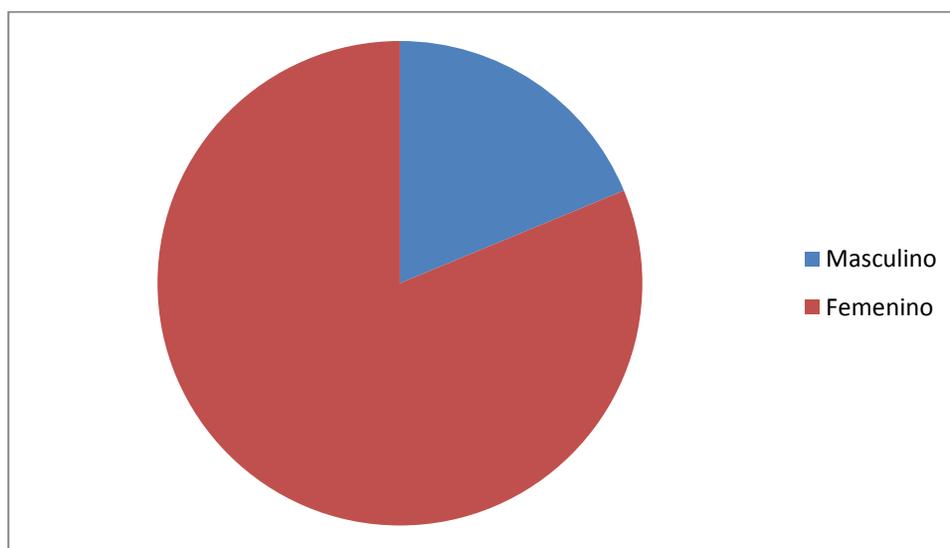
Técnica de Inmunohistoquímica para ck cocktail.

1. Recuperación antigénica con buffer de citratos ph 7 por 10 minutos a 121 °C en olla de presión.
2. Enfriamiento de la laminilla por 20 minutos a temperatura ambiente.
3. Bloqueo de inmunoperoxidasa endógena por 5 minutos.
4. Incubación del anticuerpo vimentina (DAKO. Cytokeratin clone AE1/<AE3, Ready to use) por 30 minutos a temperatura ambiente.
5. Incubación del sistema de detección LSAB por 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Incubación DAB a temperatura ambiente.
7. Contrastar con hematoxilina de Harris.
8. Cubrir la muestra.

RESULTADOS.

Se recabaron treinta y nueve registros de biopsias de pacientes con diagnóstico histopatológico de glomeruloesclerosis focal y segmentaria se eliminaron siete de los registros, seis de ellos por no contar con información clínica y uno por no contar con tejido incluido en parafina, por lo que se obtuvieron finalmente un total de treinta y dos registros.

Seis casos correspondieron al género masculino y veintiséis al femenino (Gráfica 1), con una media de edad de 36 años, la media de edad en pacientes masculinos es de 41 años (tabla 1), la media de edad en pacientes femeninos es de 35 años.

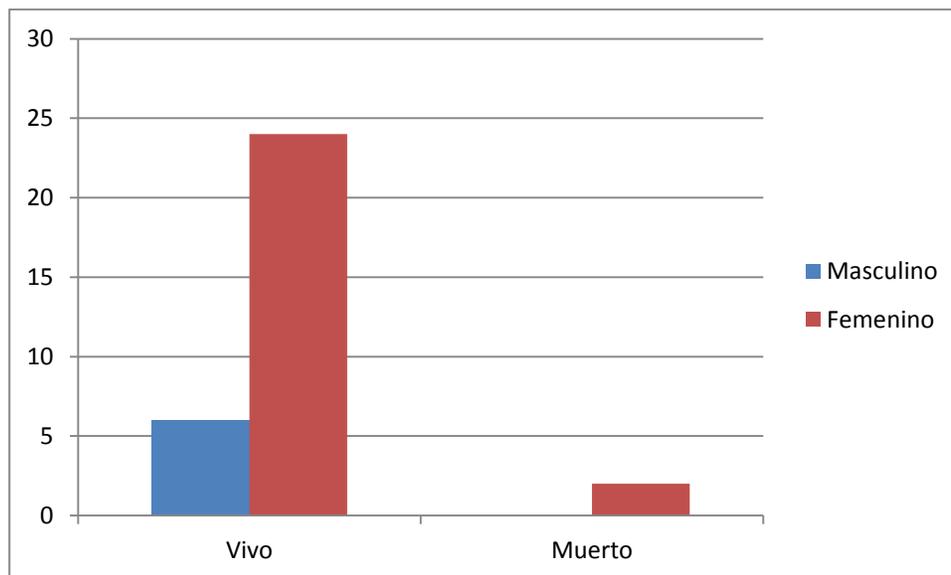


Gráfica 1. Distribución de los pacientes incluidos en el estudio (por género).

Género	No. De casos	Promedio de edad (años)
Masculino	6	41
Femenino	26	35

Tabla 1. Distribución de los pacientes por edad y género.

Treinta de los pacientes se encontraban vivos al finalizar la búsqueda de datos del presente estudio (enero 2012), dos fallecieron, uno por desequilibrio hidroelectrolítico y uno por síndrome úremico (Gráfica 2); de los treinta pacientes vivos, cuatro requirieron terapia de remplazo renal, uno en su modalidad de diálisis peritoneal y tres en su modalidad de hemodiálisis (Tabla 2).



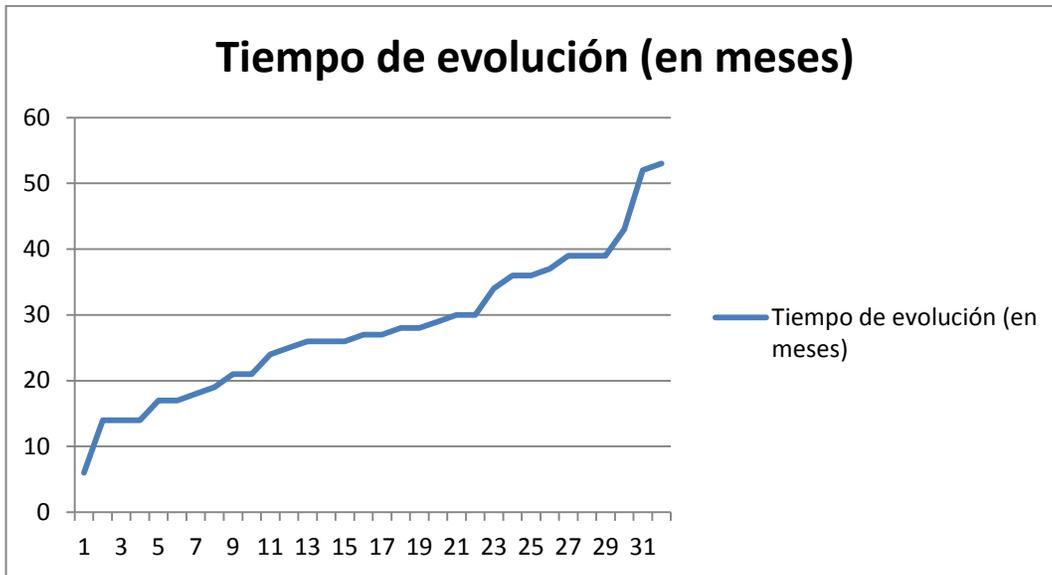
Gráfica 2. Condición clínica de los pacientes en el periodo estudiado y distribución por género.

	Remplazo renal.		
	Hemodiálisis	Diálisis peritoneal	Trasplante
Masculino	0	2	0
Femenino	2	0	0

Tabla 2. Número de casos de pacientes sometidos a terapia de remplazo renal, su modalidad y distribución por género.

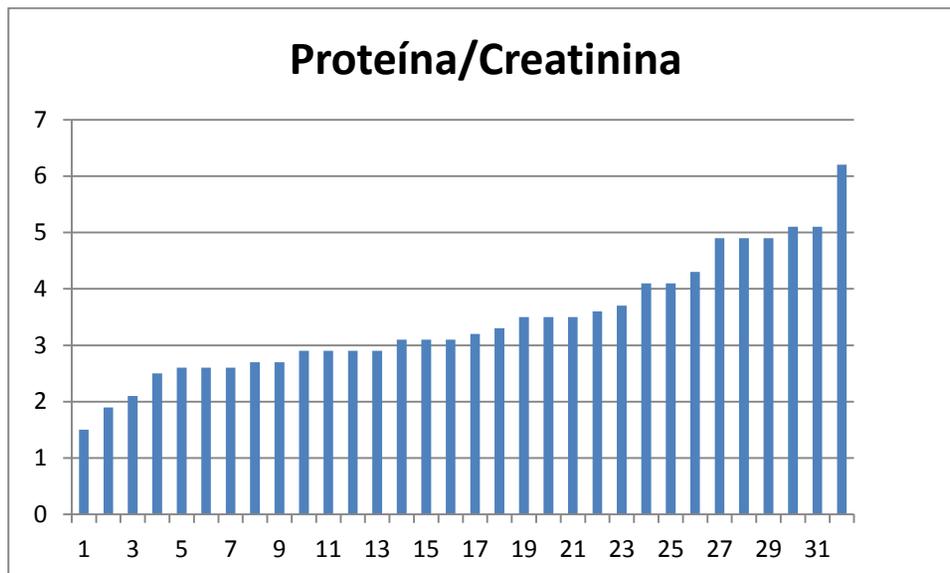
Con respecto al tiempo de evolución desde el momento del diagnóstico hasta el inicio de este estudio (diciembre 2010) se obtuvieron datos muy variables ya que el periodo analizado es de cinco años (60 meses) y cada caso inició su evolución desde distintos puntos dentro de este

periodo, el caso con mayor tiempo de evolución registrado es de 53 meses y el de menor tiempo es de seis meses (Gráfica 3)



Gráfica 3. Tiempo de evolución (en meses) desde el momento del diagnóstico morfológico de glomeruloesclerosis focal y segmentaria.

El índice Proteína/Creatinina obtenido en la revisión del expediente clínico es variable, en un rango desde 1.5 hasta 6.2, con una media de 3.4 (Gráfica 4).



Gráfica 4. Distribución del índice proteína creatinina en el total de los casos estudiados.

Los resultados de inmunomarcación con los anticuerpos empleados, se resumen en la tabla 3.

	Vimentina	Sinaptopodina	Ki67	CKAE1/AE3
Positivo,	28 (en citoplasma)	21 (3n membrana y citoplasma)	12 (nuclear)	11 (en membrana y citoplasma)
Negativo	4	11	20	21

Tabla 3. Distribución de los casos positivos y negativos (por marcador inmunohistoquímica).

La expresión de Vimentina en relación al género de los pacientes la siguiente (Tabla 4):

Vimentina	Masculino	Femenino
Positivo (en citoplasma)	6	22
Negativo	0	4

Tabla 4. Distribución de los casos positivos y negativos de Vimentina (por género).

La expresión de Sinaptopodina en relación al género del paciente es la siguiente (Tabla 5):

Sinaptopodina	Masculino	Femenino
Positivo (en membrana y citoplasma)	6	15
Negativo	0	11

Tabla 5. Distribución de los casos positivos y negativos de Sinaptopodina (por género).

La expresión de Ki67 en relación al género del paciente es la siguiente (Tabla 6):

Ki67	Masculino	Femenino
Positivo (nuclear)	0	12
Negativo	6	14

Tabla 6. Distribución de los casos positivos y negativos de Ki67 (por género).

La expresión de CK AE1/AE3 en relación al género del paciente es la siguiente (Tabla 7):

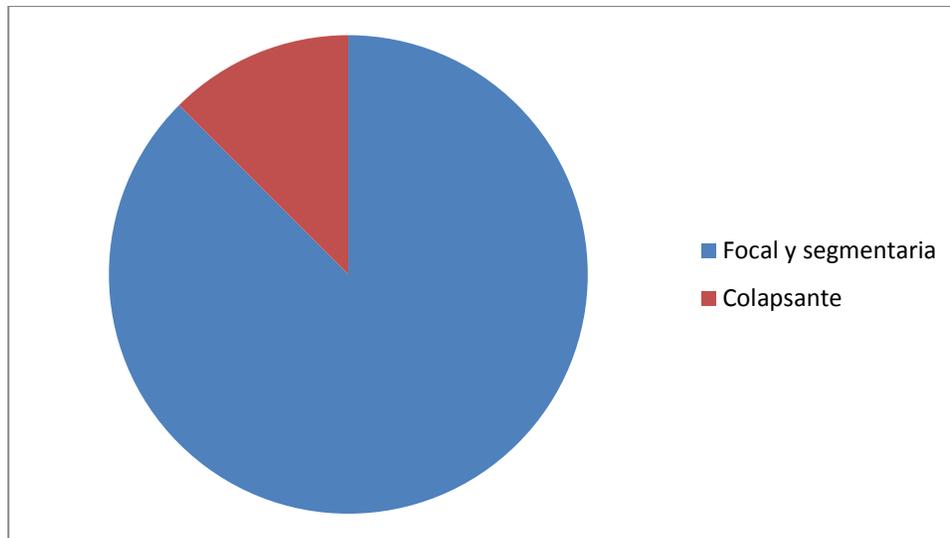
CK AE1/AE3	Masculino	Femenino
Positivo (en membrana y citoplasma)	0	11
Negativo	6	15

Tabla 7. Distribución de los casos positivos y negativos de CK AE1/AE3 (por género).

Las biopsias de pacientes que cumplieron con el perfil inmunohistoquímica para ser diagnosticados como glomerulonefritis colapsantes fueron cuatro (Gráfica 5), los resultados de la inmunomarcación se resumen en la tabla 8 así como su correlación con el índice proteína/creatinina y el tiempo de evolución desde el momento del diagnóstico, estos casos corresponden a pacientes femeninos, en un rango de edad de doce a cincuenta y tres años con una media de 26, los cuatro casos se reportaron vivos durante el estudio, uno se encuentra en hemodiálisis desde hace 30 meses y tres se encuentran en tratamiento farmacológico (Tabla 9).

Género	Edad	Vimentina	Sinaptopodina	Ki67	CKAE1/AE3	Proteína/ Creatinina	T.Evolución (en meses)
F	12	negativo	negativo	positivo	positivo	6.2	28
F	53	negativo	negativo	positivo	positivo	2.9	21
F	18	negativo	negativo	positivo	positivo	5.1	30
F	21	negativo	negativo	positivo	positivo	4.9	39

Tabla 8. Resultados de inmunohistoquímica de los casos confirmados como glomerulonefritis focal y segmentaria y la correlación con el índice proteína/creatinina y el tiempo de evolución desde el momento del diagnóstico

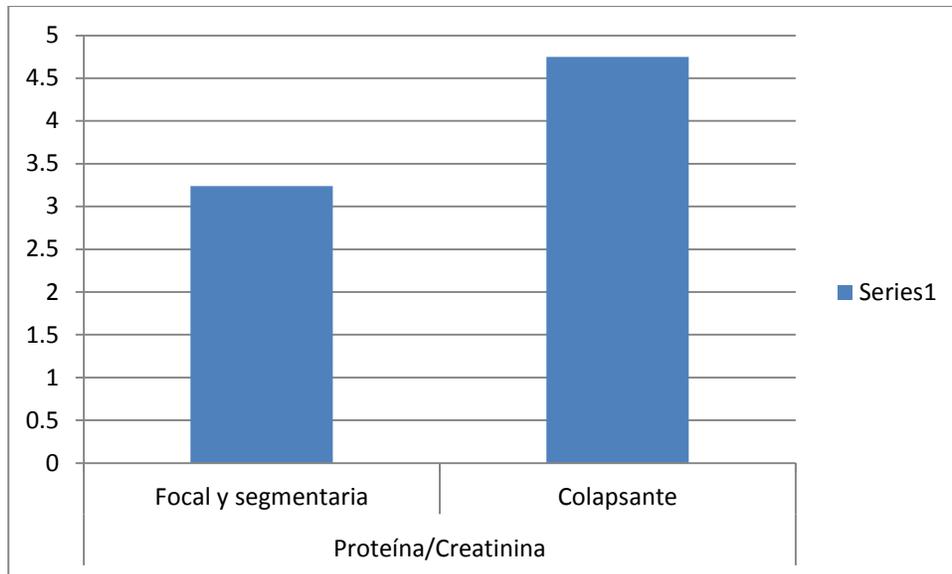


Gráfica 5. Proporción de pacientes diagnosticados como glomerulonefritis colapsante respecto al resto de los casos (focal y segmentaria)

Género	Edad	Condición	Tratamiento
Femenino	12	Vivo	Farmacológico
Femenino	18	Vivo	Hemodiálisis
Femenino	21	Vivo	Farmacológico
Femenino	53	Vivo	Farmacológico

Tabla 9. Distribución por edad de los casos diagnosticados como glomerulonefritis colapsante y su condición clínica y terapéutica.

El promedio del índice Proteína/creatinina en los pacientes no diagnosticados como glomerulonefritis colapsante y que por lo tanto corresponden a glomeruloesclerosis focal y segmentaria es de 3.24, mientras que el índice promedio en los casos diagnosticados como glomerulonefritis colapsante es de 4.77 (Gráfica 6).



Gráfica 6. Comparación entre el índice proteína creatinina de los casos diagnosticados como glomeruloesclerosis focal y segmentaria y glomerulonefritis colapsante

CONCLUSIONES.

En conclusión el estudio demostró, que si es posible separar los casos de glomerulonefritis colapsante mediante inmunohistoquímica, demostrando la expresión de marcadores de proliferación (ki67 y CK AE1/AE3) y la no expresión de marcadores de maduración (Vimentina y Sinaptopodina), no se logró comprobar la utilidad de los estudios de inmunohistoquímica propuestos debido a que el tamaño de la muestra fue menor al estimado, por lo que se rechaza la hipótesis de trabajo ($X^2= 3.51$, con intervalo de confianza del 95% entre 7.03-7.77), se observó concordancia entre otras variables como el predominio en el género femenino y el aumento del índice proteína/creatinina en esta patología con lo reportado en la literatura, aunque no hubo significancia estadística. No se correlacionó en este estudio el diagnóstico de glomerulonefritis colapsante con un peor pronóstico, como reporta la literatura, ya que en las series reportadas el tamaño de la muestra fue superior y en estas si fue posible correlacionar el diagnóstico con la evolución clínica.

Es importante aplicar los marcadores inmunohistoquímicos empleados en este estudio a todos aquellos casos que sean diagnosticados como glomeruloesclerosis focal y segmentaria, que cursen con una evolución clínica distinta a la esperada, que tengan índice proteína/creatinina elevado (>4) o aquellos que sean refractarios al tratamiento, con la finalidad de separar los casos de glomerulonefritis colapsante que aunque son un pequeño porcentaje representan una forma agresiva de enfermedad renal.

BIBLIOGRAFÍA.

1. M.D. Redondo Pachón, R. Ortega Salas, C. Moyano Peregrín. Marcadores de desdiferenciación podocitaria en un paciente con glomerulonefritis colapsante. *Nefrología* 2010;30(3):360-6
2. Mamdouh Albaqumi. Laura Barisoni. Current views on collapsing glomerulopathy. *J Am SocNephrol*19: 1276–1281, 2008.
3. Albuqumi M, Soos TJ, Barisoni L, Nelson PJ. Collapsing glomerulopathy. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:2854-63.
4. Mirjana Sabljarić Matovinović podocyte injury in glomerular diseases. *eJIFCC* 20/01 2009
5. Shankland SJ. The podocyte response to injury: role of proteinuria and glomerulosclerosis. *Kidney Int* 2006;69:2131-45.
6. A. Ortiz, B. Marrón y A. Ramos El destino de los podocitos en las nefropatías proteinúricas. *Rev de Nefrología*. Vol. XXII. Número 5. 2002, Madrid, España.
7. Laura Barisoni, H. William Schnaper, and Jeffrey B. Kopp. A proposed taxonomy for the podocytopathies: a reassessment of the primary nephrotic diseases. *Clin J Am SocNephrol*2: 529-542, 2007.
8. Ortiz A, Lorz C, Justo P, Catalán MP, Egido J. Contribution of apoptotic cell death to renal injury. *J Cell Molec Med*. 5: 18 – 32, 2001
9. Barisoni L, Kopp JB. Modulation of podocyte phenotype in collapsing glomerulopathies. *Microsc Res Tech* 2002; 57:254-62.
10. Wiggins RC. The spectrum of podocytopathies: a unifying view of glomerular diseases. *KidneyInt* 2007; 71:1205-14.
11. Torra R, Badenas C, Martínez J, Carreras L, Poveda R, Darnel A. La glomeruloesclerosis segmentaria y focal: un término anatomopatológico para diversas enfermedades. *Estudio molecular*. *Nefrología* 2001, 21.
12. Tryggvason K, Pettersson E. Causes and consequences of proteinuria: the kidney filtration barrier and progressive renal failure. *J Intern Med* 2003, 254(3): 216 -24
13. Ferrario F, Rastaldi MP. Histopathological atlas of renal diseases: Minimal change disease and focal glomerulosclerosis. *J Nephrol* 2005, 18(1): 1-4
14. Avila Casado. Glomerulopatía colapsante una nueva entidad asociada a síndrome nefrótico e insuficiencia renal terminal. *Rev Invest Clin*; 51:136-137.
15. Thomas DB, Franceschini N, Hogan SL, ten Holder S, Jennette CE, Falk RJ, et al. Clinical and pathologic characteristics of focal segmental glomerulosclerosis pathologic variants. *Kidney Int* 2006; 69(5):920-926.
16. Meyrier A. Mechanisms of disease: focal segmental glomerulosclerosis. *Nature Clin Pract Nephrol* 2005; 1(1):44-54.

17. Ostalska D, Zachwieja J, Siwinska A, Nowicki M, Witt M, Zaniew M: Reorganisation of podocyte cytoskeleton in proteinuric and steroid-resistant glomerular diseases in children: an immunohistochemistry approach. XXXXI Congress of the EDTA, Lisbon. p. 239, 2004.
18. Blanco S, Bonet J, López D, Casas I, Romero R: ACE inhibitor improves nephrin expression in Zucker rats with glomerulosclerosis. *Kidney Int (Supl. 93)*: S10-S14, 2005.
19. Van Den Berg JG, Weening JJ: Role of the immune system in the pathogenesis of idiopathic nephrotic syndrome. *Clinical Science* 107: 125-36, 2004.
20. Velázquez JL, Romero SL, Ramón GG, y col. Glomerulopatía colapsante asociado a virus BK en un niño con síndrome nefrótico idiopático. Informe de un caso. *Rev Med IMSS* 2009; 47:95-100.
21. D'Agati VD, Fogo AB, Bruijn JA, Jennette JC. Pathologic classification of focal segmental glomerulosclerosis: a working proposal. *Am J Kidney Dis* 2004; 43 (2):368-2. Troyanov S, Wall CA, Miller JA, Scholey JW, Cattran DC. Focal and segmental glomerulosclerosis: definition and relevance of a partial remission. *J Am Soc Nephrol* 2005, 16(16): 1061 -8.