



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE MEDICINA

**“UTILIDAD DE CD163 SOLUBLE URINARIO COMO
MARCADOR DE ACTIVIDAD RENAL EN
VASCULITIS ASOCIADA A ANCA”**

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

NEFROLOGÍA

P R E S E N T A:

DANIEL ALBERTO AMADOR ROBLES

Facultad de Medicina



**PROFESOR TITULAR DEL CURSO:
DR. RICARDO CORREA ROTTER**

**DIRECTORES DE TESIS:
DR. JOSÉ ANTONIO NIÑO CRUZ
DR. JUAN MANUEL MEJÍA VILET
CIUDAD DE MÉXICO, 2018**



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:

**“UTILIDAD DE CD163 SOLUBLE URINARIO COMO MARCADOR DE
ACTIVIDAD RENAL EN VASCULITIS ASOCIADA A ANCA”**

**DR. SERGIO PONCE DE LEÓN ROSALES
DIRECTOR DE ENSEÑANZA DEL INCMNSZ**

**DR. RICARDO CORREA ROTTER
PROFESOR TITULAR DEL CURSO DE NEFROLOGÍA DEL INCMNSZ**

**DR. JOSÉ ANTONIO NIÑO CRUZ
PROFESOR ADJUNTO DE NEFROLOGÍA DEL INCMNSZ
TUTOR DE TESIS**

**DR. JUAN MANUEL MEJÍA VILET
PROFESOR ADJUNTO DE NEFROLOGÍA DEL INCMNSZ
TUTOR DE TESIS**

AGRADECIMIENTOS

A mi familia, que ha entendido mi ausencia durante estos años y ha sido fuente de apoyo constante e incondicional en los años de carrera profesional.

Agradezco a mis compañeros de residencia, porque su alegría y su amistad aligeraron la residencia.

Agradezco a los médicos del Instituto Nacional de Nutrición “Salvador Zubirán” que han contribuido a mi formación, a mis asesores y al Investigador Cristino Cruz Rivera quienes guiaron el presente trabajo.

ÍNDICE

• MARCO TEÓRICO	5
• PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	18
• JUSTIFICACIÓN.....	19
• HIPÓTESIS.....	20
• OBJETIVOS DEL ESTUDIO.....	21
• METODOLOGÍA.....	22
• ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	25
• RESULTADOS	26
• DISCUSIÓN.....	34
• CONCLUSIONES.....	36
• BIBLIOGRAFÍA.....	37

1. MARCO TEÓRICO

1.1 VASCULITIS ASOCIADA A ANCA

En el Consenso de Chapel Hill de 2012 se define a la vasculitis asociada a ANCA (VAA) como una vasculitis necrotizante, la cual afecta predominantemente vasos pequeños y está asociada a anticuerpos contra proteinasa 3 (PR-3) o mieloperoxidasa (MPO) (1). La asociación entre anticuerpos anticitoplasma del neutrófilo (ANCA) y vasculitis fue descrita en 1982. El descubrimiento del patrón citoplasmático y perinuclear en la inmunofluorescencia indirecta y sus principales especificidades PR3 y MPO fue reconocido en 1988 y 1990 respectivamente. En base a hallazgos clínicos e histopatológicos, la VAA se ha subdividido en poliangeítis microscópica (PAM), granulomatosis con poliangeítis (GPA) y granulomatosis eosinofílica con poliangeítis (EGPA). También se acepta la definición de vasculitis limitada a riñón (RLV) cuando existe evidencia de glomerulonefritis necrotizante aislada, sin evidencia de vasculitis sistémica (2). Menos del 10% de los pacientes con hallazgos patológicos y clínicos de PAM, GPA, RLV y EGPA son negativos para ANCA en suero (3).

La GPA, PAM y EGPA tienen una incidencia anual respectivamente de 2.1 a 14-4, 2.4 a 10.1 y 0.5 a 3.7 por millón en Europa, y la prevalencia de VAA es estimada entre 46 a 184 por millón (4). Es más frecuente después de los 60 años y afecta más a hombres que a mujeres. La supervivencia a 5 años para GPA, PAM y EGPA es estimada en 74 a 91%, 45 a 76% y 60 a 97%, respectivamente (5).

Existe evidencia clínica, en modelos *in vitro* y en modelos animales que los ANCA son patogénicos. La evidencia clínica está respaldada por la presencia de ANCA en más del 90% de los pacientes con VAA, la eficacia de la terapia inmunosupresora, así como la correlación de los títulos de ANCA con actividad de la enfermedad (2). Ambos anticuerpos, IgGs contra MPO y PR3 pueden activar *in vitro* neutrófilos humanos, los neutrófilos que han sido activados por los ANCA se adhieren a las células endoteliales y liberan sus mediadores, conduciendo al desarrollo de modelos de vasculitis (6). Otras pruebas de que los ANCA son patogénicos son las desarrolladas en modelos animales, en el cual se inyectaron anticuerpos anti-MPO en ratones, lo cuales desarrollaron glomerulonefritis proliferativa y vasculitis de pequeño vaso en otros órganos idéntica a la observada en pacientes con VAA en el transcurso de una semana (7). Aunque queda claro el papel patogénico de los ANCA, aún se encuentran en investigación diversas teorías sobre los mecanismos responsables de la producción de los ANCA.

El espectro clínico de la VAA es amplio y por consiguiente su presentación puede ser muy variada, las tres categorías de vasculitis comparten características pero adicionalmente tienen características que definen a cada una de ellas. Las manifestaciones típicas de GPA incluyen costras nasales, descarga retrorinal, epistaxis, uveítis, involucro del tracto respiratorio superior y a menudo involucro renal con sedimento activo. Los pacientes con PAM son típicamente de mayor edad, se presentan con enfermedad renal más severa que en GPA, y cursan más frecuentemente con rash y neuropatía. EGPA típicamente se presenta como una enfermedad multisistémica, con asma, poliposis nasal y eosinofilia periférica (1).

1.1.1 VAA CON GLOMERULONEFRITIS RÁPIDAMENTE PROGRESIVA COMO CAUSA DE ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA TERMINAL

La glomerulonefritis rápidamente progresiva (GMNRP) es la presentación clínica más grave de la VAA, se manifiesta como hematuria de origen glomerular con cilindros eritrocitarios, grados variables de proteinuria, presión arterial habitualmente alta y lo más importante, deterioro de al menos el 50% de la función renal dentro de un corto periodo, que puede ir de pocos días a los tres primeros meses a su aparición e histológicamente se correlaciona con daño glomerular severo, caracterizado por la presencia de semilunas celulares y fibrosas(8).

La etiología de la GMNRP puede variar, pero finalmente todas causan daño a la membrana basal glomerular, filtración de fibrina y fibronectina al espacio de Bowman, activando células epiteliales parietales, la cuales proliferan, causando ruptura de cápsula de Bowman seguido de migración de macrófagos y fibrina, esos cambios eventualmente causarán obstrucción del flujo tubular, daño glomerular y pérdida de la nefrona afectada (9).

La GMNRP es causada por vasculitis de pequeños vasos, de las cuales existen 3 tipos, su clasificación depende de su patogénesis y de la distribución de los complejos inmunes en la microscopia por inmunofluorescencia (figura 1):

La tipo 1, la cual representa solamente el 10% de todas, cuyo ejemplo clásico es la enfermedad anti-membrana basal glomerular (antes llamado enfermedad de Goodpasture), clínicamente casi todos los pacientes presentan GMNRP la cual puede estar asociada a anemia, hemorragia pulmonar y disnea. El diagnóstico se confirma mediante la detección de anticuerpos anti-membrana basal glomerular en sangre y mediante el análisis de inmunofluorescencia del tejido renal, el cual muestra depósito lineal de IgG a lo largo de la membrana basal glomerular (3). La tipo 2 es el 15 a 20% de todas las GMNRP, se caracteriza por el depósito granular de inmunoglobulinas en inmunofluorescencia (1), algunos ejemplos son el lupus eritematoso sistémico, vasculitis IgA, vasculitis crioglobulinémica; y el tipo 3, la causa más común de las GMNRP, las cuales constituyen el 60 a 80% de todos los casos, este tipo de glomerulonefritis se caracteriza por la ausencia de depósitos inmunes glomerulares, de ahí el nombre de pauciimmune (10).

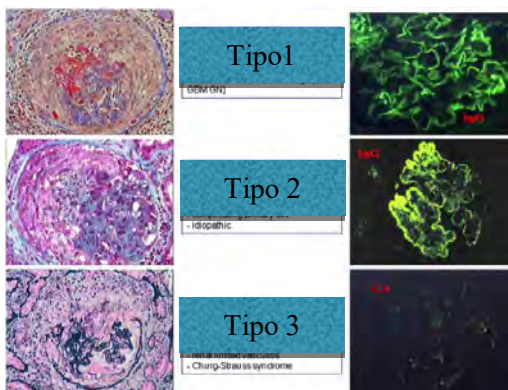


Figura 1. Microscopia de luz (izquierda) y patrón de inmunofluorescencia (derecha) en los tres tipos de GMNRP (6)

Hasta el 60% de las GMNRP evolucionan a enfermedad renal crónica con dependencia de diálisis. El involucro renal en VAA es de particular importancia por su frecuencia y por su impacto en el pronóstico. La afección renal está presente hasta en el 70% de los pacientes con GPA y casi el 100% de los pacientes con PAM. Además, la severidad de la afección renal es asociada a peor pronóstico, tanto sobrevida del paciente como sobrevida renal (11).

1.1.2 CLASIFICACIÓN SEROLÓGICA

La clasificación serológica de la VAA se utiliza para caracterizar la naturaleza de la enfermedad, ayuda a predecir pronóstico y respuesta al tratamiento, además de fácil implementación, ya que las especificidades de los ANCAs habitualmente se solicitan cuando inicia la presentación del cuadro clínico. Se debe colocar el prefijo MPO o PR3 para indicar la reactividad al ANCA del paciente (ejemplo MPO-ANCA, PR3-ANCA, ANCA-negativo). Los títulos de ANCA son más predictivos de actividad renal con respecto a actividad extrarrenal, por ejemplo los pacientes que negativizan ANCA durante el seguimiento tienen un riesgo menor de recaída renal, por otro lado, los pacientes que incrementan títulos de ANCA su riesgo de recaída se incrementa > 11 veces (12). Las diferencias entre estos grupos de pacientes dependiendo de la especificidad del ANCA expresado se muestran en tabla 1.

Tabla 1. Diferencias ente vasculitis PR3-ANCAS vs MPO-ANCAS

Característica	PR-3 ANCA	MPO ANCA
Epidemiología	Norte de Europa y América, Australia	Sur de Europa y Asia
Edad al diagnóstico	45-55 años	60-65 años
Patología	Granuloma y vasculitis	Vasculitis y fibrosis
Órgano afectado	Vías respiratorias superiores y nódulos pulmonares, alto número de órganos afectados	Frecuente involucro renal y fibrosis pulmonar
Pronóstico	Incremento en riesgo de recaída	Incremento de riesgo a largo plazo de ERC terminal
Respuesta al tratamiento	Rituximab superior a ciclofosfamida Los títulos de PR3 pueden guiar la terapia después de rituximab	Respuesta similar entre rituximab y ciclofosfamida
Asociación genética	HLA-DP	HLA-DQ

Estos datos indican que la presencia o ausencia de ANCAs, así como sus especificidades, ofrece información muy útil. Los pacientes con PR3-ANCAs no solamente tienen una carga genética diferente con respecto a los MPO-ANCAs, están propensos también a diferentes afecciones específicas de órgano, diferentes tendencias a la respuesta de terapia de inducción con rituximab y diferente riesgo de recaída. Por lo que la clasificación serológica

permite una segregación de los pacientes más objetiva que la clasificación clínica, la cual puede variar durante la evolución, resultando que un paciente diagnosticado con GPA en un inicio, pueda cambiar de diagnóstico de PAM, dependiendo del criterio del médico (13).

1.1.3 DIAGNÓSTICO

Nunca sobra enfatizar que la evaluación del paciente debe incluir una historia clínica cuidadosa y completa, aunada a un minucioso examen físico como primera ruta diagnóstica.

Los estudios de laboratorio deben incluir un hemograma completo, química sanguínea, examen general de orina, análisis minucioso del sedimento urinario, cuantificación de proteínas, así como medición de reactantes de fase aguda (proteína C reactiva y Velocidad de sedimentación globular).

Los ANCA's han demostrado ser de gran utilidad, constituyen biomarcadores sensibles y específicos siempre y cuando se hagan en un contexto clínico apropiado. Dos formas de ANCA's se han identificado en pacientes con vasculitis: ANCA's dirigidos contra la enzima de los neutrófilos mieloperoxidasa (MPO), la cual causa un patrón de inmunofluorescencia perinuclear; y ANCA's dirigidos contra la serina proteasa de los neutrófilos proteinasa 3 (PR-3), la cual resulta en un patrón de inmunofluorescencia citoplasmático. El valor predictivo de los ANCA's en el diagnóstico depende del espectro de manifestaciones clínicas y en situaciones en donde su valor predictivo es igual a la biopsia, puede hacer innecesaria para el diagnóstico esta última (14).

Otras pruebas serológicas recomendadas dependen de la evaluación inicial, pero dado que muchas entidades autoinmunes comparten varios de los síndromes clínicos presentes en las VAA, en forma general conviene solicitar anticuerpos antinucleares, complemento, factor reumatoide, anticuerpos anti-membrana basal glomerular. En caso de sospecharse una causa infecciosa de la vasculitis, se debe solicitar cultivos, serología contra VIH, VHB y VHC, así como crioglobulinas.

El examen histológico es considerado el estándar de oro para el diagnóstico. Es particularmente útil en la exclusión de otras enfermedades, como neoplasias o infecciones. Además las características histológicas proporcionan orientación pronóstica, la utilidad de la biopsia se extiende en algunos casos a demostrar la presencia de cicatrización con daño funcional. También, dada la ausencia de biomarcadores más específicos que correlacionen adecuadamente con el grado de actividad inflamatoria de la enfermedad, el examen histológico puede ser el único medio de exclusión de inflamación activa y puede guiar las decisiones terapéuticas (15).

1.1.4 PATOLOGÍA

El patrón histológico típico de la VAA es la glomerulonefritis pauci- inmune necrotizante y proliferativa, dicho patrón también ocurre en ausencia de vasculitis sistémica y es llamado RLV (14). La lesión característica es la necrosis fibrinoide (Figura 2). A diferencia de la glomerulonefritis mediada por complejos inmunes y la antimembrana basal

glomerular las cuales poseen extensos depósitos de inmunoglobulinas en el glomérulo detectadas por microscopia por inmunofluorescencia(14), en la VAA hay pocos o ningún depósito.

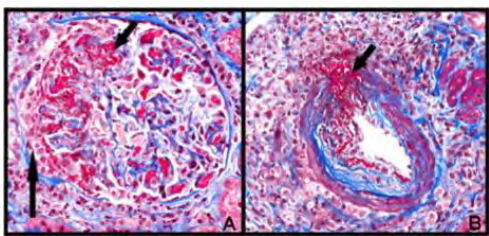


Figura 2. Microfotografía de paciente con VAA, la cual muestra necrosis fibrinoide

Estas lesiones necrotizantes pueden afectar a muchos vasos diferentes, explicando la gran variedad de signos y síntomas. Por ejemplo, la afección de los capilares glomerulares causa nefritis; de los capilares alveolares, hemorragia pulmonar; de vénulas dérmicas, púrpura, de las vénulas de la mucosa del tracto respiratorio superior, rinitis y sinusitis; de las arterias viscerales abdominales, dolor abdominal; y de las arterias epineurales, mononeuritis múltiple.

La clasificación histopatológica de Berden ayuda a determinar la actividad y cronicidad histológica de la glomerulonefritis asociada a ANCA, en base al porcentaje de semilunas, esclerosis y la proporción de glomérulos sin lesiones en la microscopia de luz. La clase focal, en la cual $\geq 50\%$ de los glomérulos son normales, se asocia a mejor pronóstico renal, la clase esclerótica, en la cual existe ≥ 50 de esclerosis global de los glomérulos, es la de peor pronóstico, y la clase proliferativa en donde $\geq 50\%$ de los glomérulos presentan semilunas activas tiene una supervivencia renal a 5 años de 76%; y la clase mixta en la cual no hay predominio de alguna lesión, tiene una supervivencia renal a 5 años de 61% (15). Una excepción es en los pacientes con tasa de filtrado glomerular $<15\text{ml}/\text{min}$, en donde la clasificación de Berden no predice resultados renales.

1.1.5 GENERALIDADES DEL TRATAMIENTO DE LA VAA

Sin tratamiento, los casos de VAA graves son fatales. La supervivencia a largo plazo ha mejorado progresivamente en las últimas cinco décadas. Se ha reportado que la supervivencia a 1 año, 2 años y 5 años fue del 88%, 85% y 78% respectivamente, lo que corresponde a una tasa de mortalidad estandarizada de 2.6 en comparación con la población general. En varias cohortes, la mortalidad fue más alta en pacientes con MPO-ANCA que en pacientes con PR3-ANCA, pero esta diferencia usualmente no fue estadísticamente significativa después del ajuste por edad en el momento del diagnóstico (25).

El tratamiento convencional de la VAA son las dosis altas de ciclofosfamida más esteroides, los cuales inducen remisión en aproximadamente 75% de los pacientes a los 3 meses y en más de 90% a los 6 meses, sin embargo, las recaídas y eventos adversos son muy frecuentes.

Actualmente, nuevos regímenes de tratamiento han sido desarrollados para limitar la exposición a ciclofosfamida y esteroide. Las terapias biológicas, que tienen como dianas

componentes celulares y moleculares de la respuesta inmune pueden ser más efectivos y menos tóxicos (8).

- **INDUCCIÓN A LA REMISIÓN**

La terapia de inducción más ampliamente utilizada comprende la ciclofosfamida combinada con glucocorticoides. La dosis óptima, la duración y la vía de administración de las diferentes terapias empleadas han sido estudiadas en múltiples ensayos clínicos (16,17). No existe un ensayo aleatorizado para guiar las dosis de glucocorticoides.

Un avance importante fue demostrar la eficacia de la ciclofosfamida oral con respecto a la administración de bolos intravenosos, y comparar la toxicidad de cada una. El estudio CYCLOPS (the Cyclophosphamide oral versus Pulse Trial) evaluó a 149 pacientes con GPA o PAM, quienes recibieron ciclofosfamida ya sea oral (2 mg/kg por día; dosis máxima oral 200 mg) o ciclofosfamida en bolo intravenoso (15 mg/kg; dosis máxima de pulso 1,2 g), inicialmente cada 2 semanas para los primeros tres bolos, posteriormente cada 3 semanas para los siguientes tres a seis bolos. Los dos grupos de tratamiento no tuvieron diferencias en el tiempo en que lograron remisión, sobrevida renal, mortalidad y eventos adversos (16). Aunque la tasa de recidiva fue aproximadamente dos veces mayor en el grupo de bolos intravenosos después de un seguimiento a largo plazo, no hubo diferencias entre los grupos con respecto a los resultados renales y sobrevida del paciente. Esto puede favorecer el uso de pulsos intravenosos debido a que la dosis acumulada de ciclofosfamida fue menor. La vigilancia de la leucopenia y las infecciones siempre será prudente (8).

Inicialmente se sugieren dosis altas de glucocorticoides ya sea intravenosas o vía oral, la dosis y la duración del tratamiento son variables y dependen de la presentación de la enfermedad. Un meta-análisis concluyó que los cursos más largos de glucocorticoides se asocian con menos recidivas (17). Sin embargo nuestra tendencia es disminuir la dosis y suspender prednisona después de 4 a 5 meses si la remisión ha sido alcanzada. Continuar la prednisona por más de 6 meses está asociado con un incremento en el riesgo de infección, y no proporciona un beneficio extra (18).

La terapia dirigida contra células B, indicada para eliminar los ANCAs patogénicos, conceptualmente es atractiva porque esto podría reducir selectivamente la producción de anticuerpos mientras que se preservan otras células participantes en la respuesta inmune. El rituximab es un anticuerpo monoclonal dirigido en contra de CD20 de las células B. Se han realizado 2 ensayos clínicos prospectivos controlados, el estudio RAVE y el estudio RITUXIVAS, en ambos se demostró la eficacia del rituximab en la VAA (19, 20), lo que llevó a su aprobación como una alternativa a la ciclofosfamida como terapia de inducción. Ambos ensayos mostraron que el rituximab no era inferior para inducir la remisión en comparación con la ciclofosfamida intravenosa (estudio RITUXIVAS) o la ciclofosfamida oral (estudio RAVE). No hubo diferencia en los efectos adversos de los pacientes tratados con rituximab en ninguno de los dos estudios.

La plasmaféresis es otra estrategia para eliminar los ANCAs patogénicos, así como a mediadores inflamatorios. La plasmaféresis ha demostrado tener un efecto terapéutico en pacientes con VAA que tienen deterioro renal severo (creatinina sérica de 6 mg/dl o requerimiento de diálisis), así como en pacientes con hemorragia alveolar. En un estudio realizado por el grupo Europeo de Vasculitis MEPEX, se evaluó la eficacia de la

metilprednisolona intravenosa como terapia de inducción o plasmaféresis en pacientes que tenían un creatinina sérica de más de 5.8 mg/dL, los resultados sugieren que la plasmaféresis en comparación con la metilprednisolona intravenosa aumenta la tasa de recuperación del deterioro renal. La plasmaféresis se asoció con un 24% de reducción del riesgo de progresión a estadio final de enfermedad renal crónica (21).

- **TERAPIA DE MANTENIMIENTO**

Una vez que el paciente está en remisión, se necesita disminuir la inmunosupresión para prevenir recaídas, generalmente implica dosis bajas de glucocorticoides más una terapia inmunomoduladora adicional como azatioprina, rituximab o micofenolato de mofetilo (MMF) durante 12 a 18 meses. Los pacientes con PR3-ANCA o GPA son más propensos a recaer con respecto a los pacientes MPO-ANCA, MPA o RLV, por lo que la duración de la terapia de mantenimiento en estos últimos puede ser más corta. Una terapia de mantenimiento más prolongada puede ser apropiada para pacientes con mayor riesgo de recaída, como la positividad de PR3-ANCA, recurrencia previa y la afectación pulmonar.

En general, el uso de ciclofosfamida no se recomienda debido a su toxicidad. Un ensayo controlado aleatorizado comparó ciclofosfamida durante 12 meses como terapia de mantenimiento con azatioprina, no se demostró diferencia en tasa de recaídas (22). En comparación con la azatioprina, la terapia de mantenimiento con MMF se asoció con una tasa de recaída significativamente más alta. Sin embargo, el MMF sigue siendo una opción para la terapia de mantenimiento en pacientes que son intolerantes o alérgicos a la azatioprina (23).

El Rituximab es otra opción para el mantenimiento de la remisión. El estudio MAINRITSAN comparó rituximab (500 mg intravenoso cada 6 meses) con azatioprina para el mantenimiento de la remisión en pacientes con PAM, RLV y GPA que se encontraban en remisión completa después del tratamiento de inducción con un régimen de ciclofosfamida y glucocorticoides. El rituximab fue mejor que la azatioprina para prevenir recaídas, incluida la recaída renal (24).

1.2 EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD Y DAÑO RESIDUAL EN VAA

La evaluación de la actividad del paciente con VAA es un desafío para el clínico y es crítico para realizar intervenciones terapéuticas a lo largo del curso de la enfermedad. El manejo efectivo incluye evaluaciones repetidas de la actividad y la gravedad de la enfermedad, así como del daño causado por la enfermedad y la toxicidad del tratamiento. Estos conceptos distintos pero superpuestos se deben evaluar como un todo. Categorizaciones adicionales del curso de la enfermedad tales como si está activa (de nuevo inicio, persistente o recaída) o está en remisión se utilizan rutinariamente para guiar las opciones de tratamiento.

Cuando se evalúan pacientes con VAA, ya sea clínicamente o en el contexto de un ensayo clínico, es esencial diferenciar entre actividad, daño residual y gravedad de la enfermedad: la actividad de la enfermedad es tratable y potencialmente reversible con la terapia. El daño residual generalmente es irreversible y no mejora al tratar la vasculitis. El daño puede ser

causado por la enfermedad en sí misma, el tratamiento o una enfermedad comórbida. En general, una vez identificado el daño, se considera permanente si continúa sin cambios durante más de 6 meses. En el Wegener's Granulomatosis Etanercept Trial (28), los daños permanentes que ocurrieron en más del 10% de la cohorte incluyeron pérdida de audición; proteinuria ($\geq 0,5$ g / 24 horas); obstrucción nasal, secreción crónica o formación de costras; perforación septal; disminución de la tasa de filtración glomerular de al menos 50% con respecto a la basal; estenosis subglótica; y sinusitis crónica. El daño relacionado con la enfermedad puede tratarse; una deformidad en la silla de montar puede responder a la cirugía plástica, por ejemplo, pero tratar la vasculitis no tendrá ningún efecto sobre el defecto anatómico subyacente establecido. La gravedad de la enfermedad evalúa la intensidad de la enfermedad y guía al médico a determinar qué tan agresiva debe ser la terapia.

La VAA tiene dos estados: remisión y enfermedad activa. En la remisión, no hay evidencia de enfermedad activa. Esto se califica describiendo la remisión como completa o parcial; además, se define mediante el elemento de tiempo, como una remisión "sostenida" de más de 6 meses. La enfermedad activa es la presencia de cualquier expresión continua de vasculitis que no sea causada por daño de la enfermedad, comorbilidad o tratamiento; Si la enfermedad activa dura más de 6 meses, se describe como persistente o sostenida. La recaída, es una manifestación de la enfermedad activa, describe la transición de la remisión a la enfermedad activa y se caracteriza por el empeoramiento de la actividad de la enfermedad. Las recaídas se clasifican como leves o graves.

Las evaluaciones de laboratorio apropiadas incluyen un conteo sanguíneo completo, pruebas de función renal, reactantes de fase aguda (posiblemente como marcadores de enfermedad, pero no necesariamente para guiar la terapia) y otras pruebas de laboratorio según sea necesario. Si bien es cierto el claro papel de los ANCAs en el diagnóstico de VAA, existe controversia con respecto a su utilidad en la evaluación de la actividad renal. Los análisis de orina son clave para evaluar la actividad; si el resultado de una tira reactiva de orina es positivo, se debe realizar un examen microscópico posterior. La revisión microscópica puede mostrar cilindros eritrocitarios y hematuria. Sin embargo esta última puede deberse a una enfermedad renal causada por vasculitis, toxicidad vesical inducida por ciclofosfamida, cálculos renales, menstruación o una variedad de otras causas, pero si no se monitoriza la hematuria, se omitirá una evaluación clave. La biopsia es particularmente útil en enfermedad renal. Si la función renal se está deteriorando sin otra evidencia de enfermedad activa, repetir la biopsia es una conducta apropiada para determinar si el deterioro está asociado con la enfermedad activa persistente, la historia natural de disminución de la función renal u otra causa. Los pacientes con vasculitis pueden desarrollar nuevas comorbilidades, particularmente infecciones, por lo que siempre se requiere vigilancia. Es importante destacar que la documentación y el conocimiento del daño relacionado con la enfermedad son cruciales para evitar el sobretreatmento (29).

1.2.1 *Birmingham Vasculitis Activity Score (BVAS)*

Introducida en 1994, el *Birmingham Vasculitis Activity Score (BVAS)* es una lista de verificación que registra más de 50 ítems en nueve aparatos y sistemas; la suma de los elementos individuales proporciona la puntuación final (30). Han habido dos revisiones de la BVAS; una se enfoca en GPA (BVAS / WG) y la otra, BVAS versión 3 (BVAS v.3). La

remisión se define como un puntaje BVAS de 0. Cualquier puntaje mayor que 0 define enfermedad activa. Cada aparato y sistema se evalúa como activo o no, y los elementos caracterizados como más graves dan mayor puntuación. Cada una de las tres herramientas BVAS tiene ventajas y desventajas. Todas las herramientas están validadas y son bastante fáciles de usar; son baratas; han sido empleados con éxito en ensayos clínicos; y los resultados son ampliamente aceptados por los investigadores. Sin embargo, esos *scores* omiten algunas variables, incluidos los biomarcadores; y las decisiones son subjetivas. En los últimos 15 años, los ensayos controlados aleatorizados importantes han utilizado BVAS o uno de sus derivados. Habiendo diferencias importantes en las definiciones de remisión de los ensayos. Por ejemplo, algunos ensayos permiten una menor actividad de la enfermedad como remisión parcial, mientras que otros requieren la ausencia total de actividad de la enfermedad para lograr la "remisión" (30).

1.3 CD163 SOLUBLE URINARIO COMO POTENCIAL BIOMARCADOR DE ACTIVIDAD DE VASCULITIS, FUNDAMENTO FISIOPATOLÓGICO

Un biomarcador se define como una molécula o elemento que se mide objetivamente y funciona de forma indirecta como un indicador de procesos biológicos normales, procesos patológicos o respuestas farmacológicas a una intervención terapéutica.

Los macrófagos son células del sistema inmunes que tienen múltiples funciones en estado fisiológico y en algunas enfermedades. Detectan, fagocitan y eliminan microorganismos invasores; funcionan como células presentadoras de antígenos y pueden estimular a los linfocitos. En sitios de lesión tisular, los macrófagos limpian los desechos celulares y median la reparación tisular. Desarrollan respuestas fenotípicas flexibles a las señales ambientales locales y producen una matriz equilibrada de citoquinas con las que orquestan las respuestas inflamatorias (31). Los macrófagos están involucrados en eventos patogénicos clave en muchas enfermedades, desde la sepsis grave hasta en enfermedades autoinmunes, el cáncer y en enfermedades inflamatorias de bajo grado, como el síndrome metabólico y aterosclerosis. Sin embargo, debido a que los macrófagos son células fijas en los tejidos, rara vez son fácilmente accesibles para un examen detallado, y sus precursores en sangre, los monocitos permanecen inmaduros y no expresan todos los fenotipos que reflejan los procesos en los tejidos enfermos. Por esa razón, se están investigando potenciales biomarcadores derivados de macrófagos en sangre y otros fluidos biológicos que reflejen la activación de las poblaciones de macrófagos en los tejidos.

Una de estas moléculas es CD163 soluble (sCD163), ya que reúne muchas características para considerarse como un buen biomarcador. Se expresa casi exclusivamente por células de origen monocítico (32) en particular en sitios con gran actividad de macrófagos, sCD163 se libera desde la superficie del macrófago a la circulación, es estable y se mide fácilmente en suero o en cualquier otro líquido biológico en donde exista actividad de macrófagos (33).

CD163 es una proteína de membrana de 130 kDa con una cola citoplásmica corta, un único segmento transmembrana y un ectodominio grande que consta de nueve receptores carroñeros ricos en cisteína (SRCR) (34). Se han descrito diferentes isoformas de CD163 humano, incluyendo tres variantes con una longitud diferente de la citoplasmática (figura 3) (33).

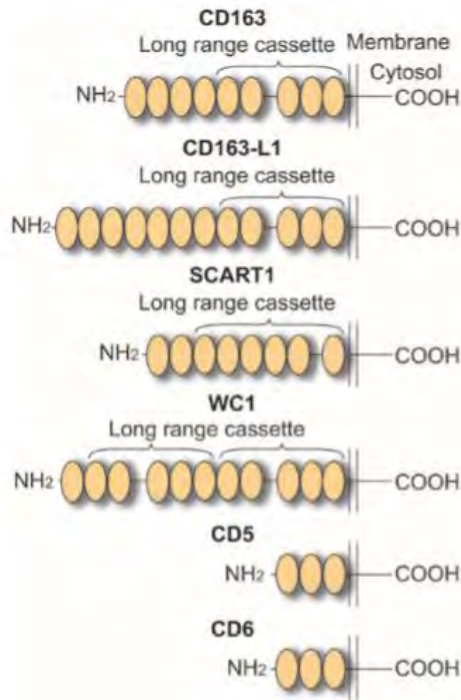


Figura 3. Miembros de la familia B de SRCR. Todos los miembros tienen múltiples dominios clase B repetidos de SRCR

La función principal de esta proteína se describió en 2001. El CD163 es un receptor de alta afinidad de los complejos hemoglobina-haptoglobina, los cuales se forman instantáneamente cuando se libera hemoglobina de los eritrocitos durante la hemólisis fisiológica o patológica (Figura 4). Además, CD163 puede unirse a la hemoglobina libre con baja afinidad, esto puede tener importancia cuando hay depleción de haptoglobina en casos de hemólisis excesiva. La unión de hemoglobina-haptoglobina es una de las interacciones proteína-proteína más fuertes que se producen en el plasma (35). La unión del complejo a los macrófagos CD163 conduce a una rápida degradación del complejo, y en caso de hemólisis intravascular aumentada como se ve en muchas afecciones patológicas, como malaria, hemoglobinopatías, hemólisis autoinmune y hemólisis inducida por fármacos, la haptoglobina puede prácticamente desaparecer del plasma humano.

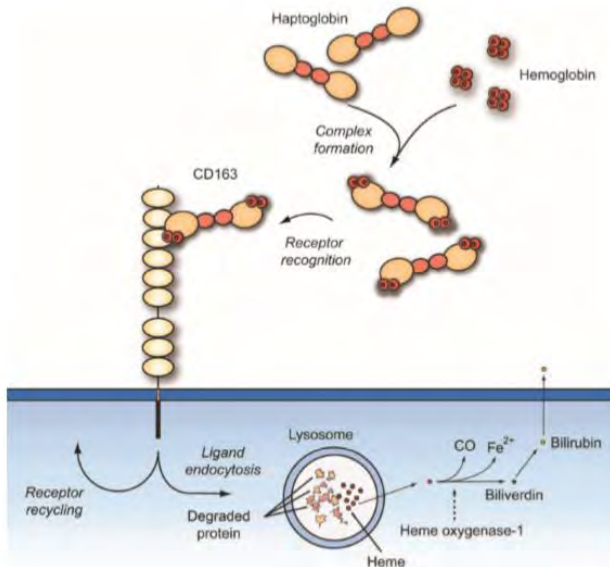


Figura 4. CD163 media la captura de hemoglobina en casos de hemólisis

Posteriormente la haptoglobina-hemoglobina se degradan en los lisosomas. En general, la eliminación de hemoglobina y la generación de metabolitos de heme dan como resultado una respuesta antiinflamatoria localizada. Los efectos antiinflamatorios de los metabolitos del heme, monóxido de carbono (CO) y biliverdina-bilirrubina son el resultado de múltiples mecanismos biológicos no completamente elucidados, El CO es un potente inhibidor citocinas proinflamatorias, como IL1 y TNF- α y un estimulador de IL-10. La biliverdina y la bilirrubina son antioxidantes y su principal función citoprotectora se basa en la inhibición de la peroxidación lipídica y proteica, pero aparentemente también muestran una actividad antiinflamatoria directa. Finalmente, la liberación de Fe²⁺ puede conducir indirectamente a la protección de las células del estrés oxidativo mediante la estimulación de la expresión de ferritina, la cual tiene propiedades antioxidantes (33).

1.3.1 CD163 SOLUBLE (sCD163) URINARIO COMO BIOMARCADOR DE DAÑO GLOMERULAR

Bajo el principio de que la concentración de sCD163 en la orina debería ser muy baja en condiciones fisiológicas debido a su alto peso molecular (130 kDa), bajo condiciones inflamatorias en glomérulos, ocurre lo contrario, como es el caso cuando hay formación de semilunas como las observadas en las GMNRP, los macrófagos se activan de forma local, liberando SCD163 directamente a la orina, lo que lo hace un excelente recurso para la detección de la inflamación local (Figura 5).

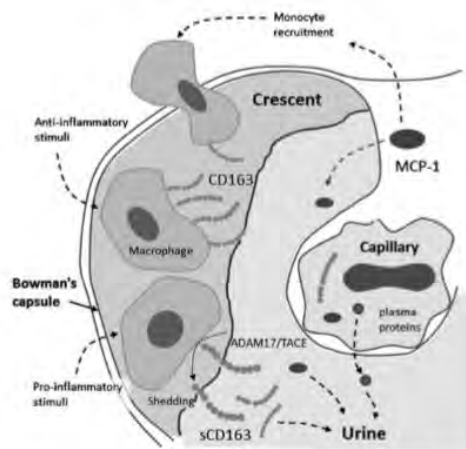


Figura 5. Esquema de la vía propuesta de la aparición de sCD163 en la orina de pacientes con semilunas

En este sentido, se han publicado una serie de estudios en donde se evalúa la utilidad de este biomarcador en la detección de inflamación glomerular en algunas enfermedades (36). Endo y colaboradores lo estudiaron en NL. En una cohorte de pacientes con NL, los autores demostraron el aumento en los niveles de sCD163 a mayor gravedad de la glomerulonefritis, fue posible distinguir clases III y IV de otras formas de NL con buena precisión, aunque la aplicabilidad general de este hallazgo estuvo limitada por el número de pacientes con glomerulonefritis menos grave en la cohorte. Cuando se comparó con otras glomerulopatías, los niveles urinarios de sCD163 fueron significativamente más altos que en otras formas de glomerulonefritis, como en la VAA y nefropatía por IgA (aunque con tamaños de muestra pequeños). Sin embargo, el estudio tiene varias limitaciones: 1) Incluyó pocos pacientes, en particular los subgrupos de pacientes con NL clase III y clase V no estuvieron adecuadamente representados, 2) No se proporcionan datos sobre el seguimiento, por lo que no sabemos si el valor sCD163 urinario puede ser un predictor del resultado renal, o qué tan rápido cambia con el tratamiento (37). Otro estudio importante es el de O'Reilly y colaboradores, en donde se demostró la asociación estrecha entre la concentración de sCD163 urinaria y la vasculitis renal activa en múltiples cohortes. Los valores observados de sCD163 en la VAA en este estudio parecen ser significativamente menores en general que en el estudio de Endo. A pesar de que se utilizó el mismo kit de ELISA en ambos estudios, Endo y colaboradores usaron una dilución de orina de 1:10, a diferencia de 1: 4 usado en el estudio de O'Reilly. El último manuscrito describió elegantemente el aumento espectacular de los macrófagos que expresan CD163 en los glomérulos afectados (más que los neutrófilos y las células T), incluso en lesiones muy tempranas y en glomérulos aparentemente histológicamente normales (38).

La estabilidad de sCD163 tanto en sangre como en orina es alta y la proteína es fácil de medir mediante ensayos de ELISA. Se encuentran disponibles varios ensayos comerciales con fines de investigación, pero ninguno está aprobado para uso clínico. La mayoría de los estudios publicados se han realizado con el kit Macro163® de IQproducts o el kit CD163 Quantikine ELISA de R & D. Un estudio que los comparó mostró que estos ensayos se correlacionan fuertemente; sin embargo, hay un sesgo significativo debido a diferentes calibraciones. Además, los niveles informados de sCD163 medidos por el mismo kit

comercial varían considerablemente entre los estudios, a juzgar por los valores obtenidos en muestras de individuos sanos. Esta falta de estandarización del ensayo dificulta la transferencia de los rangos de referencia y los límites de decisión significativos al uso clínico de rutina. Por lo tanto, es deseable una estandarización internacional. Analizando en conjunto estos trabajos recientemente publicados que examinan los niveles en orina de sCD163 como un biomarcador de glomerulonefritis, este marco teórico proporciona una sólida base para realizar un estudio de prueba diagnóstica para evaluar la utilidad formal de la sCD163 en el diagnóstico de glomerulonefritis activa en el contexto del lupus eritematoso, vasculitis y otras formas de glomerulonefritis donde los macrófagos juegan un papel principal, tanto en el momento del diagnóstico como para ayudar en la identificación de la recaída. Además de la biopsia renal invasiva, los biomarcadores actuales son relativamente pobres para identificar la enfermedad activa, particularmente en VAA, donde la enfermedad activa grave puede existir en presencia de proteinuria y hematuria mínimas. La facilidad de medición, la estabilidad en la orina, una base fisiológica sólida y una clara utilidad clínica hacen que sCD163 sea un candidato lógico para la introducción validada en la práctica clínica (36).

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las principales causas de vasculitis renal son la vasculitis asociada a ANCA y la enfermedad antimitochondrial basal glomerular. Los biomarcadores tradicionales como los títulos de ANCA tienen una utilidad limitada para identificar actividad de la enfermedad. Por otra parte, marcadores de inflamación sistémica como la proteína C reactiva tienen pobre especificidad para la enfermedad. Por tanto, el diagnóstico actual requiere de la realización de una biopsia renal percutánea, el cual es un estudio invasivo y no libre de complicaciones.

La búsqueda de biomarcadores no invasivos ha sugerido que la proteína sCD163, una proteína glucosilada expresada exclusivamente en la membrana de macrófagos, puede correlacionar con la actividad de la enfermedad. Esta proteína puede ser evaluada en orina, sin embargo, resta evaluar su utilidad diagnóstica.

En este estudio evaluaremos la utilidad de la proteína sCD163 urinaria como marcador diagnóstico de actividad en población mexicana con vasculitis sistémica y actividad renal.

3. JUSTIFICACIÓN

El requerimiento de una biopsia renal percutánea para el diagnóstico de actividad renal de VAA implica un procedimiento invasivo. Adicionalmente, el análisis histopatológico tiene un costo elevado y en muchos casos, el retraso en el diagnóstico puede conllevar un peor pronóstico de la enfermedad.

Por tanto, la búsqueda de una prueba no invasiva, accesible, de bajo costo y con eficiencia diagnóstica suficiente para el diagnóstico de actividad renal de VAA puede modificar favorablemente el pronóstico y tratamiento oportuno de este padecimiento.

El uso de sCD163 pudiera utilizarse como herramienta diagnóstica no invasiva, así como de seguimiento durante la inducción a la remisión de actividad renal de vasculitis para así optar por regímenes de tratamiento más personalizados y menos tóxicos.

4. HIPÓTESIS

Los títulos urinarios de sCD163 podrán diferenciar a pacientes con VAA con actividad renal de aquellos con VAA con actividad sistémica no renal y VAA inactiva.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO PRIMARIO

- Evaluar la utilidad de sCD163 urinario en el diagnóstico de VAA activa a nivel renal, en comparación con otros biomarcadores no invasivos.

5.2 OBJETIVO SECUNDARIO

- Evaluar los niveles de sCD163 en pacientes con VAA y comparar con los niveles observados en otras enfermedades glomerulares y sujetos sanos.
- Correlacionar los niveles de sCD163 con los hallazgos histopatológicos de la biopsia renal.
- Correlacionar los niveles de niveles de sCD163 con actividad extrarrenal en VAA.
- Evaluar niveles de sCD163 en otras patologías con gran actividad de macrófagos, como en nefritis tubulointersticial crónica por tuberculosis y NL

6. METODOLOGÍA

6.1 Diseño del estudio

Se trató de un estudio transversal de prueba diagnóstica. En una primera fase exploratoria se montó la técnica de laboratorio necesaria para valorar la factibilidad de obtener señal del potencial biomarcador (sCD163). Una vez que se tuvo éxito se midió en la orina de los pacientes incluidos en el estudio.

6.2 Selección de los pacientes

Todos los pacientes ingresados a hospitalización o estancia corta con diagnóstico de actividad renal de vasculitis de pequeño vaso (VAA y enfermedad anti-membrana basal glomerular) del periodo del 1^{ro} de marzo de 2016 al 30 de junio de 2018

Los criterios de selección fueron los siguientes:

Criterios de inclusión

- Edad mayor de 18 años, diagnóstico clínico de actividad renal de vasculitis, con BVAS renal mayor o igual a 1, con títulos elevados de ANCA medidos por ELISA en quienes existe contraindicación médica para realizar BRP.
- Expediente clínico completo
- Pacientes en quienes se realizará biopsia renal por alguno de los siguientes escenarios:
 - Pacientes que ingresan con sospecha diagnóstica de vasculitis de pequeño vaso
 - Sospecha de recaída renal en pacientes con diagnóstico previo de vasculitis, en base a presencia de al menos un ítem mayor en categoría renal de BVAS
 - Pacientes con diagnóstico de vasculitis, con recaída extrarrenal en base a BVAS mayor o igual a 1
 - Sujetos con sospecha de alguna nefropatía primaria en quienes se realizará una biopsia renal percutánea.

Criterios de exclusión

- No realización de BRP por cuestiones no médicas.
- Paciente con trasplante renal

Criterios de eliminación

- Resultado histopatológico no compatible con VAA.
- Muestra insuficiente para establecer diagnóstico histopatológico

Se establecieron los siguientes 6 grupos controles:

- Pacientes con diagnóstico de vasculitis, con recaída extrarrenal en base a escala Birmingham Vasculitis Activity Score versión 3 (BVAS) mayor o igual a 1 y sin datos de actividad renal de acuerdo a escala BVAS renal
- Pacientes con diagnóstico de VAA inactivos, definido como BVAS de 0
- Pacientes con nefritis túbulo-intersticial crónica granulomatosa. (en quienes se espera mayor actividad de macrófagos)
- Pacientes con NL activa, diagnosticada por criterios histológicos
- Pacientes con NL Inactiva, definida mediante criterios clínicos (se incluyeron pacientes que en un inicio fueron sometidos a biopsia renal percutánea, se diagnosticó NL posteriormente completaron tratamiento de inducción, y actualmente se encontraban en tratamiento de mantenimiento y con datos clínicos de remisión completa).
- Donadores renales

6.2.1 Muestras de orina

Se solicitó muestra de orina a todos los pacientes previo a la realización de la BRP, las cuales se almacenaron a -70 °C hasta el momento de la medición de sCD163.

6.3 DESCRIPCIÓN DE LAS VARIABLES

Variable	Definición	Escala
Demográficas		
Edad	Años al momento de la biopsia	Continua
Sexo	Hombre o mujer	Nomina
Comorbilidad	Presente o ausente en paciente	Nominal
Exploración física		
Índice de masa corporal	Calculado peso/talla ²	Continua
Presión arterial media	Medida en milímetros de mercurio	Continua
Estudios de laboratorio		
Hemoglobina	Nivel de hemoglobina en plasma (g/dL)	Continua
Plaquetas	Nivel de plaquetas por mm ³	Continua
Leucocitos	Nivel de leucocitos por mm ³	Continua
Creatinina	Nivel sérico de creatinina (mg/dl)	Continua
Nitrógeno ureico en sangre	Nivel de nitrógeno ureico (mg/dL)	Continua
Tasa de filtrado glomerular	Obtenida por la fórmula CKD-EPI (ml/min)	Continua
Colesterol	Nivel sérico de colesterol (mg/dL)	Continua
Triglicéridos	Nivel sérico de triglicéridos (mg/dl)	Continua
Albumina	Nivel sérico de albumina (mg/dl)	Continua
Volumen urinario	Cantidad de orina en 24 horas (ml)	Continua
Proteinuria de 24 horas	Valor de proteinuria en orina de 24hrs	Continua
Creatinuria de 24 horas	Valor de creatinuria en orina de 24hrs	Continua
Índice proteinuria/creatinuria	Obtenido de proteinuria y creatinuria de 24hrs	Continua

Hematuria	(g/g) Presencia o ausencia de eritrocitos(>5 eritrocitos/campo de alto poder) en examen general de orina	Nominal
Piuria	Presencia de leucocitos en EGO (>5 /campo de alto poder)	Nominal
Anticuerpos contraDNAc	Medidos mediante ELISA (u/ml)	Continua
Complemento C3	Nivel sérico de la proteína C3 del complemento (mg/dl)	Continua
Complemento C4	Nivel sérico de la proteína C4 del complemento (mg/dl)	Continua
Velocidad de sedimentación globular	Medida en mm/h	Continua
Proteína C reactiva	Nivel sérico de proteína C reactiva (mg/L)	Continua
ANCA	Determinado por inmunofluorescencia	Continua
Anticuerpos contra MPO	Medidos mediante ELISA (u/ml)	Continua
Anticuerpos anti-MBG	Medidos mediante ELISA (u/ml)	Continua
Anticuerpos contra PR3	Medidos mediante ELISA (u/ml)	Continua
BVAS	Actividad de vasculitis mediante escala BVAS versión 3	Ordinal
BVAS Renal	Actividad renal mediante escala BVAS renal	Ordinal
Síndrome glomerular	Nefrótico, nefrítico, rápidamente progresivo, anomalidades urinarias asintomáticas, enfermedad renal crónica	Nominal
Patología		
Número de glómerulos	Número de glómerulos en la biopsia	Continua
Glómerulos con esclerosis global	Porcentaje de glómerulos globalmente esclerosados	Continua
Glómerulos con esclerosis segmentaria	Porcentaje de glómerulos con esclerosis segmentaria	Continua
Fibrosis Intersticial	Porcentaje de fibrosis intersticial	Continua
Atrofia Tubular	Porcentaje de atrofia tubular	Continua
Clasificación de Berden	Esclerótica, focal, segmentaria, mixta	Nominal

7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó un estudio de prueba diagnóstica, para conocer la utilidad de CD163 soluble urinario para detectar actividad renal de vasculitis.

Para el análisis descriptivo se utilizaron frecuencias relativas, medias y desviación estándar o medianas y rangos intercuartilares de acuerdo a la distribución de los datos.

Para las comparaciones de los niveles de sCD163 entre los grupos incluidos se utilizó la prueba de Kruskal Wallis.

Se obtuvieron las curvas ROC, así como los valores de sensibilidad, especificidad, valores predictivos de los títulos de sCD163 para la predicción de vasculitis activa.

Se definirá como significativo una $p < 0.05$.

8. RESULTADOS

8.1 CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

Se reclutaron un total de 20 pacientes con diagnóstico de actividad renal de vasculitis de pequeño vaso de marzo de 2016 a mayo de 2018, el diagnóstico se realizó en base a estudio histopatológico en 18 pacientes, hubo 2 pacientes en quienes no se les realizó BRP por contraindicación médica, cuyo diagnóstico se fundamentó con BVAS renal en puntaje máximo (12 puntos). 18 pacientes (90%) fueron positivos para ANCA, 1 (5%) paciente fue ANCA-negativo y 1(5%) paciente se diagnosticó enfermedad anti-MBG en base a títulos en suero e inmunofluorescencia con patrón característico.

Los controles enfermos, incluyeron 4 pacientes con VAA inactiva procedentes de consulta externa de nefrología, se clasificaron como inactivos en función de BVAS de 0.

En el grupo de VAA con actividad sistémica, se incluyeron 5 pacientes, los cuales fueron reclutados en consulta externa de nefrología y hospitalización, el criterio empleado para clasificarlo en este grupo fue un BVAS versión 3 mayor o igual a 1 más BVAS renal de 0. 2 de los pacientes tenían actividad extrarrenal grave, caracterizada por hemorragia alveolar difusa en ambos casos.

En el grupo de nefritis tubulointestinal (NTI) granulomatosa, se incluyeron 8 pacientes, la etiología de la NTI fue tuberculosis renal (n=3), enfermedad por IgG4 (n=2), infiltración por células plasmáticas (n=1), NTI asociada a síndrome de Sjögren (n=1), adenovirus (n=1).

Los pacientes con NL activa, fueron elegidos aleatoriamente un total de 5 pacientes de la base de biopsias del Instituto, fueron clasificados como activos en base a los criterios de ISN/RPS. Se eligieron 5 pacientes aleatoriamente con NL inactiva (definida como SLEDAI <6) de la base de pacientes del Instituto.

Para los controles sanos se eligieron aleatoriamente 5 pacientes donadores renales. Las características de los pacientes se muestran en la tabla 2 y 3.

Tabla 2. Características clínicas y demográficas los pacientes y controles

	VAAr (N=20)	VAAAs (N=5)	VAAi (N=4)	NTI (N=8)	NL activa (N=10)	NL inactiva (N=5)	Donadores (N=5)
Características demográficas							
Edad, años	53(44-59)	55(41-66)	50(35-65)	30(24-44)	29(25-40)	36(31-60)	40(30-48)
Femenino (%)	14(70)	3(60)	3(75)	5(63)	8(80)	5(100)	20(40)
Presentación clínica							
Creatinina, mg/dl	2.5(1.0-35)	0.8(0.6-4.8)	1.7(1.0-2.1)	2.4(1.8-3.1)	1.5(0.7-2.5)	0.6(0.4-0.9)	0.8(0.5-1.0)
TFGe, ml/min/1.73	26(14-21)	74(19-105)	44(30-81)	28(21-35)	39(19-105)	102(82-138)	95(82-150)
Proteinuria, g/24h	1.6(0.6-4.1)	0.3(0.1-0.4)	0.3(0.03-1.2)	1.6(0.7-2.3)	5.9(3.7-9.0)	0.2(0.1-0.4)	0.05(0.005-0.07)
IP/C, g/g	2.1(0.8-3.5)	0.13(0.06-0.43)	0.3(0.03-1.2)	1.2(0.8-1.7)	5(2.9-5.9)	0.2(0.1-0.4)	0(0-0.02)
Piuria (%)	12(60)	1(20)	0	4(50)	9(90)	0	0
Hematuria (%)	18(90)	1(20)	0	5(50)	10(100)	0	0
PCR mg/dl	2.9(0.7-15.9)	2.3(0.8-13.6)	0.4(0-0.4)	6.1(3.6-6.6)	1.7(0.5-4.6)	0.4(0.2-2.6)	0
VSG, mm/H	34(20-50)	26(11-84)	11(9-11)	20(18-20)	13(12-21)	9(6-30)	-
Hb, g/dl	10.5(8.5-11-7)	13.7(11.3-14.6)	13.4(10.9-	12.7(8.7-14.8)	11.9(9.5-13.4)	12.8(11.0-	-
Plaquetas/mm ³	382(280-457)	426(190-574)	15.6)	298(181-326)	276(144-303)	13.8)	16(14.8-17.2)
Albumina, mg/dl	3.6(3.0-3.9)	3.7(3.5-4.0)	208(173-223)	3.0(2.7-3.7)	2.2(1.9-2.4)	259(182-523)	267(214-312)
Triglicéridos, mg/dl	160(120-238)	119(107-176)	4.3(4.1-4.5)	168(112-385)	199(169-329)	4.0(3.7-4.4)	4.3(4.1-4.4)
Colesterol mg/dl	166(140-182)	177(167-268)	170(115-170)	163(139-266)	186(164-269)	101(77-186)	155(91-192)
DNAAs, u/dl	-	-	206(174-206)	-	450(114-960)	160(123-199)	196(160-232)
Nucleosomas	-	-	-	-	360(66-865)	7.8(7-27)	-
C3, mg/dl	108(95-125)	-	-	128(47-175)	57(39-74)	-	-
C4, mg/dl	23(17-40)	-	-	33(4-53)	8(7-11)	115(100-136)	-
PR3, u/ml	34(6-133)	10.6(6.1-73.4)	2(50)	-	-	17(13-30)	-
MPO u/ml	3.3(3.0-6.0)	3.7(3.2-3.9)	2(50)	-	-	-	-
BVASv3	19(14-23)	7(5-18)	0	-	-	-	-
BVAS Renal	12(10-12)	0	0	-	-	-	-
Clasificación serológica							
PR3	14(70)	4(80)	2(50)	-	-	-	-
MPO	3(15)	1(20)	2(50)	-	-	-	-
AMBAS	1(5)	-	-	-	-	-	-
NEGATIVA	1(5)	-	-	-	-	-	-
Anti-MBG	1(5)	-	-	-	-	-	-

ANCA: Anticuerpo anticitoplasma de neutrófilo; VAAr: Vasculitis asociada a ANCA con actividad renal, VAAAs: Vasculitis asociada a ANCA con actividad sistémica, VAAi: Vasculitis asociada a ANCA inactiva, NL nefritis lúpica: NLI: nefritis lúpica inactiva, TFG: tasa de filtrado glomerular, IPC: índice proteinuria /creatinuria, PCR: proteína C reactiva, VSG: velocidad de sedimentación globular; Hb: hemoglobina, BVASv3: Birminham Vasculitis Activity Score versión 3.

Tabla 3. Características histopatológicas

	VAAr (N=20)	VAAAs (N=5)	VAAi (N=4)	NTI (N=8)	NL activa (N=10)	NL inactiva (N=5)	Donadores (N=5)
PATOLOGÍA							
Biopsia	15(75)	3(60)	4(100)	8(100)	10(100)	5(100)	5(100)
Glomérulos	17(12-21)	19(19-23)	14(5-20)	13(8-23)	19(13-24)	-	-
Glomérulos	37(23-67)	-	-	13(0-17)	3.9(0-9.9)	-	-
Con EG							
Glomérulos	16(4-21)	-	-	0(0-8)	0(0-26)	-	-
Con ES							
Atrofia tubular	30(20-60)	-	-	40(25-40)	15(9-21)	-	10(0-10)
Fibrosis	30(20-50)	-	-	40(20-50)	10(5-15)	-	10(0-10)
Intersticial							
Índice de	-	-	-	-	11(10-12)	-	-
Actividad							
Índice de	-	-	-	-	4(3-5)	-	-
cronicidad							

ANCA: Anticuerpo anticitoplasma de neutrófilo; VAAr: Vasculitis asociada a ANCA con actividad renal, VAAAs: Vasculitis asociada a ANCA con actividad sistémica, VAAi: Vasculitis asociada a ANCA inactiva, NL nefritis lúpica: NLi: nefritis lúpica inactiva, TFG: tasa de filtrado glomerular, IPC: índice proteinuria /creatinuria, PCR: proteína C reactiva, VSG: velocidad de sedimentación globular; Hb: hemoglobina, BVASv3: Birminham Vasculitis Activity Score versión 3.

8.2 sCD163 URINARIO ES UN BUEN BIOMARCADOR PARA DIAGNOSTICAR ACTIVIDAD RENAL DE VASCULITIS

Los niveles de sCD163 se normalizaron a creatinina urinaria. Los niveles normalizados de sCD163 urinarios se encontraron significativamente más elevados (Figura 6) en los pacientes con actividad renal de VAA (3.5ng/mg, RIC 1.8-20 ng/mg) con respecto a los pacientes con VAA inactiva (0.2 ng/mg RIC 0.1-0.3 ng/mg) y VAA con actividad sistémica pero sin actividad renal (0.4 ng/mg, RIC 0.03-1.1). Utilizando como punto de corte 2 pg/mg, la sensibilidad y especificidad es de 80% y 100% respectivamente para diagnosticar actividad renal de vasculitis, no se identificaron falsos positivos en los grupos VAA inactiva y VAA con actividad extrarrenal.

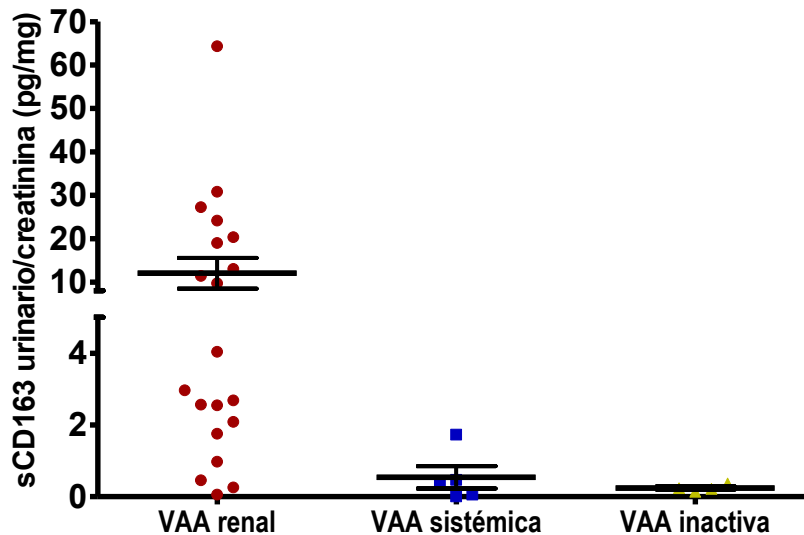


Figura 6. Niveles urinarios de sCD163s.

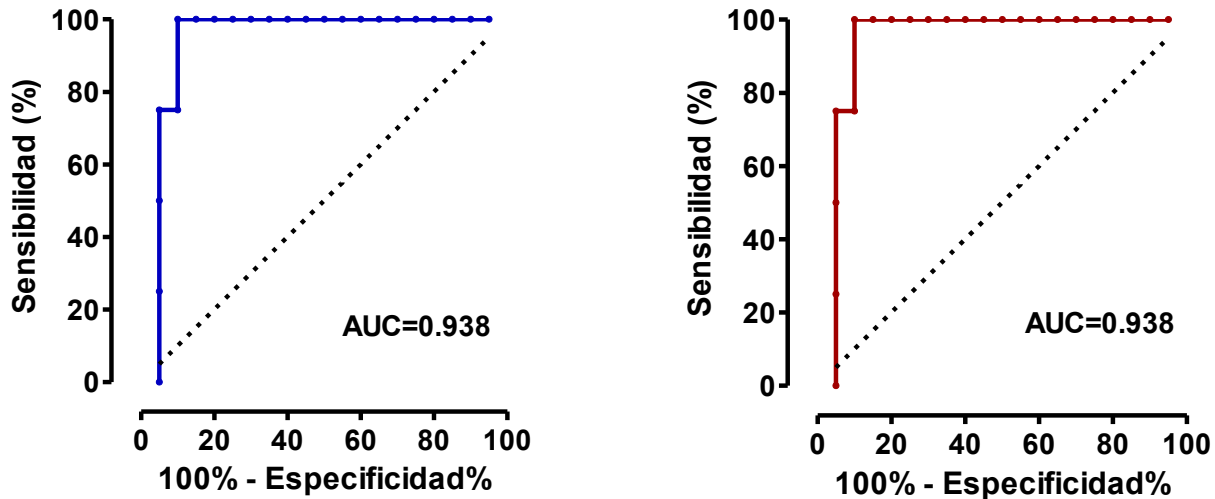


Figura 7. Curvas ROC para diferenciar VAA activa de VAA sistémica (izquierda) y de VAA inactiva (derecha)

El área bajo la curva (AUC) para diferenciar VAA activa de VAA con actividad sistémica no renal fue de 0.938. un valor de corte mayor de 0.42 tuvo una sensibilidad del 100% y especificidad de 90% para diferenciar pacientes con actividad renal de aquellos con actividad exclusivamente sistémica (Figura 7).

El área bajo la curva (AUC) para diferenciar VAA activa de VAA inactiva fue igualmente de 0.938. El mismo valor de corte mayor de 0.42 tuvo una sensibilidad de 100% y especificidad de 90% para diferenciar pacientes con actividad renal. No se determinaron niveles de sCD163 urinario en los pacientes con VAA con actividad renal después de recibir tratamiento de inducción, sin embargo 6 de los pacientes con VAA ya habían recibido al menos 1 dosis de metilprednisolona al momento de recolección de orina.

8.3 sCD 163 URINARIO ES MEJOR BIOMARCADOR DE ACTIVIDAD RENAL QUE LOS BIOMARCADORES CLÁSICOS

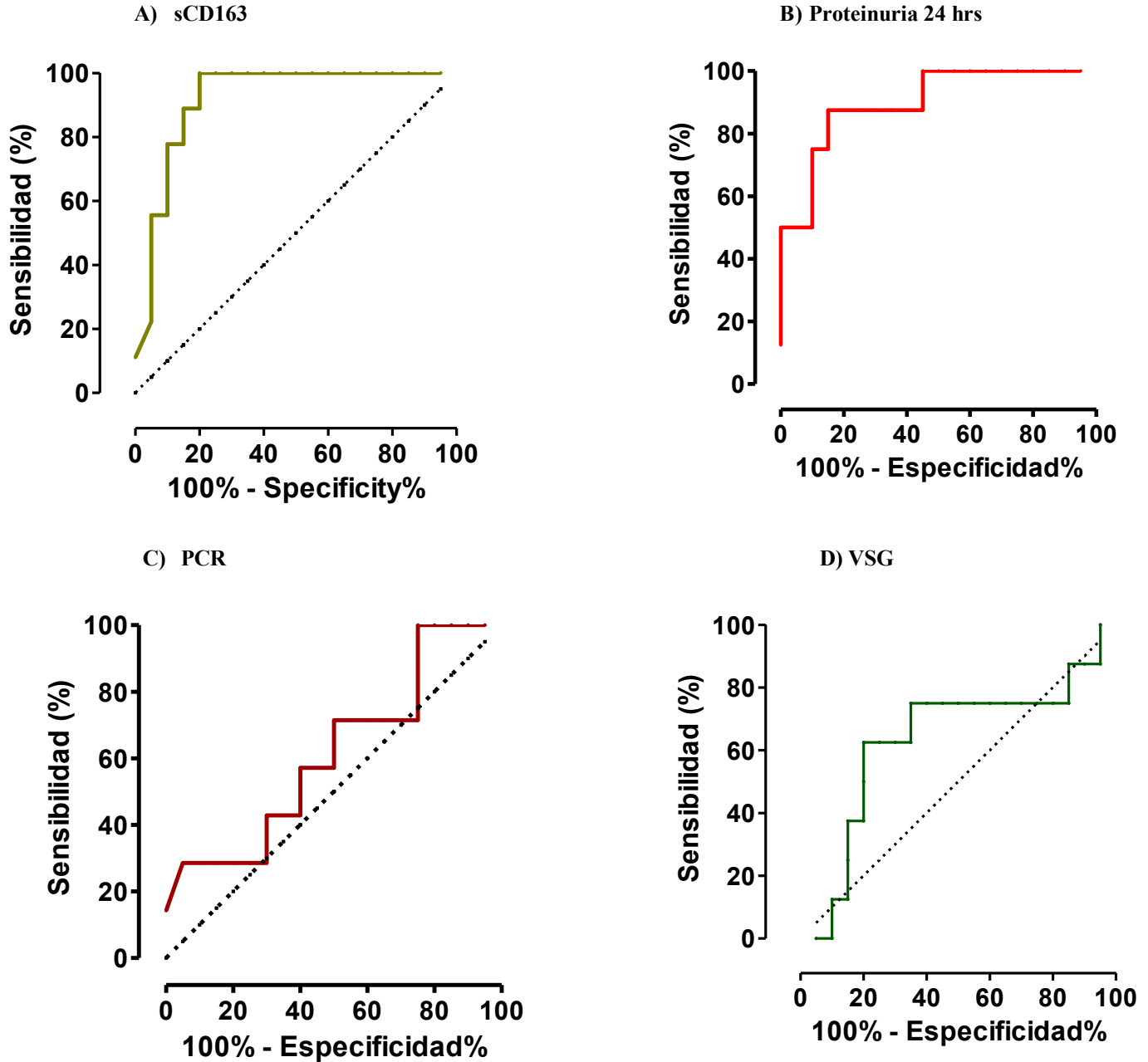


Figura 8. (A, B, C y D) Curvas ROC para diferenciar VAA activa a nivel renal de VAA inactiva a nivel renal, utilizando sCD163 (A), proteinuria de 24 hrs (B), PCR (C) y VSG (D)

El área bajo la curva (AUC) de sCD163 para diferenciar VAA activa de VAA inactiva a nivel renal, fue de 0.919. Un valor de corte mayor de 1.75 ng/mg tuvo una sensibilidad del

100% y especificidad de 90% para diferenciar pacientes con actividad renal de aquellos sin actividad renal (figura 8A), lo cual fue superior comparado a lo observado con los biomarcadores de inflamación, en donde se observó un AUC de PCR y VSG de 0.611 y 0.631, respectivamente (figura 8B yC). El AUC de proteinuria fue de 0.900, utilizando como valor de corte de 0.500 g/g tuvo una sensibilidad y especificidad de 88 y 85%, respectivamente.

8.4 sCD163 ESTÁ SIGNIFICATIVAMENTE MÁS ALTA EN NEFRIITIS LÚPICA ACTIVA QUE EN OTRAS NEFROPATÍAS

Se midió sCD163 en controles en otras enfermedades que pudieran cursar con infiltración renal por macrófagos y en donadores sanos (Figura 9). Los niveles más elevados se encontraron en el grupo de NL activa, los cuales fueron significativamente más altos que en los casos de VAA con actividad renal, los títulos medios 66.3 ng/mg (RIC 52-182) vs 3.5(RIC 1.8-20). Los valores de sCD163 en NL inactiva fueron de 1 ng/mg (RIC 0.3-3.8). Los títulos de sCD163 tuvieron un 100% de sensibilidad y especificidad para diferenciar NL activa de inactiva con un punto de corte mayor de 6.4 ug/mg.

En NTI granulomatosa, en donde grados variables de infiltración por macrófagos son esperados, los niveles de sCD163 tuvieron una media de 3.0ng/mg. Este grupo fue heterogéneo, observándose niveles más altos en pacientes con NTI por IgG4. Cabe destacar otras etiologías que tuvieron niveles elevados como el caso de la NTI por tuberculosis.

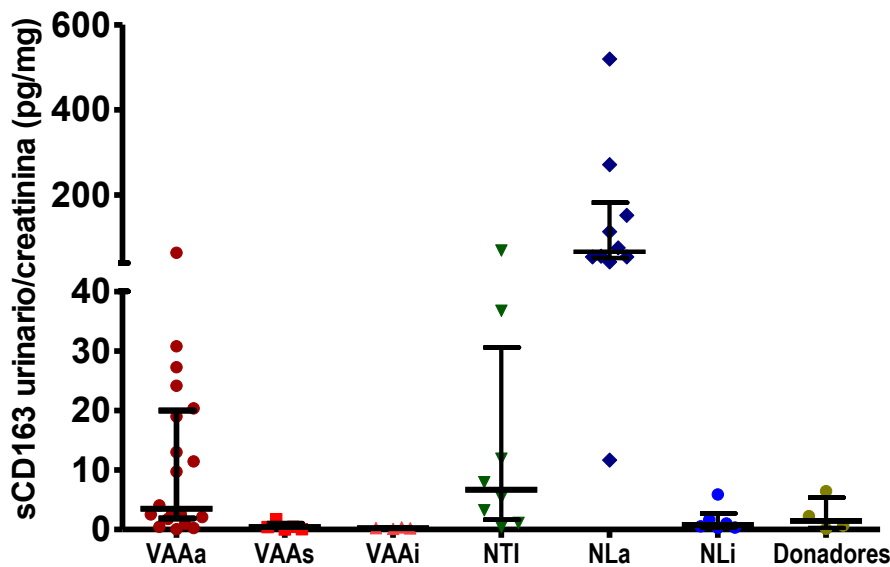


Figura 9. Los niveles más elevados de sCD163 fueron detectados en pacientes con NL activa, con sensibilidad y especificidad para diferenciarla de NL inactiva de 100% respectivamente

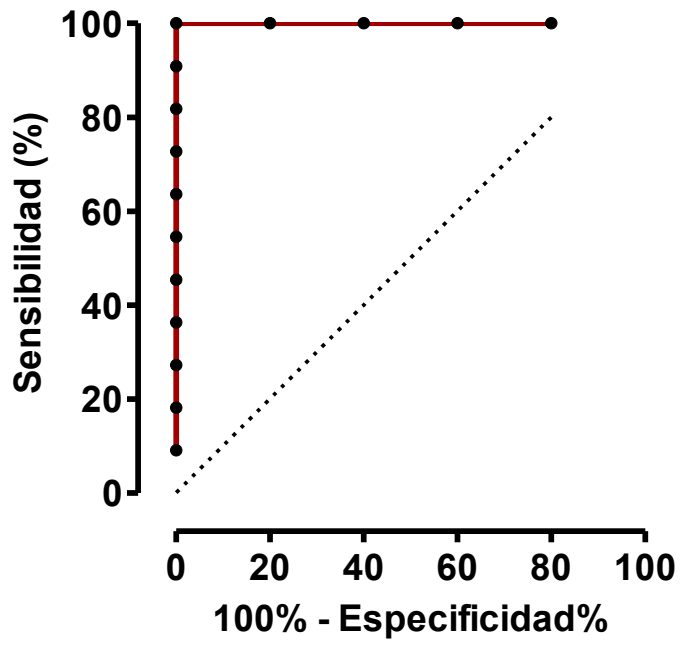


Figura 10. Curva ROC para diferenciar nefritis lúpica activa de inactiva mediante los niveles de Scd163.

9. DISCUSIÓN

Los biomarcadores proporcionan un enfoque dinámico para comprender la patogenia, guiar decisiones terapéuticas y para ayudar en el diagnóstico de enfermedades específicas. Como se demostró en el estudio de O'Reilly y colaboradores (38), las principales células implicadas en la formación de semilunas glomerulares en VAA son los macrófagos, los cuales expresan CD163 y pueden liberarlo directamente al espacio urinario, de ahí el fundamento de que este biomarcador pueda indicar actividad renal en VAA.

En este estudio demostramos que los niveles de sCD163 urinarios están significativamente más elevados en los pacientes con actividad renal de VAA con respecto a los pacientes VAA inactiva (3.5 vs 0.2 ng/mg), controles sanos y algunas enfermedades control. No existe diferencia estadísticamente significativa entre los niveles de sCD163 entre VAA inactiva y la VAA con actividad extrarrenal, esto a pesar de que estos pacientes tuvieran actividad grave como hemorragia alveolar, lo cual sugiere que sCD163 es un marcador específico de actividad renal. Los niveles de sCD163 cumplen con el objetivo de este estudio, que es distinguir la actividad renal en pacientes con VAA.

Sin embargo, sCD163 no es específica de VAA, por lo tanto no puede con la información actual recomendarse como herramienta diagnóstica para diferenciar distintas enfermedades renales. Como demostramos, otras enfermedades pueden cursar con elevación de este biomarcador, por ejemplo, la enfermedad que mostró mayor elevación de los niveles de sCD163 fue la NL activa, lo que evidencia el papel fundamental de los macrófagos en la patogenia de esta enfermedad. Interesantemente, y aunque no fue el objetivo del presente estudio, otra conclusión importante es que los niveles de sCD163 constituye un biomarcador con una sensibilidad y especificidad de 100% para diferenciar NL activa y NL inactiva.

Es importante mencionar la diferencia que existió en niveles de sCD163 entre VAA activa y NL activa, donde los segundos tuvieron títulos mucho mayores del biomarcador en la orina. En parte dicha diferencia puede ser explicada porque la totalidad de pacientes con NL eran pacientes muy activos, con una media de índice de actividad de 11 (10-12), por otro lado, aunque la media de BVAS renal de los pacientes VAA con actividad renal fue de 12 (puntaje máximo de 12), 6 de los pacientes habían recibido previamente al menos 1 bolo de metilprednisolona.

Nuestro estudio es el primero que evalúa otras enfermedades en donde está demostrado la importancia de los macrófagos, como es la nefritis tubulointersticial crónica granulomatosa, secundaria a IgG4 y tuberculosis, sin embargo, los niveles de sCD163 se encontraron solo moderadamente elevados con respecto a controles sanos, algunas explicaciones a dicha observación es que daño renal estas patologías puede estar mediado por otra subpoblación de macrófagos y que el daño glomerular mediado por macrófagos no es tan importante como el daño tubulointersticial, estas observaciones conviene investigarlas en estudios posteriores.

Nuestro estudio tiene varias limitaciones: 1) el estudio fue transversal y el tamaño de muestra es pequeño, dado que se trató de un estudio exploratorio por lo que deberán corroborarse los hallazgos en estudios longitudinales; 2) los pacientes con VAA en su mayoría son PR-3-ANCA o tienen diagnóstico de GPA, lo cual fue debido a la menor incidencia de MPO-ANCA en nuestro país, por lo que la extrapolación a vasculitis mediada por MPO puede estar limitada, sin embargo, no existe evidencia que la infiltración histológica por macrófagos sea distinta en pacientes con positividad para MPO y PR3; 3) algunos de los pacientes habían recibido tratamiento inmunosupresor previo a la recolección de la muestra, al momento es desconocido el curso de esta molécula en respuesta a la inmunosupresión por lo que desconocemos si esto pudo haber influido en el título del biomarcador 4) algunos pacientes que se incluyeron como VAA con actividad renal estaban clasificados como VAA con actividad extrarrenal y al realizar criterios BVAS en donde se demostró que tenían al menos BVAS renal de 1, fueron reclasificados como VAA con actividad renal. 5) Finalmente no se midió sCD163 posterior al inicio de inmunosupresión, lo cual tendría mucha utilidad tanto en VAA con en NL si se demuestra que los niveles de sCD163 disminuye cuando se alcanza remisión, ya que una práctica es repetir la BRP postratamiento, sobretodo sin el curso clínico no es el esperado, con todas la potenciales complicaciones que esto implica

10.CONCLUSIÓN

En el presente estudio, se demuestra claramente que los niveles de sCD163 urinarios son de utilidad para diferenciar VVA con actividad renal de VAA inactiva y con actividad sistémica pero sin actividad renal. Es importante mencionar que sCD163 es un marcador específico de macrófagos pero no es específico de enfermedad, por lo tanto, no se debe utilizar en el diagnóstico de actividad renal en pacientes sin diagnóstico conocido de VAA. Interesantemente, la enfermedad que muestra niveles significativamente más altos de sCD163 urinarios es la NL activa y aunque no fue el objetivo del presente estudio se puede concluir que los niveles de sCD163 urinarios tienen una sensibilidad y especificidad de 100% para diferenciar NL activa de NL inactiva.

sCD163 puede estar elevado en otras enfermedades como tuberculosis renal e IgG4, hacen falta más estudios para demostrar la utilidad de sCD163 urinario en el diagnóstico de estas patologías.

11.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Moroni G, Ponticelli C. Rapidly progressive crescentic glomerulonephritis: Early treatment is must. *Autoimmunity Reviews* 13 (2014) 723-729
2. Smeets B, Uhling S, Fuss A, et al. Tracing the origin of glomerular extracapillary lesión from parietal cells. *J Am Soc Nephrol* 20 (2009) 2604-2615
3. Dammacco F, Battaglia S, Gesualdo C. et al. Goodpasture's disease: a report of ten cases and review of the literatura. *Autoimmun Rev* 12 (2013) 1101-1108
4. Shena F, Survey of the Italian Registry of Renal Biopsies. Frequency of the renal diseases for 7 consecutive years. The Italian Group of Renal Immunopathology. *Nephrol Dial Transplant* 12, (1997) 418-426
5. Jennette J, Falck R, Bacon P, et al. 2012 revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of vasculitides. *Arthritis Rheum* 65 (2013) 418-426
6. Sinico R, Di Toma L, Radice A. Renal Involvement in anti-neutrophil cytoplasmic autoantibody associated vasculitis. *Autoimmunity Reviews* 12 (2013) 477-482
7. Yates M, Watts R. ANCA-associated vasculitis. *Clinical Medicine* 17 (2017) 60-64
8. Jennette J, Nachman P. ANCA Glomerulonephritis and Vasculitis. *Clin J Am Soc Nephrol* 12 (2017) 1680-1691
9. Watts R, Mahr A, Mohammad A, et al. Classification, epidemiology and clinical subgrouping of antineutrophil cytoplasmic antibody (ANCA)-associated vasculitis. *Nephrol Dial Transplant* 30, (2015) i14-22
10. Robson J, Doll H, Suppiah R, et al. Damage in the anca-associated vasculitides: Long-term data from the European vasculitis study group (EUVAS) therapeutic trials. *Ann Rheum Dis* 74 (2015) 177-184.
11. Jennette J, Falk r. Pathogenesis of antineutrophil cytoplasmic autoantibody-mediated disease. *Nat Rev Rheumatol* 10. (2014) 463-473.
12. Xiao H, Schreiber A, Heeringa P. et al. Alternative complement pathway in the pathogenesis of disease of mediated by anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies. *Am J Pathol* 170 (2007) 52-64
13. Cornec D, Cornec G, Fervenza et al. ANCA-associated vasculitis-clinical utility of using ANCA specificity to classify patients. *Nat Rev Rheumatol* 12 (2016) 570-579
14. Jennette J, Thomas D. Pauci-immune and antineutrophil cytoplasmic autoantibody glomerulonephritis and vasculitis. In *Heptinstall's Pathology of the kidney* (2007) 643-674
15. Berden A, Ferrairio F, Hagen E et al. Histopathologic classification of ANCA-associated glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 21 (2010) 1628-1636
16. Harper L, Morgan M, Walsh M. Pulse versus daily oral cyclophosphamide for induction of remission in ANCA-associated vasculitis: long-term follow-up. *Ann Rheum Dis* 71 (2012) 955-960
17. Jones RB, Tervaert J, Hauser T. European Vasculitis Study Group: Rituximab versus cyclophosphamide in ANCA-associated renal vasculitis. *N Engl J Med* 363 (2010) 211-220.
18. Mc Gregor J, Negrete R, Poulton C. et al. Adverse events and infectious burden, microbes and temporal outline from immunosuppressive therapy in antineutrophil

- cytoplasmic antibody-associated vasculitis with native renal function *Nephrol Dial Transplant* 30 (2015) 171-181
19. Jones R, Tervaert J, Hauser T, et al. European Vasculitis Study Group: Rituximab versus cyclophosphamide in ANCA-associated renal vasculitis. *N Engl J Med* 363, (2010) 211–220,
 20. Stone J, Merkel P, Spiera R, et al; RAVE-ITN Research Group: Rituximab versus cyclophosphamide for ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med* 363(2010) 221–232 2010
 21. Jayne D, Gaskin G, Rasmussen N, et al. ;European Vasculitis Study Group: Randomized trial of plasma exchange or high-dosage methylprednisolone as adjunctive therapy for severe renal vasculitis. *J Am Soc Nephrol* 18: (2007) 2180–2188
 22. Jayne D, Rasmussen N, Andrassy K, et al;European Vasculitis Study Group: A randomized trial of maintenance therapy for vasculitis associated with antineutrophil cytoplasmic autoantibodies. *N Engl J Med* 349 (2003) 36–44
 23. Hiemstra T, Walsh M, Mahr A, et al ; European Vasculitis Study Group (EUVAS): Mycophenolate mofetil vs azathioprine for remission maintenance in antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis: A randomized controlled trial. *JAMA* 304 (2010) 2381–2388
 24. Guillevin L, Pagnoux C, Karras A, et al; French Vasculitis Study Group: Rituximab versus azathioprine for maintenance in ANCA-associated vasculitis. *N Engl J Med* 371 (2014) 1771–1780.
 25. Cornec D, Cornec E, Fervenza F. ANCA-associated vasculitis- clínica utility of using ANCA specificity to classify patients *Nature Reviews*. 28. (2016) 1-10.
 26. Wiik A. What you should know about PR3-ANCA. An introduction. *Arthritis Res* 2 (2000) 252–254
 27. Flores L, Zazueta B. Ruta y retos diagnósticos en vasculitis primarias. *Reumatol Clin* 7 (2011) S1-S6
 28. Seo P, Min Y, Holbrook J, et al. Damage caused by Wegener’s granulomatosis and its treatment: prospective data from the Wegener’s Granulomatosis Etanercept Trial (WGET). *Arthritis Rheum* 52 (2005) 2168–2178
 29. Merkel P. Defining disease activity and damage in patients with small-vessel vasculitis. *Cleveland Clinic Journal of Medicine* 79 (2010) S11-S15
 30. Stone J, Hoffman G, Merkel P, et al. A disease-specific activity index for Wegener’s granulomatosis: modification of the Birmingham Vasculitis Activity Score. *International Network for the Study of the Systemic Vasculitides (INSSYS)*. *Arthritis Rheum* 44 (2001) 912–920.
 31. Mosser D, Edwards J. Exploring the full spectrum of macrophage activation. *Nat Rev Immunol* 8 (2008) 958 –969
 32. Moller H, Peterslund N, Graversen J y colaboradores. Identification of the hemoglobin scavenger receptor/CD163 as a natural soluble protein in plasma. *Blood* 99 (2002) 378–380
 33. Etzerodt A, Moestrup S. CD163 and inflammation: biological, diagnostic, and therapeutic aspects. *Antioxidants and redox signaling*. 18 (2013) 2352-2363
 34. Law S, Micklem K, Shaw y colaboradores. A new macrophage differentiation antigen which is a member of the scavenger receptor superfamily. *Eur J Immunol* 23 (1993) 2320–2325

35. Hwang P, Greer J. Interaction between hemoglobin subunits in the hemoglobin. Haptoglobin complex. *J Biol Chem* 255 (1980) 3038-3041
36. Moller J, Tesar V, Little M. Urine sCD163: a window onto glomerular inflammation. *Nephrol Dial Transplant* 31 (2016) 1970-1972
37. Endo N, Tsuboi N, Furuhashi K y colaboradores. Urinary soluble CD163 level reflects glomerular inflammation in human lupus nephritis. *Nephrol Dial Transplant* 31 (2016) 2023–2033
38. O'Reilly P, Wong L, Kennedy C y colaboradores. Urinary soluble CD163 in active renal vasculitis. *J Am Soc Nephrol* 27 (2016) 2906-2916