



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

---

---

Facultad de Medicina

División de Estudios de Posgrado

Hospital General de México "Dr. Eduardo E. Liceaga"

Servicio de Nefrología

**TITULO**

ANÁLISIS DE LA CUANTIFICACIÓN URINARIA DEL COMPLEJO DE  
ATAQUE DE MEMBRANA (C5B-C9) EN PACIENTES CON  
GLOMERULOESCLEROSIS FOCAL Y SEGMENTARIA

**T E S I S**

Que para obtener el Título de Especialista en Nefrología

**PRESENTA**

Dr. Juan Camilo Trimiño Monroy

**TUTOR**

Dra. Lucia Monserrat Pérez Navarro

**ASESOR**

Dr. Rafael Valdez Ortiz

Ciudad de México, CDMX. 2019



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

***A Dios. A mi familia***

***Y a todos los que han hecho posible este logro...***

# TABLA DE CONTENIDO

<b>Resumen</b> .....	<b>1</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>2</b>
<b>Antecedentes y Marco Teórico</b> .....	<b>3</b>
Glomeruloesclerosis focal segmentaria .....	3
Definición .....	3
Epidemiología .....	3
Manifestaciones clínicas .....	4
Clasificación.....	4
Fisiopatología.....	5
Factores circulantes en la patogénesis de la glomeruloesclerosis focal y segmentaria.....	6
Sistema del complemento y su participación en la glomeruloesclerosis focal y segmentaria ..	7
Activación del complemento en enfermedad proteinúrica .....	7
Evidencias sobre la participación de mac en pacientes con glomeruloesclerosis focal y segmentaria .....	9
<b>Planteamiento del problema</b> .....	<b>11</b>
<b>Pregunta de investigación</b> .....	<b>12</b>
<b>Justificación</b> .....	<b>12</b>
<b>Hipótesis</b> .....	<b>12</b>
<b>Objetivos</b> .....	<b>13</b>
General .....	13
Específicos.....	13
<b>Métodos</b> .....	<b>14</b>
Población estudio.....	14
Criterios de selección.....	14
Diseño del estudio .....	14
Análisis de las muestras (análisis de c5b-9).....	15
Análisis histológico.....	15
Análisis estadístico .....	16

<b>Resultados .....</b>	<b>17</b>
<b>Discusión.....</b>	<b>27</b>
<b>Conclusiones .....</b>	<b>30</b>
<b>Bibliografía .....</b>	<b>31</b>

## RESUMEN

**Antecedentes:** La glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GEFS) es una de las glomerulopatías más frecuentes causa de síndrome nefrótico en el 20% de los niños y 40% de los adultos. El complejo de ataque a la membrana (MAC), representa la etapa final de activación del sistema del complemento (C5b-9). Se ha reportado activación del complemento en los pacientes con GEFS asociado con el grado de la severidad.

**Métodos:** Realizamos un estudio longitudinal observacional de pacientes que fueron diagnosticados con GEFS entre enero del 2014 a mayo del 2016. Se analizaron parámetros clínicos (edad, sexo, IMC) y bioquímicos (urea, creatinina, albúmina, colesterol, triglicéridos, hemoglobina, tasa de filtrado glomerular estimada por CKD-EPI (eTFG), proteinuria y niveles de complejo de ataque de membrana urinaria (UMAC) al momento del diagnóstico. Se dio tratamiento indicado de acuerdo con la patología de base y se hicieron mediciones bioquímicas al final del seguimiento (6 meses).

**Resultados:** Se evaluaron 25 pacientes con GEFS a los que se les tomaron niveles bioquímicos basales y niveles de UMAC. La cuantificación media total de UMAC fue  $1248.57 \pm 780.22$  pg/mL. Al analizarlo junto con las variantes histológicas, se encontró diferencia significativa entre los grupos perihiliar vs punta,  $p=0.03$ ; perihiliar vs colapsante,  $p=0.008$ ; perihiliar vs podocitopatía  $p < 0.01$ ; punta vs colapsante,  $p < 0.001$ ; punta vs podocitopatía  $p=0.01$ ; colapsante vs podocitopatía  $p=0.033$ . La concentración media de UMAC de acuerdo a la ausencia o no de fibrosis mostro diferencias significativas (Sin fibrosis:  $770.1 \pm 579$  vs Con fibrosis:  $1680.31 \pm 490.1$ ,  $p=0.018$ ). De acuerdo a la respuesta al tratamiento se analizaron niveles de UMAC al momento del diagnóstico con diferencias significativas entre grupos ( $p=0.008$ ), y al comparar los pacientes con respuesta completa vs respuesta parcial ( $p=0.040$ ); y respuesta completa y sin respuesta al tratamiento ( $p=0.008$ ). Se realizó correlación entre la TFG basal y final respectivamente (CKD-EPI) y los niveles de UMAC ( $r=-0.356$ ,  $p=0.081$ ) y ( $r=-0.725$ ,  $p < 0.001$ ) respectivamente. Se realizaron curvas ROC para determinar la sensibilidad y especificidad de los niveles de UMAC para encontrar la probabilidad de padecer ERC con CKD-EPI  $< 60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> (**Punto de corte: 1002.5** S=91%; E= 70%; AUC=0.82; VPP= 73%; VPN= 90%; RVP= 3.24; RVN=0.11 ) y CKD-EPI  $< 45$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. (**Punto de corte: 1002.5** S=100%; E=72%; AUC=0.85; VPP= 73%; VPN= 100%; RVP= 3.5; RVN= 0)

**Conclusiones:** Los niveles elevados de UMAC están presentes en las variedades histológicas mas severas. La presencia de fibrosis se relaciona con niveles elevados de UMAC. Niveles elevados de UMAC  $> 1002.5$  ng/dL se presenta en el 100% de pacientes con TFG  $< 45$  ml/min.1.73 m<sup>2</sup> a los 6 meses. Por todo lo anterior nosotros hipotetizamos que UMAC pudiera usarse como biomarcador para predecir falla al tratamiento y predictor de padecer enfermedad renal crónica.

## INTRODUCCIÓN

La glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GEFS) es una de las glomerulopatías más frecuentes con una incidencia mundial anual de siete casos por millón de habitantes, siendo la causa subyacente del síndrome nefrótico en el 20% de los niños y 40% de los adultos (1,2). La incidencia de GSFS se ha incrementado significativamente en los últimos 30 años y representa actualmente entre 20-25% de los diagnósticos de glomerulopatías en pacientes adultos sometidos a biopsia renal (3,4). Histológicamente se caracteriza por lesiones escleróticas que afecta el penacho glomerular, las cuales se agrupan en cuatro subtipos cada uno con diferente variabilidad pronóstica y de respuesta a tratamiento. Se ha reportado que el grado de esclerosis glomerular y fibrosis tubulointersticial, grado de proteinuria o creatinina inicial, podrían determinar la progresión a enfermedad renal crónica terminal (ERCT)(1,5,6).

En pacientes con GEFS, se ha identificado al factor activador del plasminógeno de tipo receptor soluble de uroquinasa (suPAR), como el principal factor de permeabilidad y lesión podocitaria. Se ha propuesto al suPAR como responsable de la contracción de los podocitos y el eventual desprendimiento de la membrana basal glomerular, lo que, en consecuencia, determinará el grado de proteinuria, característica clínica fundamental, en la mayoría de los casos GEFS. A pesar de lo anterior, actualmente no existe consenso respecto al papel etiopatogénico que juega el suPAR, debido a que la presencia de niveles elevados de suPAR no siempre se ha asociado con el grado de proteinuria (7), lo que sugiere la presencia de otros posibles mecanismos etiopatogénicos implicados con el desarrollo y progresión de la esclerosis glomerular (8).

El complejo de ataque a la membrana (UMAC), representa la etapa final de activación del sistema del complemento (C5b-9), se ha reportado que la activación del complemento se encuentra presente en los pacientes con GEFS asociado con el grado de la severidad (9–11). A pesar de que se ha evaluado la presencia de UMAC en pacientes con GEFS, hasta el momento, la evidencia que se tiene solo se ha hecho en estudios experimentales y reportes de casos, con resultados no concluyentes. Con base a lo anterior, consideramos necesario conocer el papel de UMAC y su relación con la clasificación morfológica y respuesta a tratamiento en una cohorte de pacientes con GEFS.

# ANTECEDENTES Y MARCO TEÓRICO

## GLOMERULOESCLEROSIS FOCAL SEGMENTARIA

### DEFINICIÓN

La Glomeruloesclerosis Focal y Segmentaria (GEFS) es una lesión morfológica de daño glomerular que se caracteriza por lesiones escleróticas en los glomérulos, la cual puede ser focal, que incluye el 50% de los glomérulos afectados, o segmentaria, que significa el 50% del penacho glomerular afectado. Esta lesión glomerular puede presentarse como forma primaria o secundaria. (3)

### EPIDEMIOLOGÍA

La GEFS primaria tiene una incidencia mundial anual de siete casos por millón de habitantes, siendo la causa de síndrome nefrótico en el 20% de los niños y 40% de los adultos. Esta incidencia ha ido en aumento durante los últimos 30 años, representando actualmente el 20 - 25% de los diagnósticos de glomerulopatías en pacientes adultos a quienes se les practicó biopsia renal. (1)

Cuando la GEFS se acompaña de proteinuria masiva al momento de la presentación, el 50% de los casos progresará a enfermedad renal crónica terminal (ERCT) en los siguientes 3 a 8 años, asociándose la GEFS al 4% de todos los casos de ERCT. (1)

En Estados Unidos la GEFS representa alrededor del 4% de las causas de ERCT muy por encima de otras glomerulopatías como la Nefropatía Membranosa (0.4%) y la Nefropatía por IgA (0.3%). (12) Mientras que, en México la ERC destaca dentro de las primeras 10 causas de muerte y aunque no se han publicado estudios para conocer la epidemiología nacional de la GEFS un análisis retrospectivo de un centro hospitalario en el occidente de México reportó a la GEFS como la glomerulopatía más frecuentemente diagnosticada (47% de los casos). (13). En el Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga, la GEFS constituye la glomerulopatía más frecuentemente diagnosticada en biopsias de adultos realizadas. Hasta este momento, sin embargo, no se cuenta con estudios publicados que plasmen registros de la situación epidemiológica de esta entidad.



## MANIFESTACIONES CLÍNICAS

La GEFS se presenta con síndrome nefrótico como manifestación principal en el 54 - 72% de los casos al momento del diagnóstico. En una Cohorte prospectiva de 281 pacientes con GEFS primaria las principales manifestaciones clínicas encontradas fueron: proteinuria nefrótica (78%), hipertensión (36 - 63%), hematuria microscópica (29% -94%) e insuficiencia renal con creatinina sérica >1.3 mg/dL (48% -59%) (14)

## CLASIFICACIÓN

La GEFS puede clasificarse en seis categorías etiológicas principales: GEFS primaria, GEFS asociada a virus, GEFS asociada a toxinas o medicamentos, GEFS adaptativa, GEFS asociada a APOL1, GEFS Genética (15) (Figura 1).

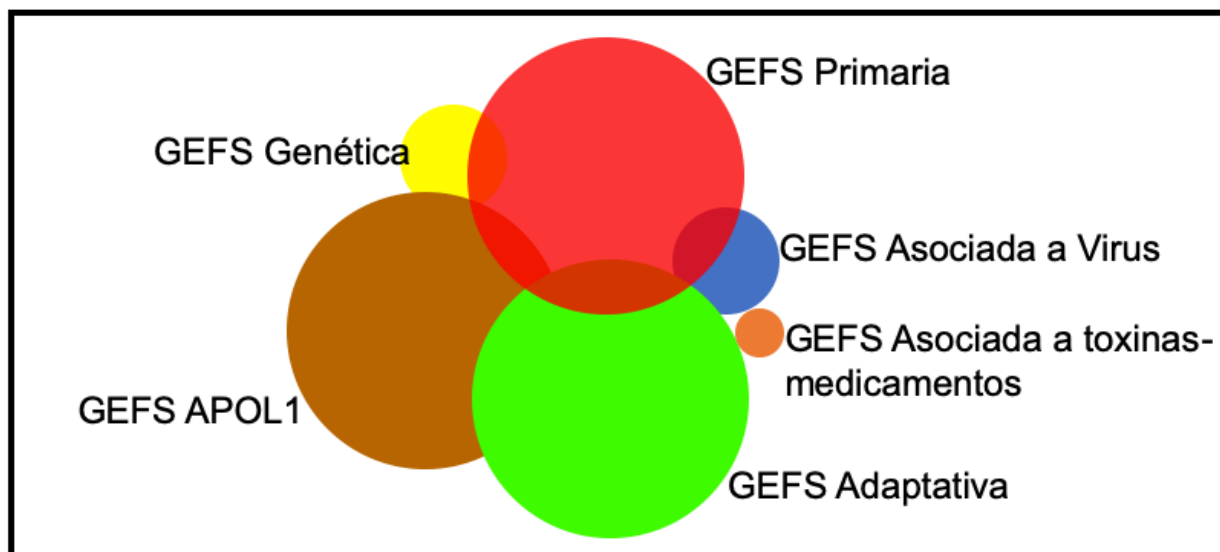


Figura 1. Clasificación etiológica de la GEFS. Las 6 formas de GEFS

Adaptado de: Rosenberg AZ, Kopp JB. Focal segmental glomerulosclerosis. Clin J Am Soc Nephrol. 2017;12(3):502-17.

Por otro lado, la GEFS se puede clasificar de acuerdo con su morfología (Clasificación de Columbia): variedad punta, variedad colapsante, variedad perihiliar, variedad NOS y variedad celular. (2) (Tabla 1) De igual manera podemos encontrar podocitopatías sin esclerosis definida por patrón de alteraciones mínimas y que al realizar estudio de microscopía electrónica se observó obliteración de procesos podocíticos sin podocitopenia.

**Tabla 1.** Clasificación morfológica de Columbia de GEFS

NOS	La forma genérica de GEFS. La variante NOS no cumple ningún criterio para ninguna otra variante (descarte) La obliteración de los procesos podocíticos es variable.
PERIHILIAR	Hialinosis perihiliar y esclerosis que involucra la mayoría de los glomérulos con lesiones segmentarias. Las lesiones perihiliares están localizadas en el polo vascular glomerular. En las GEFS adaptativas, usualmente hay hipertrofia glomerular (Glomerulomegalia). La obliteración de procesos podocíticos es relativamente leve y focal, lo que refleja la respuesta heterogénea adaptativa del glomérulo.
CELULAR	Lesiones segmentarias expansibles con hiper celularidad endocapilar, que generalmente incluye células espumosas e infiltrado leucocitario con hiperplasia variable de las células epiteliales glomerulares. Hay obliteración de procesos podocíticos severo.
PUNTA	Lesiones segmentarias que involucran el polo tubular, con adhesión a la salida tubular o confluencia de los podocitos y de células del epitelio tubular. Comparado con otras variantes, esta tiene menos atrofia tubular y fibrosis intersticial. Usualmente tiene obliteración severa de los procesos podocíticos.
COLAPSANTE	Colapso del penacho glomerular con hipertrofia e hiperplasia de las células epiteliales viscerales. Estas células hipertróficas llenan el espacio urinario, que simulan semilunas. Lesión tubular severa y microquistes tubulares son comunes. Usualmente hay obliteración severa de procesos podocíticos

Adaptado de: D'Agati VD, Kaskel FJ, Falk RJ. Focal Segmental Glomerulosclerosis. N Engl J Med. 2011 Dec 22;365(25):2398–411.

## FISIOPATOLOGÍA

El riñón humano adulto contiene 500 a 600 podocitos por glomérulo. Los podocitos adultos son células epiteliales diferenciadas con una capacidad muy limitada para proliferar y, por tanto, la pérdida de podocitos después de una lesión reduce la masa glomerular. (1)

Los estudios morfológicos en animales de experimentación de Wilhelm Kriz en la década de los 90's sentaron las bases para el conocimiento de la patogénesis de la GEFS clásica. Mientras que, estudios en humanos han confirmado que la GEFS que recurre después del trasplante renal habitualmente inicia como una lesión podocítica con atenuación corporal celular, borramiento de procesos podocíticos, formación de pseudoquistes y transformación microvellosa como características morfológicas tempranas. (1)

El podocito puede ser lesionado por una amplia gama de agentes ambientales, entre los que figuran infecciones virales, toxinas, predisposición genética y compuestos séricos específicos (conocidos como factores circulantes de permeabilidad) entre otros agentes.

(1) Posterior a que es lesionado el podocito se desencadena una serie de respuestas estereotipadas tales como: reparación celular (que intenta su restauración funcional) o separación y muerte celular que resulta en disminución del número de podocitos. Estos fenómenos desencadenan mecanismos de reconstitución celular con el objetivo de reparar la célula podocitaria, o bien, perpetuar la disminución de los podocitos, eventos que conllevan a la instauración de la GEFS. (1)

## **FACTORES CIRCULANTES EN LA PATOGÉNESIS DE LA GLOMERULOESCLEROSIS FOCAL Y SEGMENTARIA**

Gran parte de los avances encaminados a desentrañar los eventos fisiopatológicos en la GEFS se han centrado en la identificación de mutaciones genéticas de proteínas de la membrana basal y diafragma de filtración del podocito como mecanismos fisiopatológicos básicos, sin embargo, la identificación de factores circulantes de permeabilidad capaces de inducir la lesión podocitaria ha marcado un cambio en el paradigma. La verdadera identidad de las variantes de enfermedad primaria atribuidas a la presencia de factores circulantes de permeabilidad sigue siendo difícil de caracterizar. (16)

El factor activador del plasminógeno de tipo receptor soluble de uroquinasa (suPAR) se ha convertido en uno de los factores de permeabilidad identificados más estudiados con potenciales implicaciones etiopatogénicas en la GEFS. Se ha propuesto como un responsable de la contracción de los podocitos y el eventual desprendimiento de la membrana basal glomerular lo que se traduce en proteinuria, rasgo básico en la mayoría de los casos primarios de GEFS. (16)

Existen opiniones encontradas respecto al papel de los niveles elevados de suPAR ya que hasta el momento es difícil determinar si en efecto es patógeno o simplemente actúa como un marcador de división de la molécula del activador de plasminógeno de tipo uroquinasa (uPAR), pues se ha observado que en otras situaciones clínicas en las que existen niveles elevados de suPAR no existe enfermedad proteinúrica. Algunos autores postulan que no es un marcador específico de GEFS, debido a que glomerulopatías distintas pueden presentar niveles de suPAR elevados, además, en los casos de recurrencia postrasplante de GEFS los niveles elevados de suPAR no son universales. Mientras que, otros autores han reportado que un hallazgo más consistente en GEFS primaria es la presencia urinaria de suPAR. (16)

Dos terceras partes de los pacientes con GEFS primaria presentan niveles elevados de suPAR. El mecanismo de lesión propuesto es la unión y posterior activación de la integrina  $\alpha 5\beta 3$  en los podocitos por un mecanismo dependiente de lípidos, dando lugar a alteraciones en la morfología y la dinámica del metabolismo de los podocitos, con borramiento de los procesos podocíticos, lo cual se traduce clínicamente en proteinuria, desarrollo de glomeruloesclerosis,

síndrome nefrótico e insuficiencia renal. (7)

Otros factores de permeabilidad descritos son Angiopoetina 4 y Factor de Crecimiento del Endotelio Vascular (VEGF), ambos secretados por el podocito. Una molécula identificada en GEFS primaria es CLC-1 (citoquina similar a cardiotropina tipo-1), un miembro de la familia de la interleucina 6 (IL-6) presente en el plasma de pacientes con enfermedad activa. CLC-1 disminuye la expresión de nefrina en glomérulos y podocitos cultivados. La concentración de CLC-1 en la circulación de pacientes con GEFS recurrentes puede ser de hasta 100 veces mayor que en sujetos normales. (7)

## **SISTEMA DEL COMPLEMENTO Y SU PARTICIPACION EN LA GLOMERULOESCLEROSIS FOCAL Y SEGMENTARIA**

El sistema del complemento es un componente fundamental del sistema inmune innato que funciona como una cascada bioquímica compuesta de aproximadamente 30 proteínas unidas a membrana. (17) La activación de la cascada del complemento puede ser desencadenada por una de las tres vías: la vía clásica, vía alterna y de la lectina. Las tres vías convergen para escindir el componente C3 del complemento que posteriormente inicia la activación de la vía del complemento terminal y la formación del complejo de ataque de membrana (MAC). (17) Una vez que se activa el sistema del complemento, su objetivo es eliminar la invasión de organismos patógenos, tales como bacterias, directamente a través de la formación del MAC o indirectamente por la opsonización y estimulación de fagocitosis. Los productos de la activación de C3 y C4 en la superficie de los patógenos son reconocidos por receptores del complemento CR1 y CR3 presentes en macrófagos y neutrófilos que conducen a la fagocitosis del objetivo opsonizado. La activación del complemento resulta en la producción de pequeñas anafilotoxinas biológicamente activas como son C3a y C5a. Estos componentes del complemento fácilmente difusibles tienen una variedad de funciones, incluyendo la quimiotaxis y liberación de histamina de los mastocitos mediada a través de la unión a receptores específicos. (17)

## **ACTIVACIÓN DEL COMPLEMENTO EN ENFERMEDAD PROTEINÚRICA**

La asociación entre proteinuria, fibrosis tubulointersticial y disminución de la función renal está bien fundamentada, sin embargo, el mecanismo por el cual la enfermedad glomerular causa lesión intersticial es difícil de documentar. (17) Las proteínas del complemento pueden ser filtradas cuando la permselectividad glomerular se deteriora y estas proteínas entran en contacto con el compartimiento tubular. lo cual se ha planteado por la evidencia obtenida de productos de activación del complemento encontrados en la orina de pacientes con enfermedades proteinúricas como Nefropatía Diabética, Nefropatía Membranosa, Nefropatía por IgA y Glomeruloesclerosis Focal y Segmentaria. (17)

Estos fenómenos pueden presentarse por extensión de la actividad del complemento en el glomérulo, sin embargo, productos de activación del complemento pueden encontrarse en enfermedades en las que la activación a nivel glomerular no es una característica principal, por ejemplo, la nefropatía diabética y la GEFS. Esto sostiene que el complemento se activa dentro del compartimiento tubular. (7)

El epitelio tubular activa el complemento en su superficie apical a través de la vía alterna. Existen varias teorías que soportan estas afirmaciones: a) las relacionadas con el pH urinario o producción directa de amoníaco por las células epiteliales estresadas activando directamente C3, b) la existencia de enzimas con actividad convertasa en el borde en cepillo apical del túbulo proximal, el cual se sabe es relativamente deficiente en proteínas reguladoras del complemento, c) la properdina que estabiliza la convertasa de la vía alterna y se une a los glicosaminoglicanos en la superficie apical del epitelio tubular y, d) el factor H que también se une, pero en un sitio diferente, lo que sugiere un equilibrio entre la activación e inhibición del complemento, que pueden ser perturbados en pacientes con proteinuria y en estados de albuminuria asociados con la reducción en la actividad del Factor H. (7)

Cualquiera que sea la explicación, un estado de proteinuria, proporciona una fuente de proteínas del complemento a la superficie de la célula huésped que es incapaz de controlar su activación. (7)

Mosolits y cols, estudiaron pacientes con proteinuria y encontraron una relación espacial y cuantitativa entre los depósitos de MAC renal, el infiltrado de células inflamatorias y la expansión tubulointersticial. Las concentraciones urinarias de MAC se incrementaron en las enfermedades renales proteinúricas y en algunas ocasiones esta concentración se relacionaba con actividad de la enfermedad, además, se observó que había mayor incidencia de complicaciones cuando se presentaban depósitos glomerulares de complejos inmunes. (10)

Se ha reportado que los depósitos de IgM y C3 a nivel glomerular frecuentemente acompañan a GEFS idiopáticas y glomeruloesclerosis secundaria. (18) Por lo anterior, Derek Strassheim y cols., plantearon la hipótesis de que anticuerpos de tipo IgM al unirse a neoepítopes expuestos en el glomérulo después de los insultos no inmunes inducen activación del sistema del complemento. Para comprobar tal hecho, utilizaron tres estrategias diferentes en glomeruloesclerosis inducida por adriamicina, todas ellas destinadas a reducir los depósitos de IgM en los glomérulos, evitando así la activación del complemento a nivel glomerular. Estos hallazgos sugieren que la deposición de IgM en este modelo se debe a la unión específica de IgM a epítopes a nivel glomerular y terapias que agotan las células B-1A productoras de IgM podría evitar la glomeruloesclerosis. (18)

En la GEFS, los depósitos tubulointersticiales de MAC se correlacionan con acumulación de miofibroblastos y proteinuria. A este respecto, Gopala K y cols., mediante un modelo de nefropatía por adriamicina, plantearon la hipótesis de que MAC regula la acumulación de miofibroblastos a nivel renal. Los datos obtenidos sugieren que la ultrafiltración glomerular de los componentes del complemento y la formación intratubular de MAC son promotores de la acumulación de miofibroblastos a nivel peritubular, actuando como un patógeno para el daño tubulointersticial asociado con enfermedades proteinúricas como la GEFS. (19)

## **EVIDENCIAS SOBRE LA PARTICIPACIÓN DE MAC EN PACIENTES CON GLOMERULOESCLEROSIS FOCAL Y SEGMENTARIA**

Los primeros estudios dirigidos a la detección de complejo de ataque de membrana en pacientes con enfermedad glomerular datan de 1986, cuando HG Rus y cols., estudiaron 28 biopsias renales de niños con enfermedades glomerulares a través de inmunofluorescencia indirecta e inmunoperoxidasa para IgG, IgA, IgM, C1q, C3c, C4, fibrinógeno y los neoantígenos del MAC. En sus resultados se detectaron depósitos de MAC en las 2 biopsias correspondientes a pacientes con GEFS y, como dato adicional, estos pacientes presentaron evolución clínica desfavorable en comparación con los que no tenían este tipo de depósitos, incluso con el mismo tipo de glomerulonefritis, concluyendo que, en estos pacientes, el MAC participa en la activación del complemento in situ. (20)

El sistema del complemento es un importante mediador de la lesión glomerular, tanto a través de su atracción de células inflamatorias, como por un efecto de lesión mediada por células sobre la pared del capilar.

A este respecto, en 1985 se publicó otro estudio por D.T. Perkinson, postulando que este efecto puede estar mediado por el componente terminal del sistema del complemento (MAC), tras identificar modelos de lesión glomerular en ratas por inmunofluorescencia para neoantígenos del MAC. Ratas nefrectomizadas unilateralmente, antes de la inducción de la Nefropatía de Heymann (NPH), desarrollaron glomeruloesclerosis segmentaria después de 6 meses de depósito de MAC en las áreas escleróticas. La presencia o ausencia de depósitos glomerulares de MAC en la enfermedad renal experimental se correlaciona bien con el papel patogénico del complemento. (21)

En esta línea de investigación, Yoshiki M y cols., incluyeron 99 pacientes con proteinuria, de los cuales 10 correspondían a GEFS. Sus resultados sugieren que el grado de activación del complemento intratubular se correlaciona con el nivel de proteinuria, tipo de enfermedad glomerular, deterioro de la función renal y acidosis metabólica. (22)

En la nefritis de Heymann pasiva o activa en ratas, los complejos inmunes que se forman en el espacio subepitelial glomerular resultan en la activación del complemento y la excreción urinaria de MAC. Se ha sugerido entonces, que la medición de MAC en la orina puede ser útil en la evaluación de la actividad inmunológica de pacientes con glomerulonefritis primarias. Para ello, James L y col., en su estudio concluyen que: 1) MAC es estable en un amplio intervalo de condiciones de recogida y almacenamiento y 2) Existen dos mecanismos para la formación de MAC: (a) la formación de complejos inmunes a nivel intraglomerular y (b) la proteinuria (generalmente PRU/CRU > 4,0 mg / mg) que aparentemente causa la activación del complemento en las células del epitelio tubular renal. (23)

Otros potenciales marcadores urinarios para GEFS han sido evaluados, tales como proteína unida a retinol urinario, TGF-B, uCD80, miR-192, miR 205, fragmento de alfa 1 AT, sin lograr establecer una asociación firme entre éstos y la evolución de la enfermedad glomerular.(11)

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La GEFS actualmente es considerada la principal glomerulopatía causante de ERCT en Estados Unidos, se ha estimado que hasta un 35% de los pacientes evaluados por síndrome nefrótico pueden padecer GEFS.

Se sabe que esta glomerulopatía es de alta prevalencia en México y se han identificado el grado de proteinuria y la severidad de la fibrosis intersticial como dos componentes que implican alto riesgo de progresión a enfermedad renal crónica terminal. Estudios in vitro han demostrado que la activación intraluminal de la cascada del complemento terminal, que conduce a la formación de MAC, es un mediador relevante de daño intersticial e insuficiencia renal progresiva en enfermedades glomerulares.

A pesar de que se conoce por modelos experimentales el mecanismo de lesión del MAC en la Glomeruloesclerosis Focal y Segmentaria, existe escasa evidencia científica en la que se vincule la expresión del MAC como mediador de daño tubulointersticial y como biomarcador del mismo, además de ser un componente que impacta fuertemente en el pronóstico funcional, y predictor de progresión a ERCT.



## PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la relación entre los niveles de UMAC en pacientes con GEFS, la respuesta al tratamiento y pronóstico a los 6 meses?

## JUSTIFICACIÓN

A pesar de que se ha evaluado la presencia de UMAC en pacientes con GEFS, hasta el momento, la evidencia que se tiene es en estudios experimentales y reportes de casos, con resultados no concluyentes; con base a lo anterior, consideramos necesario conocer el papel de UMAC y su relación con la respuesta a tratamiento y el pronóstico en pacientes con GEFS. Los hallazgos de este estudio nos permitirían determinar si el UMAC tiene la capacidad de predecir el pronóstico y respuesta a tratamiento en los pacientes con GEFS y de esta manera orientar el tratamiento de manera oportuna y eficiente.

## HIPÓTESIS

**Si**, la expresión de MAC se encuentra asociada a fibrosis intersticial y deterioro de la función renal en GEFS, **entonces**, la concentración urinaria de MAC correlacionará de manera positiva con el grado de proteinuria, grado de afección tubulointersticial y tasa de filtrado glomerular al momento del diagnóstico de GEFS y a los 6 meses de seguimiento en pacientes ingresados al servicio de Nefrología del Hospital General de México Eduardo Liceaga.

# **OBJETIVOS**

## **GENERAL**

Evaluar la relación entre las concentraciones urinarias de MAC con el grado de proteinuria, grado de fibrosis intersticial y deterioro de la función renal al momento del diagnóstico histopatológico de Glomeruloesclerosis Focal y Segmentaria en pacientes adultos ingresados al servicio de Nefrología de Hospital General de México Dr. Eduardo Liceaga.

## **ESPECÍFICOS**

- 1) Cuantificar las concentraciones urinarias de MAC a través de una muestra de orina al momento del diagnóstico de Glomeruloesclerosis Focal y Segmentaria.
- 2) Establecer puntos de corte entre las concentraciones de MAC y el grado de proteinuria al ingreso.
- 3) Establecer puntos de corte entre las concentraciones de MAC y los diferentes grados de fibrosis reportados en la biopsia renal.
- 4) Establecer puntos de corte entre las concentraciones de MAC y presencia de ERC (TFG<60).
- 5) Correlacionar concentraciones de MAC con los diferentes estadios de enfermedad renal.

# MÉTODOS

## POBLACIÓN ESTUDIO

Se seleccionaron pacientes que fueron sometidos a biopsia renal durante el periodo de enero del 2014 a mayo del 2016 y con diagnóstico histopatológico de GEFS.

## CRITERIOS DE SELECCIÓN

### Criterios de Inclusión:

- Pacientes mayores de 18 años
- Diagnóstico histopatológico de GEFS.
- Pacientes que aceptaran participar en el estudio.

### Criterios de Exclusión:

- Biopsia renal de injerto
- Biopsias de seguimiento
- Pacientes con otras glomerulopatías.
- Pacientes que no acepten participar en el estudio o que no firmen el consentimiento informado.

### Criterios de Eliminación:

- Pacientes que no pudieron tener un seguimiento
- Pacientes con infecciones activas o recientes (seis semanas previas) al momento de la cuantificación urinaria del C5b-C9.

El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética en Investigación de nuestro Hospital con clave de registro No. DI/16/105B/04/038. Todos los pacientes incluidos, que aceptaron participar en el estudio, firmaron consentimiento informado.

## DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio longitudinal observacional, en el que se evaluaron pacientes que fueron diagnosticados con GEFS durante el periodo enero del 2014 a mayo del 2016. Se analizaron parámetros clínicos (edad, sexo, IMC) y bioquímicos (urea, creatinina, albúmina, colesterol, triglicéridos, hemoglobina, tasa de filtrado glomerular estimada por CKD-EPI (eTFG), proteinuria y niveles

de UMAC) al momento del diagnóstico. Se les dio el tratamiento indicado de acuerdo con la patología de base y se hicieron mediciones bioquímicas al final del seguimiento el cual fue de 6 meses. Se definió como respuesta completa al tratamiento a aquellos pacientes que después de recibir tratamiento, presentaron una proteinuria final de < 300 mg/24 horas; respuesta parcial presencia de proteinuria final entre 3 gr y 300 mg en 24 horas; y sin respuesta al tratamiento en quienes no se identificó cambio en proteinuria (se quedó en el mismo nivel, o incluso aumentó).

## **ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS (ANÁLISIS DE C5B-9)**

Se obtuvo una muestra de orina basal al momento del diagnóstico histopatológico de GEFS y previo a la instauración de tratamiento médico. La muestra (50 ml por paciente) fue recolectada en un frasco estéril, posteriormente se tomaron 10 ml de orina y se centrifugo a 1800 ×g por un periodo de 20 minutos, se tomaron del sobrenadante 500 µl por duplicado y fueron almacenadas a una -20° C, para posteriormente realizar la determinación de MAC. Cada muestra de orina fue analizada utilizando el kit de ELISA (**Human TCC C5b-9 Terminal Complement Complex C5b-9**; No: E-EL-H1753 96T; Elabscience, USA). Las determinaciones se realizaron por duplicado en el laboratorio de la Unidad de Medicina Experimental de la Universidad Nacional Autónoma de México ubicado dentro de las instalaciones del Hospital General de México.

## **ANÁLISIS HISTOLÓGICO**

Las muestras de tejido renal fueron procesadas en parafina y posteriormente teñidas con hematoxilina y eosina, metenammina de plata con técnica de Jones, Masson y PAS, posteriormente analizadas bajo microscopía óptica por dos nefropatólogos cegados certificados quienes definieron glomeruloesclerosis focal y segmentaria como una lesión que afecta un porcentaje del total de los glomérulos (focal) y en algunos segmentos del glomérulo (segmentario). Los subtipos histológicos considerados fueron: 1) **variedad punta**, definida por lesiones esclerosantes segmentarias de predominio en el polo tubular, 2) **variedad colapsante**, definida por colapso segmentario de al menos un asa capilar 3) **variedad NOS**, definida por la presencia de lesiones esclerosantes segmentarias periféricas; y 4) **podocitopatias sin esclerosis** definida por patrón de alteraciones mínimas y que al realizar

estudio de microscopía electrónica se observó obliteración de procesos podocíticos sin podocitopenia.

## **ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para establecer las diferencias entre grupos se aplicó la prueba de chi cuadrada o prueba de t student de acuerdo al tipo de variable, correlación de Pearson o Spearman dependiendo de la distribución de la variable y ANOVA de una vía. Se consideró un valor de  $p \leq 0.05$  bimarinal, así como IC al 95% como estadísticamente significativo. Los datos fueron analizados en el programa estadístico SPSS versión 24.0.10. Se realizaron curvas ROC para determinar el nivel bajo y alto de UMAC y se analizó sensibilidad, especificad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, razón de verosimilitud positiva y razón de verosimilitud negativa.

## RESULTADOS

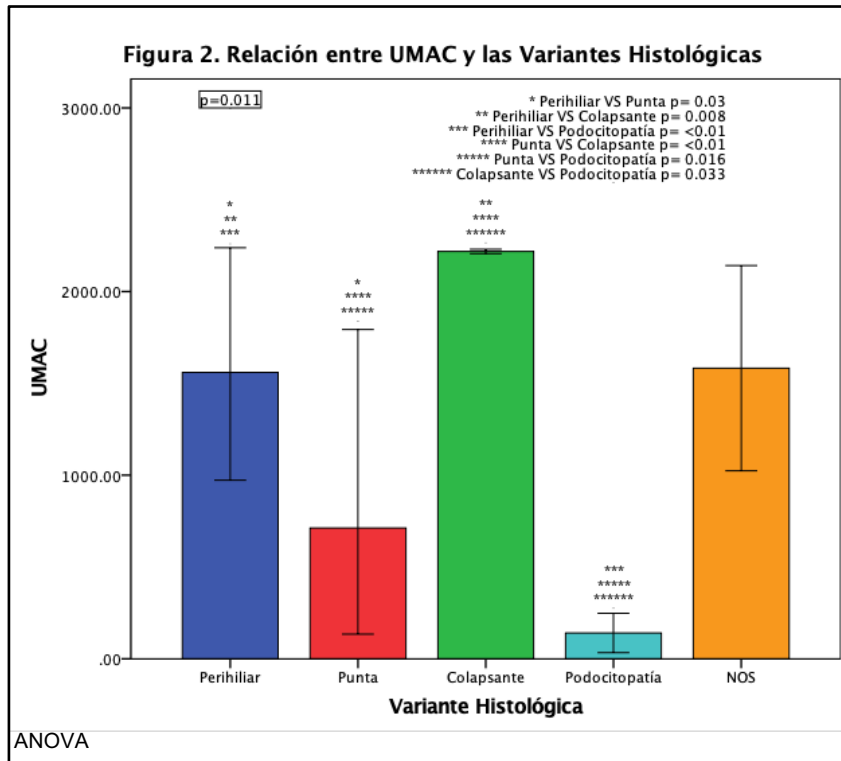
Se evaluaron 25 pacientes con GEFS. La tabla 2 muestra las características generales de la población dividida en género, junto con comorbilidades, niveles bioquímicos basales (incluyendo niveles de UMAC), la distribución por variante histológica y el grado de fibrosis, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.

Tabla 2. Características generales de la población en estudio

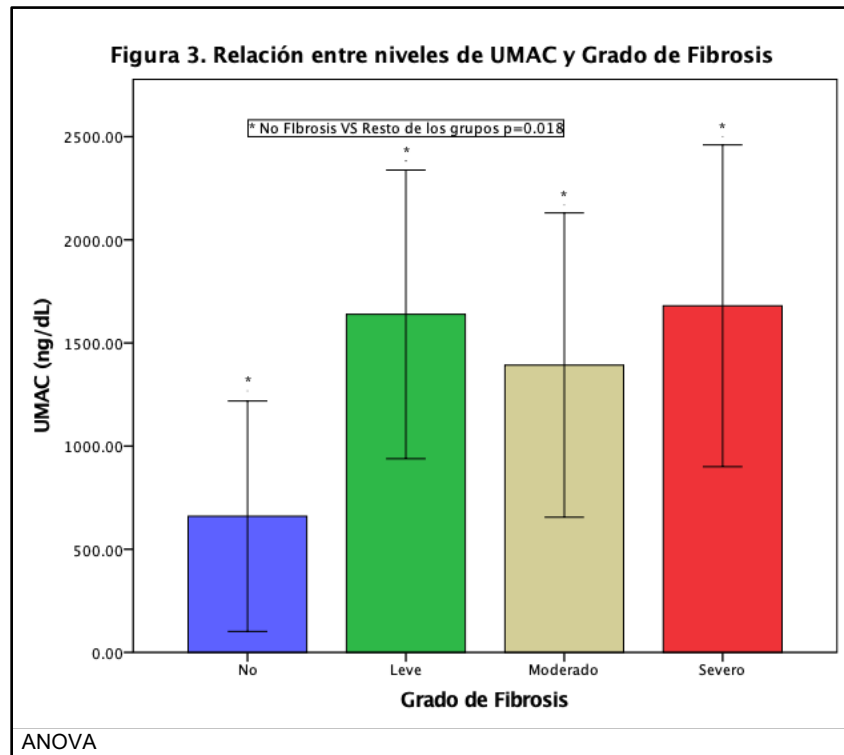
	MUJER	HOMBRE	TOTAL	p	
<b>GÉNERO</b>	6 (24%)	19 (76%)	25		
<b>EDAD</b>	39.17 ± 20.61	32.68 ± 15.83	34.24 ± 16.87	0.502	
<b>IMC</b>	25.36 ± 5.52	26.44 ± 5.71	26.19 ± 5.57	0.688	
<b>P. SISTOLICA</b>	120.00 ± 10.95	119.89 ± 21.45	119.92 ± 19.24	0.987	
<b>P. DIASTOLICA</b>	75.83 ± 9.17	74.16 ± 9.52	74.56 ± 9.28	0.709	
<b>HIPERTENSIÓN ARTERIAL</b>	2 (8%)	4 (16%)	6 (24%)	0.539	
<b>DIABETES MELLITUS</b>	0	3 (12%)	3 (12%)	NS	
<b>CREATININA (mg/dL)</b>	1.52 ± 1.08	2.01 ± 1.29	1.89 ± 1.24	0.378	
<b>UREA (mg/dL)</b>	40.58 ± 17.24	57.02 ± 23.04	53.08 ± 22.62	0.089	
<b>ALBUMINA (g/dL)</b>	2.30 ± 1.32	2.46 ± 1.5	2.42 ± 1.43	0.808	
<b>COLESTEROL (mg/dL)</b>	403.00 ± 214.94	329.26 ± 172.38	346.96 ± 181.51	0.469	
<b>TRIGLICERIDOS (mg/dL)</b>	346.17 ± 158.29	250.05 ± 146.98	273.12 ± 152.24	0.224	
<b>HEMOGLOBINA (g/dL)</b>	12.53 ± 2.34	14.76 ± 2.92	14.23 ± 2.91	0.085	
<b>TFG (CKD-EPI) (ml/min/1.73 m<sup>2</sup>)</b>	71.77 ± 47.06	68.07 ± 31.52	68.96 ± 34.77	0.864	
<b>PROTEINURIA (g/24 horas)</b>	5790.17 ± 2675.86	5361.26 ± 3870.07	5464.20 ± 3572.08	0.766	
<b>UMAC (ng/dL)</b>	1416.46 ± 1030.14	1195.56 ± 710.29	1248.58 ± 780.22	0.640	
<b>VARIEDAD HISTOLOGICA</b>	<b>PERIHILIAR</b>	2 (8%)	7 (28%)	9 (36%)	0.876
	<b>PUNTA</b>	0	10 (40%)	10 (40%)	NS
	<b>COLAPSANTE</b>	1 (4%)	1 (4%)	2 (8%)	0.369
	<b>PODOCITOPATIA</b>	2 (8%)	0	2 (8%)	NS
	<b>NOS</b>	1 (4%)	1 (4%)	2 (8%)	0.369
<b>FIBROSIS</b>	<b>SIN FIBROSIS</b>	2 (8%)	6 (24%)	8 (32%)	0.077
	<b>LEVE</b>	2 (8%)	5 (20%)	7 (28%)	0.321
	<b>MODERADA</b>	2 (8%)	4 (16%)	6 (24%)	0.593
	<b>SEVERA</b>	0	4 (14%)	4 (16%)	NS

ANOVA de una vía para diferencia de medias entre los grupos, X<sup>2</sup> para diferencia de proporciones, IC95%, p≤0.05

La cuantificación media total de UMAC fue 1248.57±780.22 pg/ml. Al analizarlo junto con las variantes histológicas, encontramos diferencia significativa entre los grupos perihiliar vs punta, p=0.03; perihiliar vs colapsante, p=0.008; perihiliar vs podocitopatía p=<0.01; punta vs colapsante, p<0.001; punta vs podocitopatía p=0.01; colapsante vs podocitopatía p=0.033 (Figura 2).



En la figura 3, se presenta la concentración media de UMAC de acuerdo al grado de fibrosis, (770.1±579 vs 1680.31±490.1, p=0.018).



Respecto al tratamiento, todos los pacientes recibieron terapia antiproteinúrica estándar. La tabla 4, presenta la terapia de inducción y mantenimiento implementada de acuerdo a la variedad histológica sin diferencias entre los grupos ( $p > 0.05$ ).

**Tabla 3.** Tratamiento establecido de acuerdo con variedad histológica de la GEFS

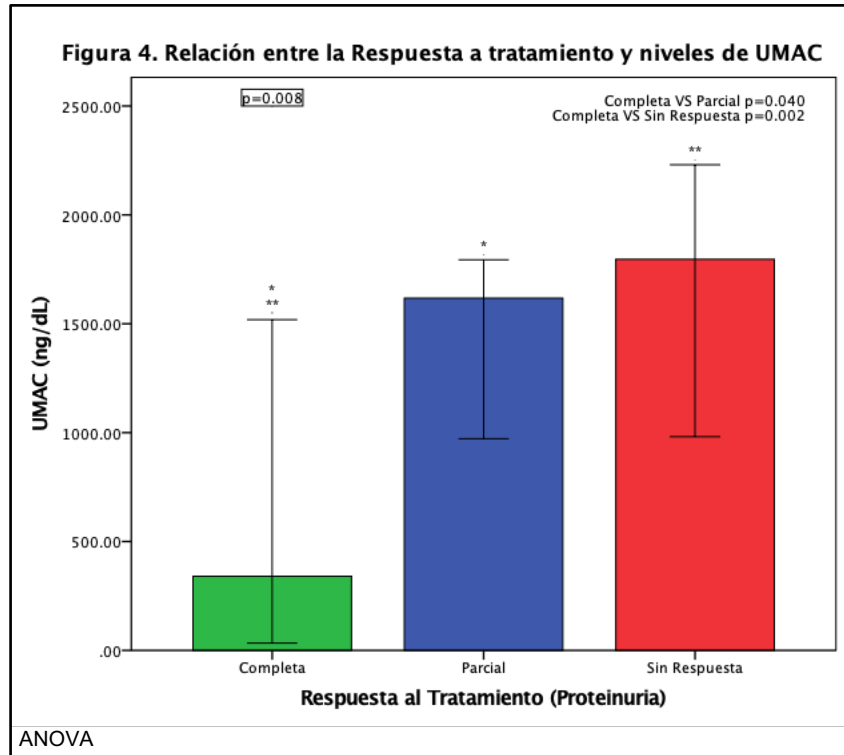
TRATAMIENTO	TOTAL n:25	PERIHILIAR n: 9 (%)	PUNTA n: 10 (%)	COLAPSANTE n: 2 (%)	NOS n: 2 (%)	PODOCITOPATÍA n: 2 (%)	p
<b>TERAPIA INDUCCIÓN</b>							
<b>CORTICOESTEROIDE</b>	25 (100%)	9 (100%)	10 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	NS
<b>TERAPIA MANTENIMIENTO</b>							
<b>IECA</b>	22 (88%)	8 (88.9%)	9 (90%)	1(50%)	2 (100%)	2 (100%)	0.55
<b>ESTATINA</b>	21 (84%)	6 (66.7%)	9 (90%)	2(100%)	2 (100%)	2 (100%)	0.54
<b>ESTEROIDE+ICN</b>	4 (16%)	0	3 (30%)	1 (50%)	0	0	NS
<b>BCC</b>	2 (8%)	1 (11.1%)	1 (10%)	0	0	0	NS

Se identificaron 8 pacientes con respuesta completa (2 podocitopatía, 3 perihiliar, 3 punta); 3 con remisión parcial (2 perihiliar, 1 punta); y 14 sin respuesta (4 perihiliar, 6 punta, 2 colapsante, y 2 NOS).

La figura 4 muestra los niveles de UMAC al momento del diagnóstico de acuerdo a la respuesta al tratamiento, identificándose diferencias estadísticamente significativas al comparar los



grupos ( $p=0.008$ ), así como al comparar el grupo respuesta completa versus respuesta parcial ( $p=0.040$ ) y respuesta completa y sin respuesta al tratamiento ( $p=0.008$ ).

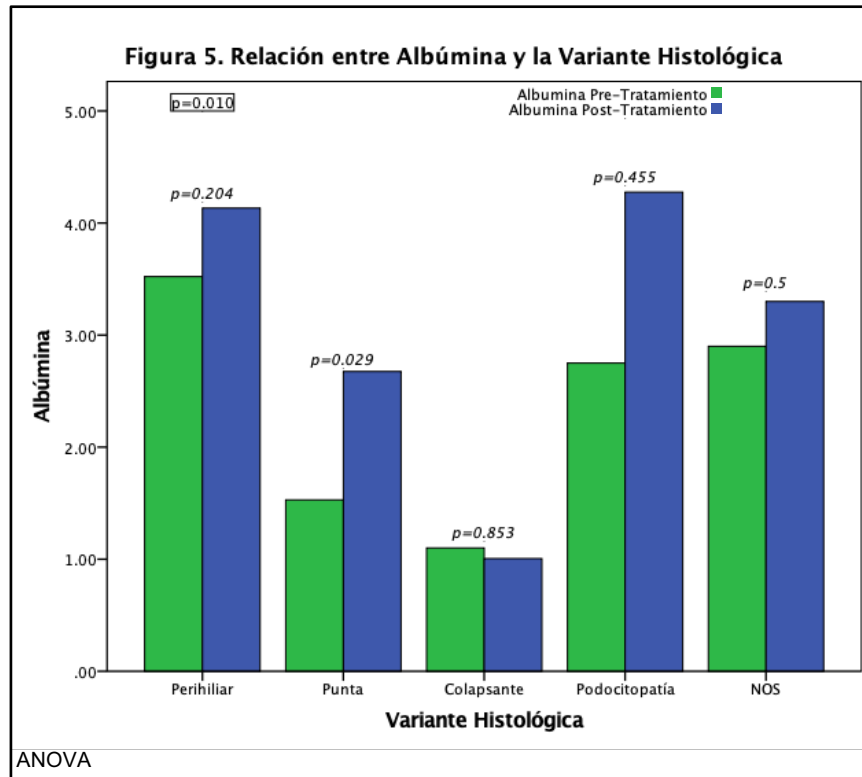


Al comparar los resultados de niveles bioquímicos iniciales y al final del seguimiento, se observaron diferencias estadísticamente significativas ( $p \leq 0.05$ ) entre los niveles séricos de albúmina, colesterol, triglicéridos y proteinuria. El resto de los parámetros no presentaron diferencias (tabla 4).

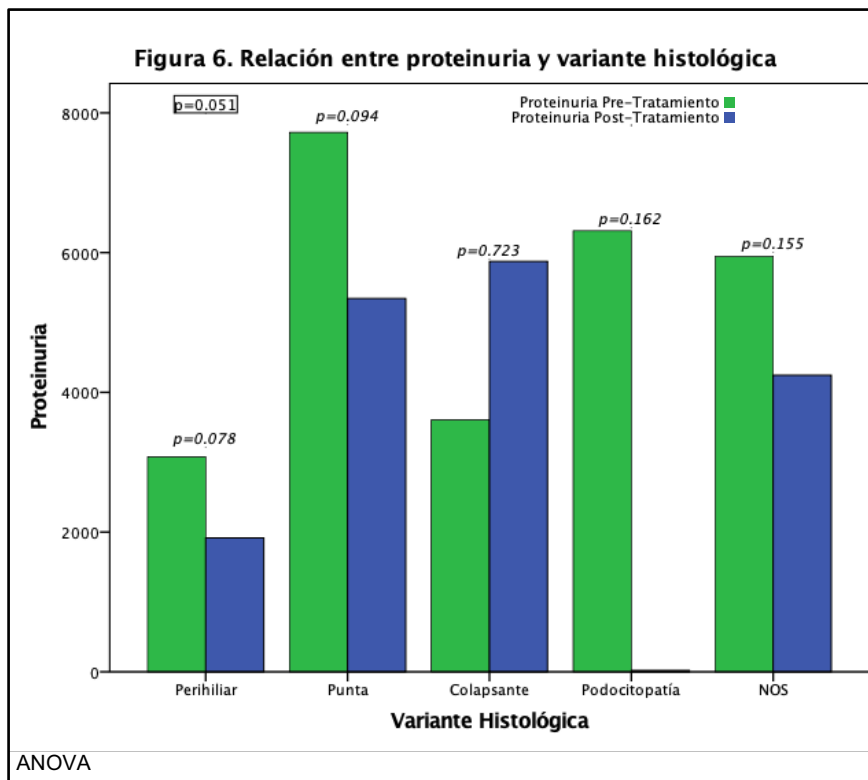
**Tabla 4.** Laboratorios al final del seguimiento de la población en estudio

VARIABLES( $\bar{X} \pm DE$ )	INICIAL	FINAL	<i>p</i>
UREA (mg/dL)	40.58 ± 17.24	66.34 ± 74	0.102
CREATININA (mg/dL)	1.52 ± 1.08	2.38 ± 2.5	0.124
ALBUMINA (g/dL)	2.30 ± 1.32	3.24 ± 1.3	<b>0.014</b>
COLESTEROL (mg/dL)	403 ± 214.94	243.84 ± 133.2	<b>0.003</b>
TRIGLICERIDOS (mg/dL)	346.17 ± 158.29	219.80 ± 156	<b>0.007</b>
HEMOGLOBINA (g/dL)	12.53 ± 2.34	13.32 ± 3.1	0.315
TFG (CKD-EPI) (ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	71.77 ± 47.06	73.69 ± 47.9	0.887
PROTEINURIA (g/24 horas)	5790.17 ± 2675.86	3637.92 ± 4042.7	<b>0.032</b>

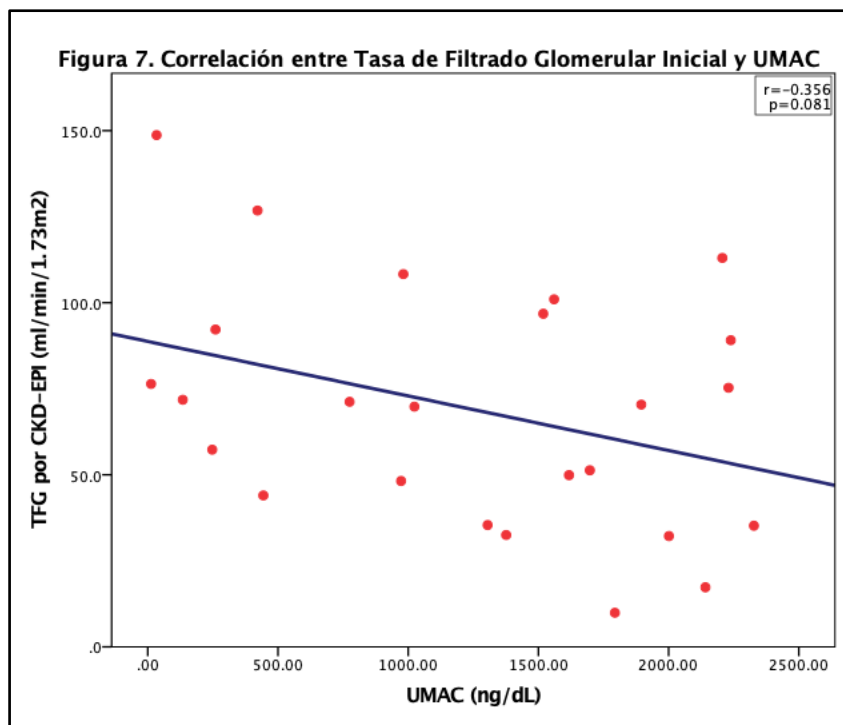
Al comparar los niveles de albúmina (g/dL) al momento del diagnóstico y al final del seguimiento de acuerdo con la variedad histológica, se observó que los niveles de albúmina presentaron diferencias estadísticamente significativas  $p=0.010$  entre los grupos (figura 5).

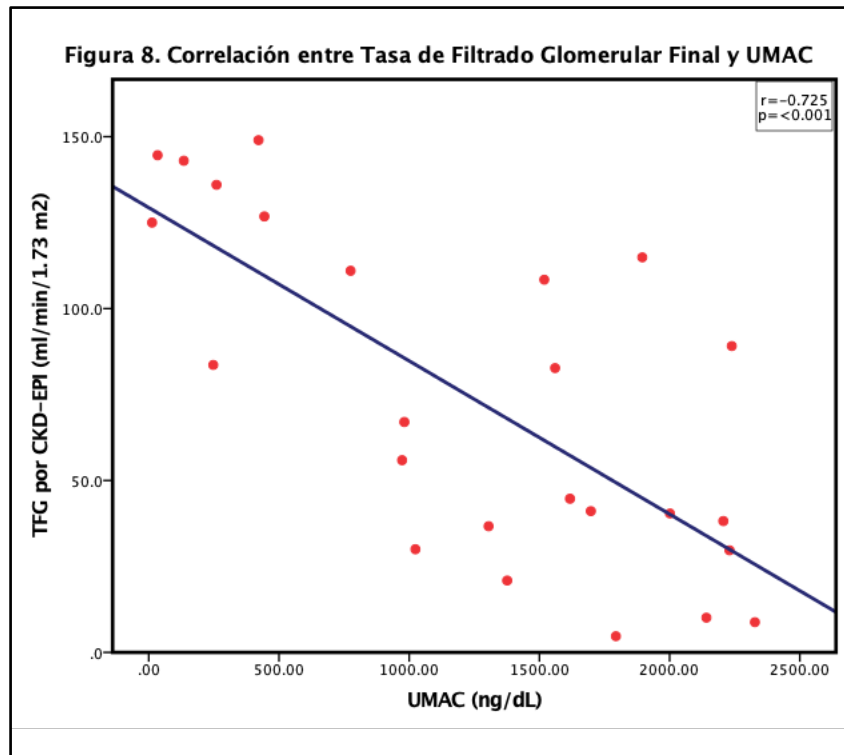


Mientras que los niveles de proteinuria basal comparados con los niveles al final del seguimiento de acuerdo a la variante histológica no mostraron diferencias estadísticamente significativas entre grupos ( $p=0.051$ ). (Figura 6)

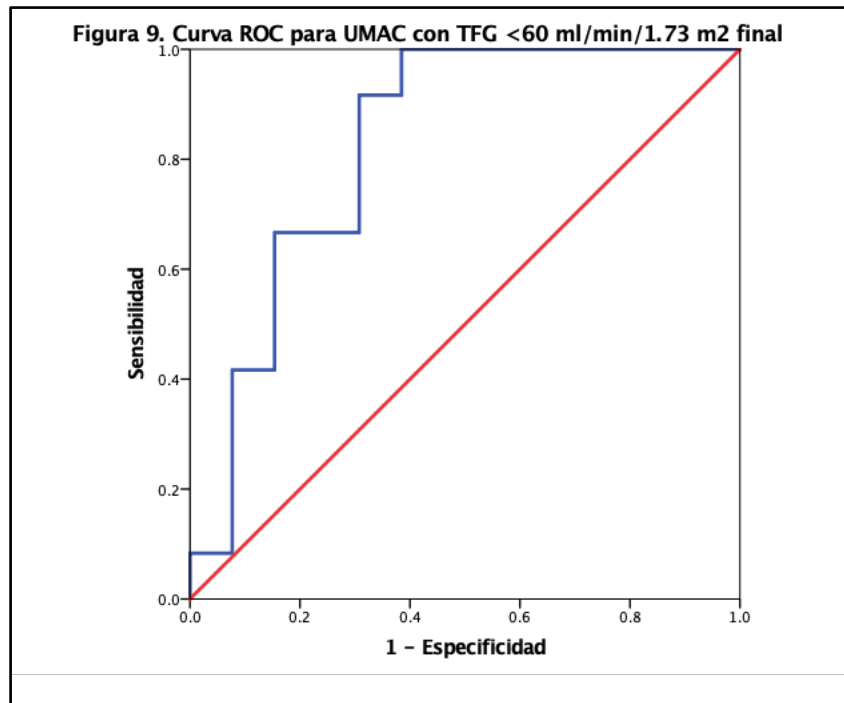


Las figuras 7 y 8, presentan la correlación entre la TFG basal y final respectivamente (CKD-EPI) y los niveles de UMAC ( $r=-0.356$ ,  $p=0.081$ ); ( $r=-0.725$ ,  $p<0.001$ )



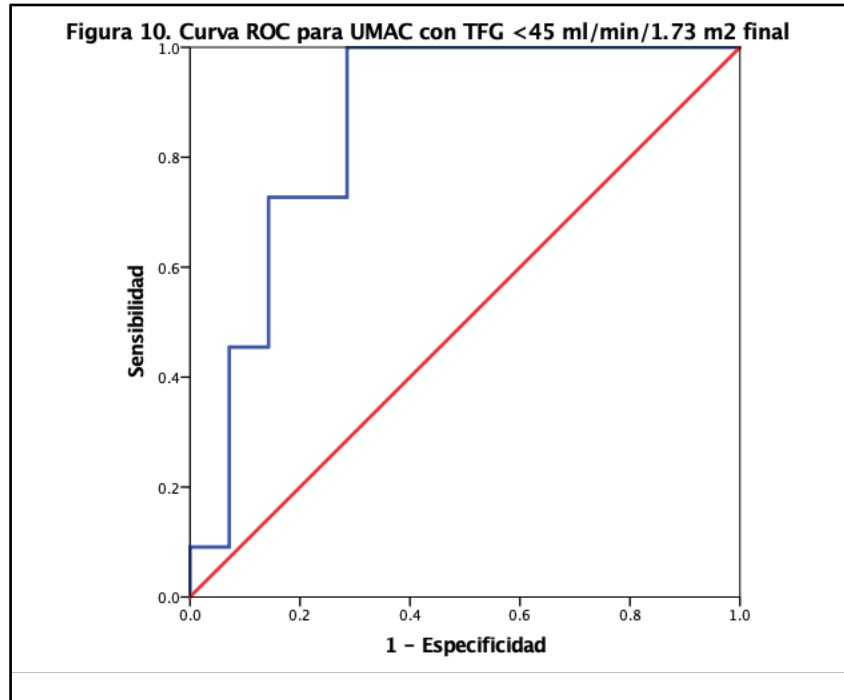


Se realizó curva ROC para determinar la sensibilidad y especificidad de los niveles de UMAC para encontrar la probabilidad de padecer ERC con CKD-EPI  $<60$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup> (**Punto de corte= 1002.5 ng/dL**, sensibilidad (S)=91%; especificidad (E)=70%; Área bajo la curva (AUC)=0.82; Valor predictivo positivo (VPP)=73%; Valor Predictivo Negativo (VPN)=90%; Razón de Verosimilitud Positiva (RVP)= 3.24; Razón de Verosimilitud Negativa (RVN)=0.11. (Figura 9).



Puntos de corte de la curva (Figura 9)		
Positivo si es mayor o igual que	Sensibilidad	Especificidad
11.5000	1.000	0.000
23.1250	1.000	0.077
84.0625	1.000	0.154
190.9375	1.000	0.231
253.7500	1.000	0.308
340.6250	1.000	0.385
432.5000	1.000	0.462
609.3750	1.000	0.538
873.7500	1.000	0.615
976.8750	0.917	0.615
<b>1002.5000</b>	<b>0.917</b>	<b>0.692</b>
1164.3750	0.833	0.692
1340.6250	0.750	0.692
1447.5000	0.667	0.692
1539.3750	0.667	0.769
1588.7500	0.667	0.846
1657.5000	0.583	0.846
1745.6250	0.500	0.846
1844.3750	0.417	0.846
1948.1250	0.417	0.923
2071.2500	0.333	0.923
2173.7500	0.250	0.923
2218.1250	0.167	0.923
2234.3750	0.083	0.923
2283.1250	0.083	1.000
2328.5000	0.000	1.000

Se realizó curva ROC para determinar la sensibilidad y especificidad de los niveles de UMAC para encontrar la probabilidad de padecer ERC con CKD-EPI  $<45 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ . (**Punto de corte= 1002.5 ng/dL**; S=100%; E=72%; AUC=0.85; VPP=73%; VP= 100%; RVP= 3.5; RVN= 0) (Figura 10)



Puntos de corte de la curva (Figura 10)		
Positivo si es mayor o igual que	Sensibilidad	Especificidad
11.5000	1.000	0.000
23.1250	1.000	0.071
84.0625	1.000	0.143
190.9375	1.000	0.214
253.7500	1.000	0.286
340.6250	1.000	0.357
432.5000	1.000	0.429
609.3750	1.000	0.500
873.7500	1.000	0.571
976.8750	1.000	0.643
<b>1002.5000</b>	<b>1.000</b>	<b>0.714</b>
1164.3750	0.909	0.714
1340.6250	0.818	0.714
1447.5000	0.727	0.714
1539.3750	0.727	0.786
1588.7500	0.727	0.857
1657.5000	0.636	0.857
1745.6250	0.545	0.857
1844.3750	0.455	0.857
1948.1250	0.455	0.929
2071.2500	0.364	0.929

2173.7500	0.273	0.929
2218.1250	0.182	0.929
2234.3750	0.091	0.929
2283.1250	0.091	1.000
2328.5000	0.000	1.000

Una vez determinando el punto de corte para UMAC; definiendo estos como UMAC bajo, menor a 1002.5 ng/dL y UMAC alto, mayor a 1002.5. Se realizó la comparación de estos dos grupos con la prueba de  $X^2$  entre las variables: variantes histológicas y grados de fibrosis ( $p > 0.05$ ), sin encontrar diferencia estadísticamente significativa. Al comparar de acuerdo a la presencia o no de fibrosis ( $p = 0.014$ ) y la respuesta a tratamiento, encontrando diferencia estadísticamente significativa en respuesta completa y no respuesta ( $p = 0.014$  y  $0.032$  respectivamente). (Tabla 5).

**Tabla 5.** Comparación entre variante histológica, fibrosis, grado de fibrosis, respuesta al tratamiento y niveles altos de UMAC

		UMAC < 1000		UMAC > 1000		p
		n	%	n	%	
<b>Variante Histológica</b>	<b>Perihiliar</b>	2	22.2%	7	77.8%	0.174
	<b>Punta</b>	6	60.0%	4	40.0%	0.096
	<b>Colapsante</b>	0	0.0%	2	100.0%	NS
	<b>Podocitopatía</b>	2	100.0%	0	0.0%	NS
	<b>NOS</b>	0	0.0%	2	100.0%	NS
<b>Fibrosis</b>	<b>No</b>	6	75.0%	2	25.0%	<b>0.014</b>
	<b>Si</b>	4	23.5%	13	76.5%	
<b>Grado de Fibrosis</b>	<b>Sin Fibrosis</b>	6	75.0%	2	25.0%	<b>0.014</b>
	<b>Leve</b>	2	28.6%	5	71.4%	0.467
	<b>Moderada</b>	2	33.3%	4	66.7%	0.702
	<b>Severa</b>	0	0.0%	4	100.0%	NS
<b>Respuesta a tratamiento</b>	<b>Completa</b>	6	75.0%	2	25.0%	<b>0.014</b>
	<b>Parcial</b>	1	33.3%	2	66.7%	0.802
	<b>Sin Respuesta</b>	3	21.4%	11	78.6%	<b>0.032</b>

## DISCUSIÓN

Nuestros resultados muestran los niveles urinarios basales de C5b-C9 en una cohorte de pacientes con GSFS. Se observó una relación entre los niveles de UMAC y la presencia o no de fibrosis asociados con el grado de ésta y la respuesta al tratamiento. A niveles más altos de UMAC, los pacientes presentaban algún grado de fibrosis, de igual manera, aquellos que no respondieron al tratamiento, tenían niveles elevados de UMAC. Los valores de C5b-C9 han sido asociados con activación de la cascada de complemento (24,25) y complejo de ataque de membrana (C5b-9) en GSFS (XX referencia). Los trabajos publicados hasta ahora han sido estudios de tipo experimental en ratones o reportes de caso en grupos pequeños de pacientes. El estudio realizado por *Ogrodowski et al*, reportaron la activación del complemento y los depósitos de complejo de ataque de membrana en glomérulos, mesangio y túbulo contorneado proximal, identificando que el tejido renal con tinción más intensa presentaba niveles más altos de UMAC (23); sin embargo, en ese estudio no se hizo el análisis por variedad histológica. Nuestro estudio identifica las cifras de UMAC de acuerdo a las variantes histológicas de GSFS, con una mayor expresión en las muestras de orina de pacientes con variedad colapsante, NOS y perihiliar, subtipos de GSFS que tradicionalmente se han asociado con una peor respuesta al tratamiento médico (16). En el estudio de *Rus et al*, quienes evaluaron la expresión de C5b-9 en pacientes pediátricos con diferentes glomerulopatías, reportaron que todos los pacientes con GSFS expresaron C5b-9 (20), mientras que, *Morita et al*. reportaron en pacientes con síndrome nefrótico la activación del complemento ausente en sujetos sanos (22). En consonancia con estos estudios nuestros hallazgos muestran la expresión de UMAC en todos los pacientes con diagnóstico de GEFS, cabe mencionar que la expresión de UMAC en nuestro estudio en menor o mayor medida dependía de la variedad histológica.

Este es el primer estudio en el que se realiza un análisis de curva ROC para UMAC, con la finalidad de establecer puntos de corte que permitan predecir el pronóstico en los pacientes, de acuerdo con nuestros resultados, establecimos un punto de corte para valores altos (UMAC >1002.5 ng/dL) y bajos ( $\leq$ 1002.5 ng/dL), este punto de corte, nos permite predecir con una alta probabilidad la progresión a una TFG por CKD-EPI menor a 45 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> al final del seguimiento (6 meses) en aquellos pacientes que presenten niveles de UMAC >1002.5 ng/dL

Por otro lado, nuestro estudio reveló que los pacientes con niveles de UMAC bajo ( $\leq$ 1002.5 ng/dL) respondieron mejor al tratamiento, mientras que los pacientes con niveles altos (>1002.5 ng/dL) no respondieron. Hasta ahora no hay un estudio que revelara esta información, sin



embargo, se conoce que habitualmente las variedades NOS y colapsante son las glomerulopatías que con frecuencia no responden a tratamiento (2,26–28); mientras que la variedad perihiliar responde completa o parcialmente; y las variedades punta y podocitopatía responden de manera adecuada al tratamiento (2,16,27,28). Esta información coincide con nuestros hallazgos en donde las variedades con cifras más altas de proteinuria fueron aquellas con una limitada respuesta al tratamiento lo que a su vez correlaciono con las cifras altas de UMAC.

Lo anterior, nos permite hipotetizar que el UMAC podría ser empleado como un biomarcador de respuesta a tratamiento, que permitiría desde el momento del diagnóstico guiar el tratamiento del paciente, sin embargo, para confirmar lo anterior es necesario incrementar el número de pacientes en otro estudio y evaluar muestras seriadas del UMAC. De igual manera, el UMAC podría considerarse un predictor de enfermedad renal crónica a los 6 meses con una TFG  $<45$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>

Por otro lado, al correlacionar el grado de fibrosis con los niveles de UMAC, encontramos que, los pacientes que presentaban niveles bajos de UMAC no presentaban fibrosis, sin embargo, a pesar de lo anterior no hubo relación estadísticamente significativa entre los niveles de UMAC y el grado de fibrosis, es decir, los niveles altos de UMAC solamente ayudarían a determinar si el paciente presenta algún grado de fibrosis. No existen estudios previos que hayan analizado y relacionado la presencia de UMAC con la presencia o ausencia de fibrosis. Como está descrito en la literatura, el grado de fibrosis no depende de la variedad histológica, sin embargo, está se encuentra determinada por el avance de la enfermedad.

A nivel bioquímico se identificó que todas las variedades presentaron mejoría en los niveles de albúmina sérica y proteinuria, posterior a recibir tratamiento, excepto en la variedad colapsante, la cual no presentó cambios en los niveles de albúmina posterior al tratamiento, y los niveles de proteinuria empeoraron después del tratamiento; lo anterior podría estar relacionado con una mayor actividad de la enfermedad, con hallazgos de niveles de UMAC alto; al tratar de encontrar una explicación a este fenómeno y sin tener evidencia científica en estudios previos, es importante mencionar que la variedad colapsante es la variedad más agresiva de todas las variantes histológicas de GEFS. Se podría inferirse que la presencia de UMAC, podría ser un potencial biomarcador de respuesta al tratamiento.

Al realizar la correlación entre tasa de filtrado glomerular inicial y niveles de UMAC, se identificó una correlación negativa sin significancia estadística. Sin embargo, al realizar la correlación con la tasa de filtrado glomerular final, se encontró la misma correlación negativa pero con significancia estadística, mostrando una tendencia de que a niveles mayores de UMAC menor

tasa de filtrado glomerular a final del seguimiento, y sin existir otros estudios que avalen esta información, se pudiera inferir que el complejo de ataque a la membrana, con todas las implicaciones de respuesta inflamatoria, afecta directamente la TFG; siendo este un objetivo terapéutico, en futuros estudios.

Dentro de las limitaciones de nuestro trabajo debemos reconocer que se trata de un estudio exploratorio, en la que únicamente se cuenta con una sola determinación de UMAC, consideramos necesario realizar otro estudio cuyo diseño permita tener determinaciones seriada del C5b-C9 y con determinaciones séricas. Así mismo debemos reconocer que se trata de un estudio exploratorio, en la que únicamente se cuenta con una sola determinación de UMAC, consideramos en el diseño de otros estudios tener determinaciones seriada del C5b-C9 y con determinaciones séricas. La presencia de UMAC podría estar reflejando una activación de la cascada de complemento sin embargo, no se realizó una evaluación histológica para conocer la presencia de C5b-C9 en tejido renal lo que quizás podría apoyar la hipótesis de mayor actividad del complemento. Finalmente una debilidad de nuestro trabajo fue no contar con niveles séricos de suPAR lo que quizás nos permitiría evaluar el comportamiento entre ambos biomarcadores.

La presencia de UMAC urinario podría estar reflejando una activación de la cascada de complemento pero no realizamos una determinación histológica del C5b-C9 lo que quizás podría apoyar la hipótesis de mayor actividad del complemento. Otra de las limitaciones de nuestro trabajo es no contar con niveles séricos de suPAR, lo que quizás nos permitiría evaluar el comportamiento entre ambos biomarcadores. Sin embargo, a pesar de estas limitaciones, consideramos que conocer los niveles urinarios de UMAC y poder definir un punto de corte, es un acercamiento para definir el papel que potencialmente puede tener la cascada del complemento en pacientes con GSFS y tratar de pronosticar la presencia de enfermedad renal crónica a los 6 meses. Esta definición de confirmarse podría ser una luz para considerar opciones terapéuticas en pacientes con GSFS en quienes el arsenal terapéutico actualmente es limitado, y explorar, con plausibilidad biológica, el uso de bloqueadores del complejo de ataque de membrana, en pacientes en quienes se demuestre actividad de la cascada de complemento con el potencial beneficio y la complejidad de su enfermedad.

## CONCLUSIONES

- Las variedades histológicas de GEFS menos severas (podocitopatía y NOS), fueron aquellas con niveles bajos de UMAC (<1002.5 ng/dL) y se relacionó con mejor respuesta al tratamiento. Estos mismos pacientes con niveles bajos de UMAC presentaron ausencia de fibrosis.
- Los niveles elevados de UMAC están presentes en las variedades histológicas mas severas de GEFS (Colapsante, perihiliar y NOS), y estos, se relacionan con la presencia de fibrosis. Los niveles elevados de UMAC (>1002.5 ng/dL) se presentan en el 100% de pacientes con TFG <45 ml/min.1.73 m<sup>2</sup> a los 6 meses.
- UMAC >1002.5 ng/dL predice con mayor exactitud presencia de ERC con TFG <45 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> a los 6 meses que con TFG <60 ml/min/m<sup>2</sup>.
- A pesar del tamaño de la muestra, se puede concluir que el UMAC pudiera usarse como biomarcador para predecir falla al tratamiento, presencia de fibrosis y predictor de padecer enfermedad renal crónica.
- Con estos hallazgos inferimos que, el MAC pudiera usarse como blanco terapéutico en aquellos pacientes con positividad de este biomarcador, sin embargo, se requiere continuar este estudio con un tamaño de muestra más grande.

## BIBLIOGRAFIA

1. De Mik SML, Hoogduijn MJ, De Bruin RW, Dor FJMF. Pathophysiology and treatment of focal segmental glomerulosclerosis: The role of animal models. *BMC Nephrol.* 2013;14(1).
2. D'Agati VD, Kaskel FJ, Falk RJ. Focal Segmental Glomerulosclerosis. *N Engl J Med.* 2011 Dec 22;365(25):2398–411.
3. Jefferson JA, Shankland SJ. The Pathogenesis of Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2014;21(5):408–16.
4. Kodner C. Diagnosis and Management of Nephrotic Syndrome in Adults. *Am Fam Physician.* 2016;93(6):479–85.
5. D'Agati VD, Alster JM, Charles Jennette J, Thomas DB, Pullman J, Savino DA, et al. Association of histologic variants in FSGS clinical trial with presenting features and outcomes. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2013;8(3):399–406.
6. 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):920–6.
7. Trimarchi H. Primary focal and segmental glomerulosclerosis and soluble factor urokinase-type plasminogen activator receptor. *World J Nephrol.* 2013;2(4):103–10.
8. Shankland SJ, Pollak MR. A suPAR circulating factor causes kidney disease. *Nat Med.* 2011;17(8):926–7.
9. Thurman JM, Wong M, Renner B, Frazer-Abel A, Giclas PC, Joy MS, et al. Complement activation in patients with focal segmental glomerulosclerosis. *PLoS One.* 2015;10(9):1–13.
10. Mosolits S, Magyarlaki T, Nagy J. Membrane attack complex and membrane cofactor protein are related to tubulointerstitial inflammation in various human glomerulopathies. *Nephron.* 1997;75(2):179–87.
11. Caliskan Y, Kiryluk K. Novel biomarkers in glomerular disease. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2014;21(2):205–16.
12. Fogo AB. Causes and pathogenesis of focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Rev Nephrol.* 2015;11(2):76–87.
13. Valencia VC, Orizaga C, Cruz D La, Guillermo J, Fuentes B, Ramírez FF, et al. Epidemiología de la enfermedad glomerular en adultos. Revisión de una base de datos. *Gac Med Mex.* 2014;150:403–8.

14. Korbet SM. Treatment of Primary FSGS in Adults. *J Am Soc Nephrol*. 2012;23(11):1769–76.
15. Rosenberg AZ, Kopp JB. Focal segmental glomerulosclerosis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2017;12(3):502–17.
16. Hogan J, Radhakrishnan J. The Treatment of Idiopathic Focal Segmental Glomerulosclerosis in Adults. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2014;21(5):434–41.
17. Fearn A. Complement activation in progressive renal disease. *World J Nephrol*. 2015;4(1):31.
18. Strassheim D, Renner B, Panzer S, Fuquay R, Kulik L, Ljubanović D, et al. IgM Contributes to Glomerular Injury in FSGS. *J Am Soc Nephrol*. 2013;24(3):393–406.
19. Rangan GK, Pippin JW, Couser WG. C5b-9 regulates peritubular myofibroblast accumulation in experimental focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int*. 2004;66(5):1838–48.
20. Rus HG, Niculescu F, Nanulescu M, Cristea A, Florescu P. Immunohistochemical detection of the terminal C5b-9 complement complex in children with glomerular diseases. *Clin Exp Immunol*. 1986;65(1):66–72.
21. Perkinson DT, Baker PJ, Mac A. Membrane Attack Complex Deposition in Experimental Glomerular Injury. 1985;121–8.
22. Morita Y, Matsuo S, Hotta N. Complement activation products in the urine from proteinuric patients. *Mol Immunol*. 2004;35(6–7):382.
23. Ogrodowski JL, Hebert LA, Sedmak D, Cosio FG, Tamerius J, Kolb W. Measurement of SC5b-9 in urine in patients with the nephrotic syndrome. *Kidney Int*. 1991;40(6):1141–7.
24. Liu J, Xie J, Zhang X, Tong J, Hao X, Ren H, et al. Serum C3 and Renal Outcome in Patients with Primary Focal Segmental Glomerulosclerosis. *Sci Rep*. 2017;7(1):1–7.
25. Charles B-J, Doryen B, A. DM. The mystery behind membrane insertion: a review of the complement membrane attack complex. *Philos Trans R Soc B Biol Sci*. 2017;372(1726):20160221.
26. Schwimmer JA, Markowitz GS, Valeri A, Appel GB. Collapsing glomerulopathy. *Semin Nephrol*. 2003;23(2):209–18.
27. Rydel JJ, Korbet SM, Borok RZ, Schwartz MM. Focal segmental glomerular sclerosis in adults: Presentation, course, and response to treatment. *Am J Kidney Dis*. 1995;25(4):534–42.
28. Chun MJ, Korbet SM, Schwartz MM, Lewis EJ. Focal segmental glomerulosclerosis in nephrotic adults: Presentation, prognosis, and response to therapy of the histologic

variants. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15(8):2169–77.