

**FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIO DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL GENERAL DE MEXICO O.D.**

**MIRNA-92 Y MIRNA-126 COMO MARCADORES TEMPRANOS EN LA
MICROANGIOPATÍA TROMBÓTICA CON DAÑO RENAL EN PACIENTES CON
HIPERTENSIÓN ARTERIAL PRIMARIA.**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
LA ESPECIALIDAD DE ANATOMIA PATOLOGICA
P R E S E N T A:**

DRA. ELIZMARA LESLIE AGUILAR AYALA

TUTOR: Dra. María Virgilia Soto Abraham
Maestra en Ciencias Médicas D.

ASESOR: Dr. Francisco Jesús Arenas Huertero
Investigador en Ciencias Médicas D.

MEXICO, D.F.

2011



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.

DRA. MARÍA VIRGILIA SOTO ABRAHAM

**MAESTRA EN CIENCIAS MÉDICAS D.
TUTOR Y ASESOR DE TESIS**

DR. FRANCISCO JESÚS ARENAS HUERTERO

**INVESTIGADOR EN CIENCIAS MÉDICAS D.
ASESOR DE TESIS**

DEDICATORIA

A mis padres Elizabeth y Marco por ser el ejemplo de amor más perfecto, puro y sincero, los amo eternamente.

A mi hermana Ingrid y Edgar por ser mi ejemplo a seguir y apoyarme en cada paso que doy con amor, paciencia e inteligencia.

A Iker por ser lo mejor y lo más amado en mi vida.

A Carlos Díaz por existir, permanecer en mi vida y por ser mi motivación y mi amor cada día.

A mi maestra Dra. Virgilia Soto por enseñarme el camino de la perfección y amor al trabajo y por creer siempre en mí.

A mi asesor Francisco Arenas y su equipo de trabajo por enseñarme que cada instante es una constante de aprendizaje y de enseñanza mutua.

INDICE

PAGINA

- 1. Antecedentes.....**
- 1.1. Elementos de la función renal.....**
 - 1.1.1. Descripción de los riñones.....**
 - 1.1.2. Anatomía macroscópica.....**
 - 1.1.3. Ultraestructura de la nefrona.....**
 - 1.1.4. Aparato yuxtaglomerular.....**
 - 1.1.5. Túbulo proximal.....**
 - 1.1.6. Túbulo distal.....**
 - 1.1.7. Intersticio.....**
 - 1.1.8. Glomérulo.....**
 - .1.1.1.1. Células endoteliales.....**
 - .1.1.1.2. Células mesangiales.....**
 - .1.1.1.3. Membrana basal glomerular.....**
 - .1.1.1.4. Podocitos.....**
 - 1.1.9. Inervación del riñón.....**
- 1.2. Angiogénesis.....**
- 1.3. Microangiopatía trombotica (MAT)**
 - 1.3.1. Patogénesis.....**
 - 1.3.2. Histopatología.....**
- 1.4. Papel de los microRNAs en la proliferación vascular y
microangiopatía trombótica.....**
- 1.5. Técnicas de estudio de material genético.....**
 - 1.5.1. Material genético.....**
 - 1.5.2. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)**
 - 1.5.2.1. Cuantificación de ácidos nucleicos
Específicos por PCR.....**

INDICE

PAGINA

- 1.5.3. MicroRNAs.....
- 2. Justificación.....
- 3. Hipótesis.....
- 4. Objetivos.....
- 5. Material y método.....
- 6. Resultados.....
- 7. Discusión y conclusiones.....
- 8. Referencias.....

1. Antecedentes

1.1 Elementos de la función renal

1.1.1. Descripción de los riñones

Los riñones son órganos reguladores y excretores. Al excretar solutos y agua, los riñones son capaces de regular el volumen y la composición de los líquidos corporales dentro de límites muy estrechos, a pesar de las variaciones en la ingesta de agua u alimentos. Gracias a la acción homeostática de los riñones, los tejidos y células corporales pueden llevar a cabo sus funciones normales en un medio relativamente constante.

Los riñones realizan varias funciones importantes como:

1. Regulación de la osmolalidad y el volumen de los líquidos orgánicos.
2. Regulación del equilibrio electrolítico.
3. Regulación del equilibrio ácido-básico.
4. Excreción de productos metabólicos y sustancias extrañas.
5. Producción y secreción de hormonas.

El control de la osmolalidad de los líquidos corporales es importante para el mantenimiento del volumen celular normal de los tejidos del organismo. El control del volumen de los líquidos corporales es necesario para el funcionamiento correcto del sistema cardiovascular. Los riñones actúan de forma coordinada con componentes de los sistemas cardiovascular, endocrino y nervioso central, llevan a cabo estas tareas regulando la excreción del agua y NaCl.

Los riñones interpretan un papel fundamental en la regulación cuantitativa de varios iones inorgánicos importantes para el microorganismo como Na⁻, K⁻, HCO₃⁻, H⁺, Ca⁺⁺, Mg⁺⁺ y PO₄. Para que se mantenga el equilibrio, la excreción, de cualquiera de estos iones debe igualar su ingesta diaria. Si la ingesta supera la excreción, la cantidad de un electrolito en el organismo aumentará y el individuo presentará un balance positivo de ese electrolito. Por el contrario, si la excreción supera la ingesta, su cantidad disminuirá y el individuo presentará un balance negativo de ese electrolito. Para muchos electrolitos, los riñones son la vía fundamental por la que son excretados del organismo. Por lo tanto, el equilibrio electrolítico se logra mediante un cuidadoso ajuste entre la excreción renal diaria y la ingesta dietética.

1.1.2. Anatomía macroscópica

La cara medial de cada riñón presenta una indentación a través de la cual pasan la arteria y venas renales, los nervios y pelvis renal. En la superficie de corte se observan dos zonas: la región externa denominada corteza y la región interna denominada médula. La corteza y médula están formadas por nefronas (unidades funcionales del riñón), vasos sanguíneos, linfáticos y nervios. La médula de riñón humano se divide en 8 a 18 pirámides renales. La base de cada pirámide se sitúa en el borde corticomedular y su vértice termina en la papila, que está dentro del cáliz. La pelvis constituye la región superior expandida del uréter, que transporta la orina desde la pelvis hasta la vejiga.

En el riñón la pelvis se divide en dos o tres bolsas abiertas, los cálices principales; que se extienden hacia fuera a partir de la dilatación final de la pelvis. Cada cáliz mayor se divide en cálices menores, que recogen la orina a la vejiga.

El flujo sanguíneo de ambos riñones equivale al 25% (1.25 l/min) dl gasto cardiaco en reposo. Sin embargo, los riñones representan menos del 0.5% del peso corporal total. La arteria renal entra en el riñón junto con el uréter y se ramifica dando lugar a arterias interlobulares, arterias arciformes, arterias interlobulillares (arterias corticales radiales) y arteriolas aferentes, que dan lugar a los capilares glomerulares (glomérulo). Los capilares glomerulares confluyen para formar la arteriola eferente, que dan origen a una segunda re capilar, los capilares peritubulares, que irrigan la nefrona. Los vasos arteriales y forman progresivamente las venas interlobulillares (venas corticales radiales), venas arciformes, vena interlobular y vena renal, situada junto al uréter.

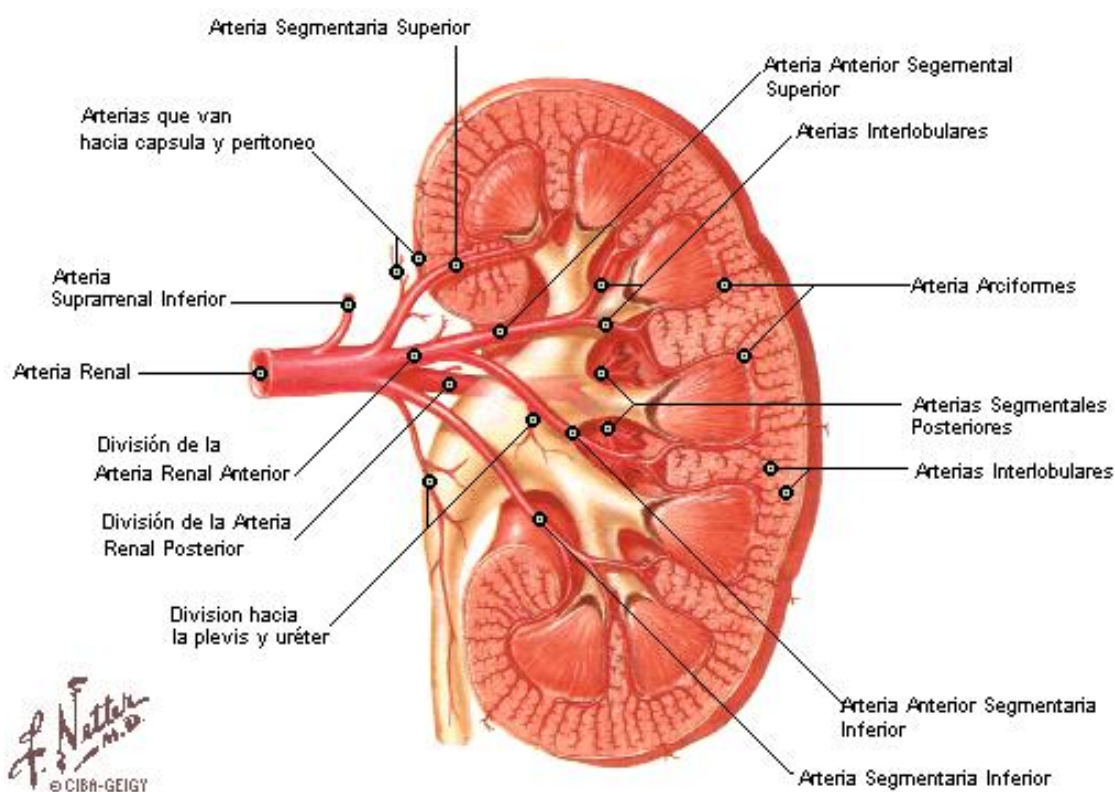


Figura 1. Superficie de corte del riñón izquierdo.

1.1.3. Ultraestructura de la nefrona

La unidad funcional renal es la nefrona. El riñón contiene 1.2 millones de nefronas, que son tubos huecos formados por una única capa celular. La nefrona consta de un corpúsculo renal, un túbulo proximal, un asa de Henle y un sistema de conductos colectores.

El corpúsculo renal consiste en el glomérulo, un ovillo de capilares especiales y la cápsula de Bowman. El túbulo proximal forma inicialmente varias curvas y luego presenta una porción recta que desciende hacia la médula. El siguiente segmento es el asa de Henle, formada por la porción recta del túbulo proximal, la rama final

descendente (que finaliza en una curva en horquilla), la rama fina ascendente (sólo en nefronas con asa de Henle largas) y la rama gruesa ascendente.

Cerca del final de la rama gruesa ascendente, la nefrona pasa entre las arteriolas aferente y eferente correspondientes al glomérulo de una misma nefrona. Este corte segmento de la rama gruesa ascendente se denomina mácula densa. El túbulo diostal comienza poco después de la mácula densa y se extiende hasta el punto de la corteza donde dos o más nefronas se unen para formar un conducto colector cortical. El conducto colector cortical penetra en la médula y se convierte en conducto colector medular interno y después en conducto colector medular externo.

Cada segmento de la nefrona está formado por células especializadas en funciones especializadas y específicas de transporte. Las células del túbulo proximal poseen una membrana apical (lado urinario de las células) denominada borde en cepillo, que está presente sólo en el túbulo proximal.

La membrana basolateral (lado sanguíneo de la célula) está muy invaginada. Estas invaginaciones contienen numerosas mitocondrias.

La rama ascendente y descendente y el túbulo distal poseen abundantes mitocondrias y numerosos pliegues en la membrana basolateral. El conducto colector está formado por dos tipos celulares: las células principales y células intercaladas presentan una elevada densidad de mitocondrias. El segmento final de la nefrona, el conducto colector medular interno, está formado por células específicas para ese conducto.

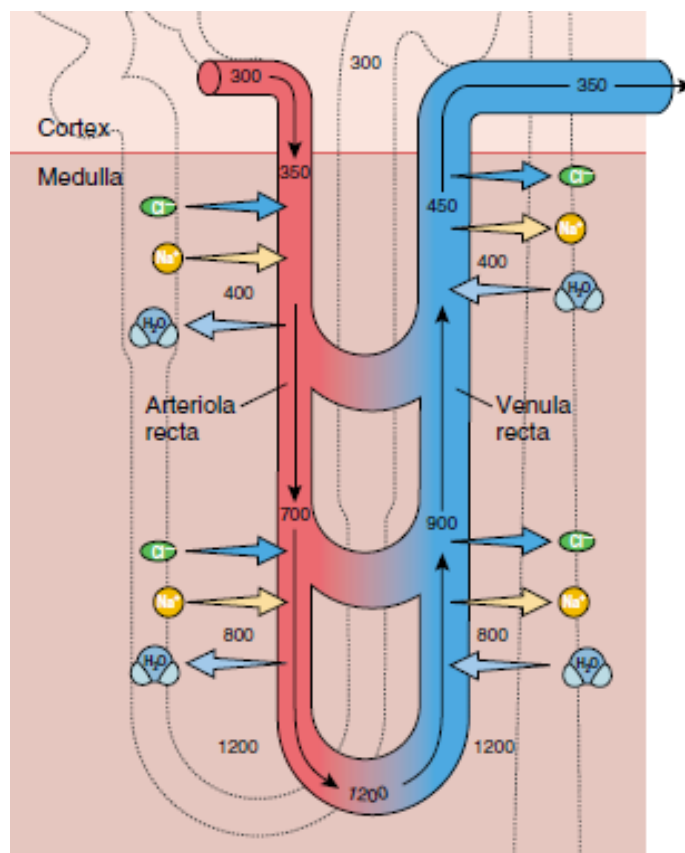


Figura 2. Histopatología de los vasos rectos. Los números representan miliosmoles por litro. La arteriola recta es más pequeña en diámetro que la vénula recta.

El corpúsculo renal de las nefronas yuxtaglomerulares se localiza en la zona de la corteza adyacente a la médula. En comparación con las nefronas superficiales, las nefronas yuxtaglomerulares se diferencian anatómicamente, en tres aspectos importantes:

- i. El corpúsculo renal es mayor
- ii. El asa de Henle es más larga y penetra más profundamente en la médula
- iii. La arteriola eferente no sólo forma una red de capilares peritubulares, sino también una serie de asas vasculares denominadas vasos rectos.

Los vasos rectos penetran en la médula, donde forman redes capilares que rodean a los conductos colectores y a las ramas ascendentes del asa de Henle. La sangre regresa a la corteza por los vasos rectos ascendentes. Aunque menos del 0.7% del flujo sanguíneo renal circula por los vasos rectos, estos vasos desempeñan funciones importantes, como el aporte de oxígeno y nutrientes fundamentales a ciertos segmentos de la nefrona, el transporte de sustancias que serán segregadas por la nefrona, el transporte del agua y los solutos reabsorbidos a la circulación sistémica y la concentración y dilución de la orina(1).

1.1.4. Aparato yuxtaglomerular

Las estructuras que componen el aparato yuxtaglomerular son:

- i. La mácula densa de la rama ascendente gruesa.
- ii. Las células mesangiales extraglomerulares.
- iii. Las células granulares productoras de renina de las arteriolas aferente y eferente.

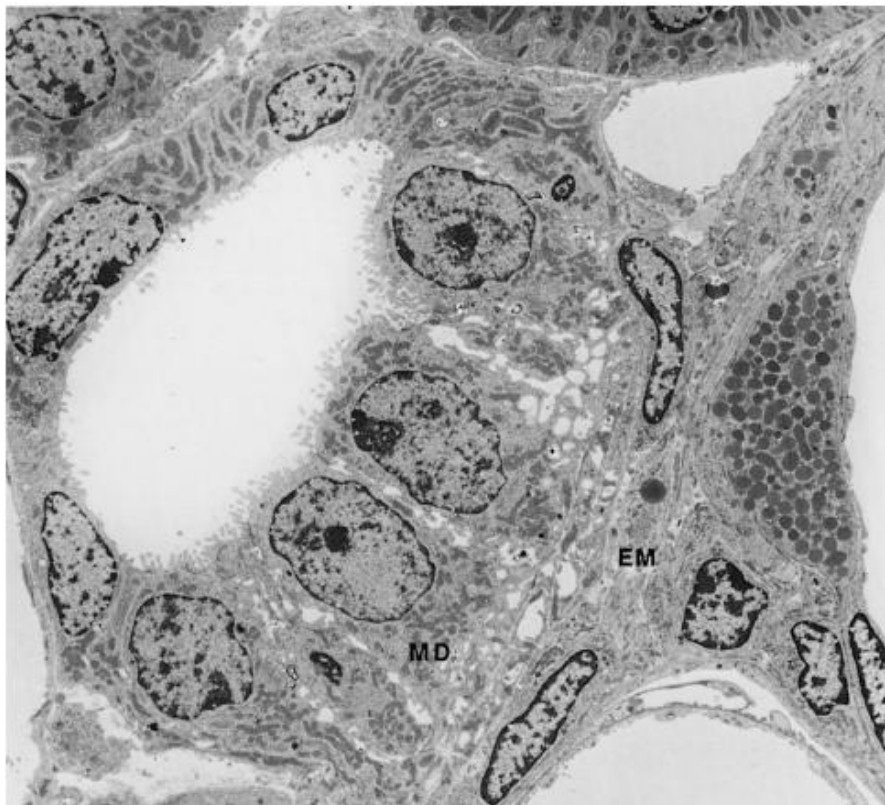


Figura 3. Aparato yuxtaglomerular del riñón. La mácula densa (MD), células yuxtaglomerulares (contiene gránulos electrondensos) y mesangio extraglomerulares (EM) (2).

El aparato yuxtaglomerular es la mayor unidad estructural del sistema renina-angiotensina. Las células tienden a agruparse en la pared de la arteriola aferente en la zona extraglomerular mesangial. Ultraestructuralmente se observan gránulos de miofilamentos en el retículo endoplásmico y aparato de Golgi, que corresponden a gránulos de renina y angiotensina II. El mesangio extraglomerular se localiza entre la arteriola aferente y eferente. La mácula densa representa una placa de células tubulares especializadas con una membrana gruesa que se encuentran en la región ascendente del asa de Henle adyacente en el hilio del glomérulo. Las células son columnares bajas y pueden protruir a la luz tubular.

1.1.5. Túbulo proximal

El túbulo proximal es dividido en una porción curva que es la pars convoluta y la porción recta denominada pars recta. Las células del túbulo proximal son cúbicas a columnares bajas eosinofílicas, con citoplasma granular y núcleo redondo central y basal. En la zona basal presenta estriaciones, que corresponden a mitocondrias. El borde en cepillo presenta vacuolas citoplásmicas son menos prominentes que en la pars recta.

El túbulo proximal es el responsable de la reabsorción de alrededor 60% del ultrafiltrado glomerular. Así como de la reabsorción de NaCl, HCO₃, glucosa, aminoácidos y líquido que transporte Na.

1.1.6. Túbulo distal

Consiste entre segmentos diferentes: el asa de Henle, la mácula densa y el túbulo contorneado distal.

Anteriormente se comentó acerca de la mácula densa y el asa de Henle. El túbulo contorneado distal inicia delante de la mácula densa, en la corteza y representa la parte terminal del túbulo distal. Las células contienen numerosas mitocondrias, sin embargo son más altas y con el núcleo más cercano a la luz y con ausencia de las interdigitaciones laterales, son menos eosinofílicas que las células del túbulo proximal y con un borde en cepillo menos prominente.

1.1.7. Intersticio

Consiste en matriz extracelular que contiene glucosaminoglicanos sulfatados y no sulfatados. La matriz es escasa permitiendo que los túbulos se encuentre espalda con espalda. Se encuentra colágeno tipo I y tipo III, así como fibronectina. Se presentan dos tipos de células: células similares a fibroblastos y células similares a linfocitos. El volumen del intersticio aumenta desde la corteza a la papila. Las células en el intersticio medular incluyen las células similares a linfocitos, pericitos y algunos macrófagos espumosos.

1.1.8. Glomérulo

El glomérulo se encuentra formado por capilares, revestidos por una capa delgada de células endoteliales, membrana basal y células epiteliales también llamados podocitos y la cápsula de Bowman. El epitelio visceral es continuo con el epitelio parietal. La

cavidad entre el epitelio visceral y el parietal se llama espacio de Bowman o espacio urinario, la cual se continúa con el epitelio que reviste al túbulo proximal.

El glomérulo es el responsable de la ultrafiltración del plasma. La barrera de filtración consiste en endotelio fenestrado, membrana basal glomerular y diafragmas que forman los procesos podocíticos o pedicelos. Más de tres células presentes en el mesangio se refiere a hiper celularidad.

1.1.9. Células endoteliales

Revisten las paredes capilares glomerulares, estas células tienen citoplasma eosinófilo y núcleo oval, que se localiza cerca de la luz capilar. La porción delgada de las células endoteliales presenta fenestraciones que mide de 70-100 nm de diámetro. El endotelio glomerular sintetiza óxido nítrico y endotelina-1 que es un vasoconstrictor. Expresan CD34.

1.1.1.1 Células mesangiales

Se observa con la tinción de ácido peryódico de Schiff (PAS) y metenamina de plata. Tienen un núcleo hipercromático, así como procesos citoplásmicos que tienen microfilamentos compuestos por actina, miosina y α -actinina. Las células mesangiales poseen capacidad fagocítica y juegan un papel importante en el aclaramiento de macromoléculas.

1.1.1.2 Membrana basal glomerular

Se observa con la tinción de ácido peryódico de Schiff (PAS) y metenamina de plata. Con tinción de hematoxilina-eosina (H-E) y PAS, se observan situadas entre el endotelio y los podocitos en la pared capilar glomerular. En el microscopio electrónico se encuentra una capa densa central (lámina densa) y dos capas más delgadas electronlúcidas (lámina rara interna y lámina rara externa). Los principales componentes de la membrana basal son el colágeno tipo IV, laminina, entactina y proteoglicanos como perlecan y agrin.

1.1.1.3 Podocitos

Los podocitos o llamados también células epiteliales viscerales son las células más grandes del glomérulo, localizadas por fuera de la pared capilar, frecuentemente sobresalen al espacio urinario; tienen un prominente núcleo y abundante citoplasma eosinófilo. Poseen ramificaciones citoplásmicas que rodean los capilares glomerulares llamados pedicelos.

En la microscopía electrónica se observa abundante retículo endoplásmico rugoso, aparato de Golgi bien desarrollado y prominentes lisosomas. Hay abundantes filamentos intermedios, microtúbulos y microfilamentos en el citoplasma. Los filamentos intermedios consisten en vimentina y desmina, que se localizan principalmente en el cuerpo, mientras que los microfilamentos se localizan en los pedicelos. Los filamentos intermedios se unen con los microtúbulos mediante actina, miosina, A-actinina, talina y vinculina.

Las propiedades que tienen los podocitos son el de modificar la superficie de filtración glomerular. Los diafragmas llegan a medir entre pedicelo y pedicelo de 30-40nm.

Las células epiteliales parietales que forman la cápsula deBowman son relativamente células escamosas, tienen un importante potencial proliferativo. Expresan queratinas, cadherinas y factor de transcripción Pax-2.(3)

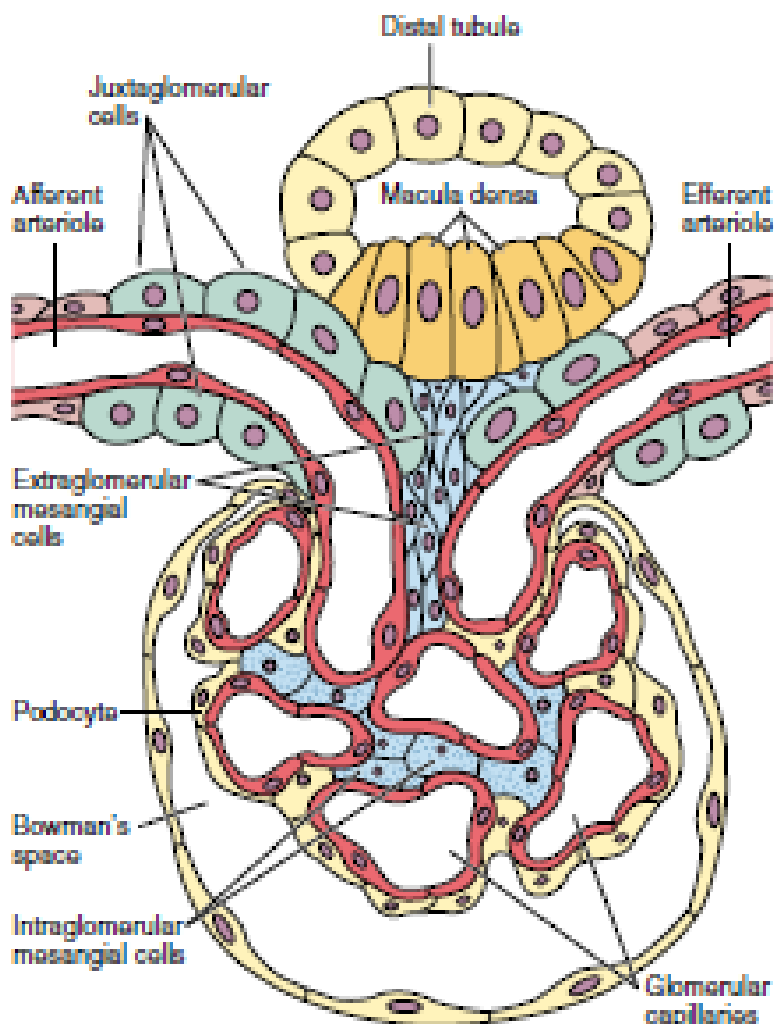


Figura 3. Esquema del aparato yuxtaglomerular.

1.1.1.4. Inervación del riñón

Los nervios renales ayudan a regular el flujo sanguíneo renal, la tasa de filtrado glomerular y la reabsorción de sales y agua por la nefrona. La inervación renal consiste en fibras nerviosas simpáticas que proceden principalmente del plexo celíaco. No existe inervación parasimpática. Las fibras adrenérgicas que inervan los riñones liberan noradrenalina y dopamina. Las fibras adrenérgicas se sitúan adyacentes a las células musculares lisas de las ramas principales de la arteria renal (arterias interlobares, arciformes e interlobulillares) y de las arteriolas aferente y eferente. Además las células granulares productoras de renina de las arteriolas aferentes y eferentes son inervadas por nervios simpáticos. La secreción de renina es estimulada

por el aumento de la actividad simpática. Las fibras nerviosas inervan también el túbulo proximal, el asa de Henle, el túbulo distal y el conducto colector; la activación de tales nervios estimula la reabsorción de sodio por estos segmentos de la nefrona.

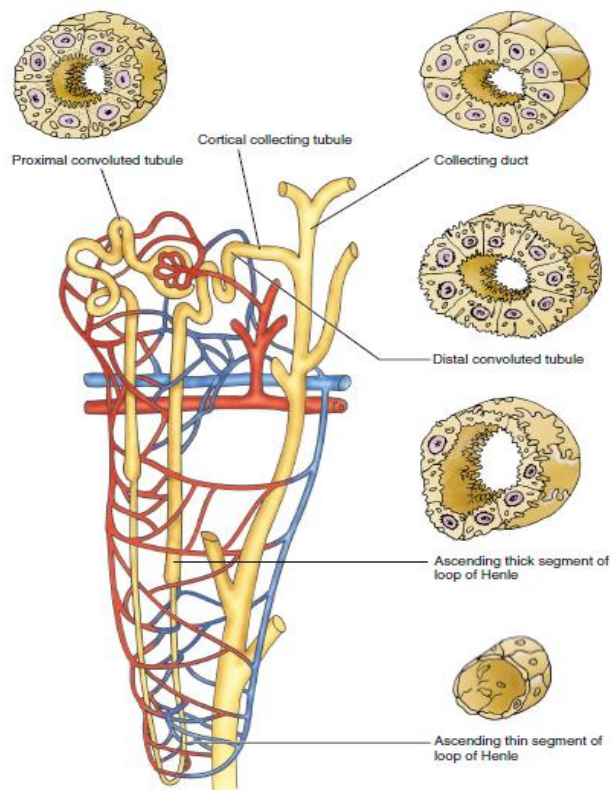


Figura 4. Esquema de cortes transversales del aparato urinario

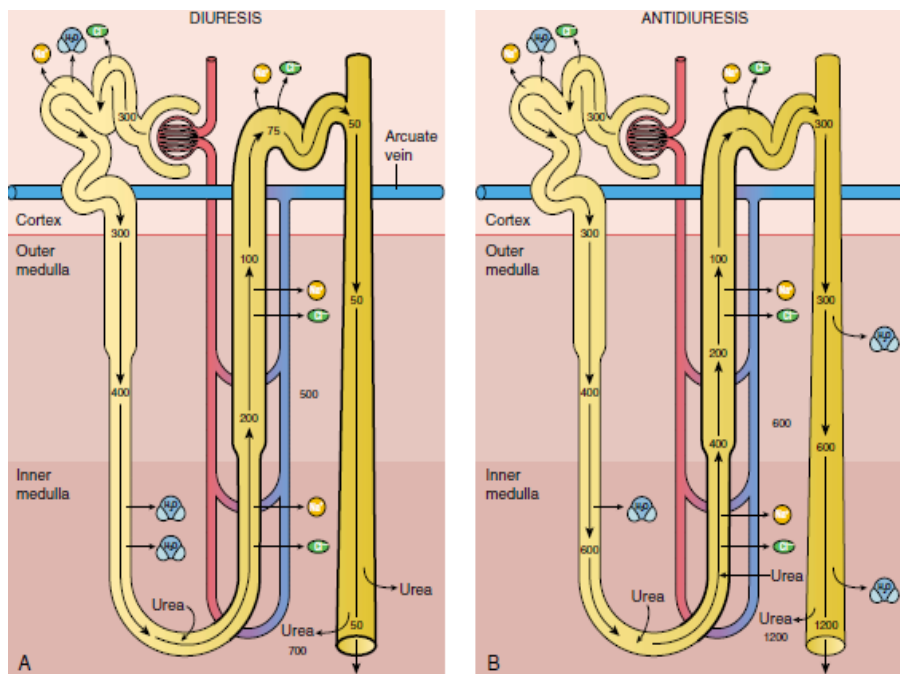


Figura 5. Histofisiología del túbulo urinario. A. en la ausencia de hormona antidiurética (ADH) (diuresis). B. en presencia de ADH (antidiuresis). Los números indican miliosmoles por litro. Las áreas delineadas por una línea gruesa indica que el túbulo es impermeable al agua. En la presencia de ADH, los cambios del túbulo colector llega a ser permeable al agua y la concentración en el intersticio de la médula interna aumenta. Los vasos rectos son simplificados en este dibujo porque rodea al túbulo urinario.

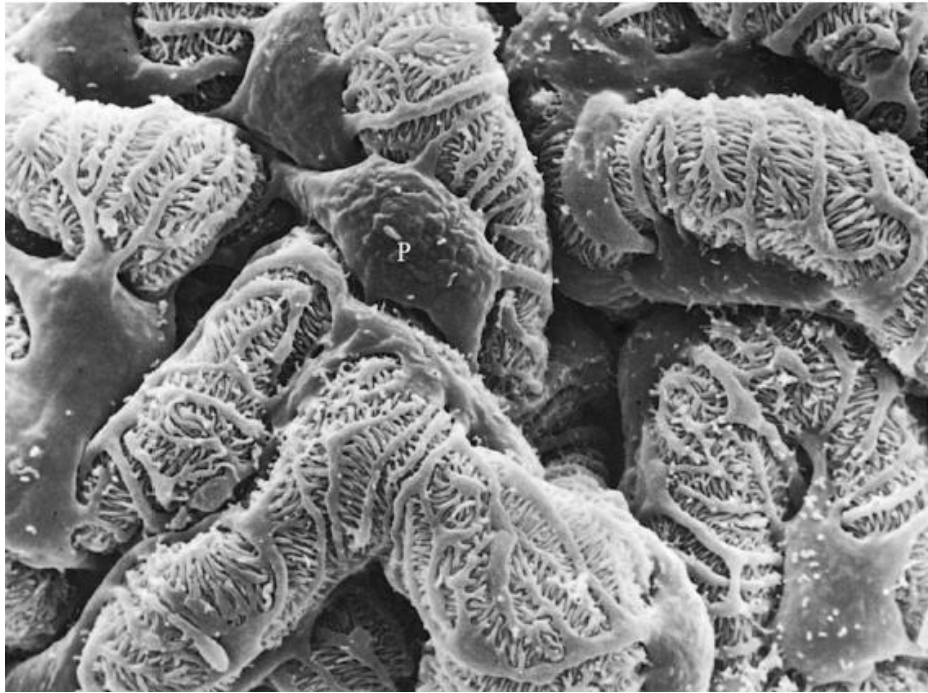


Figura 6. Microfotografía electrónica de podocitos y sus procesos.

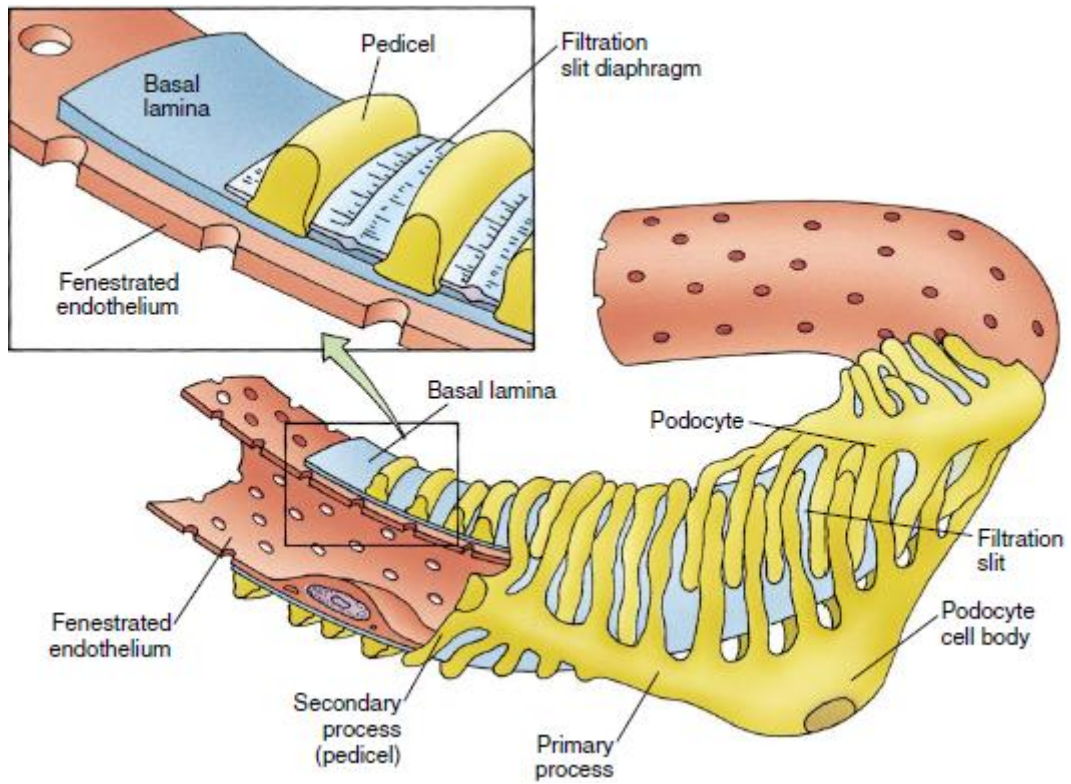


Figura 7. Esquema del glomérulo, los podocitos, pedicelos y membrana basal.

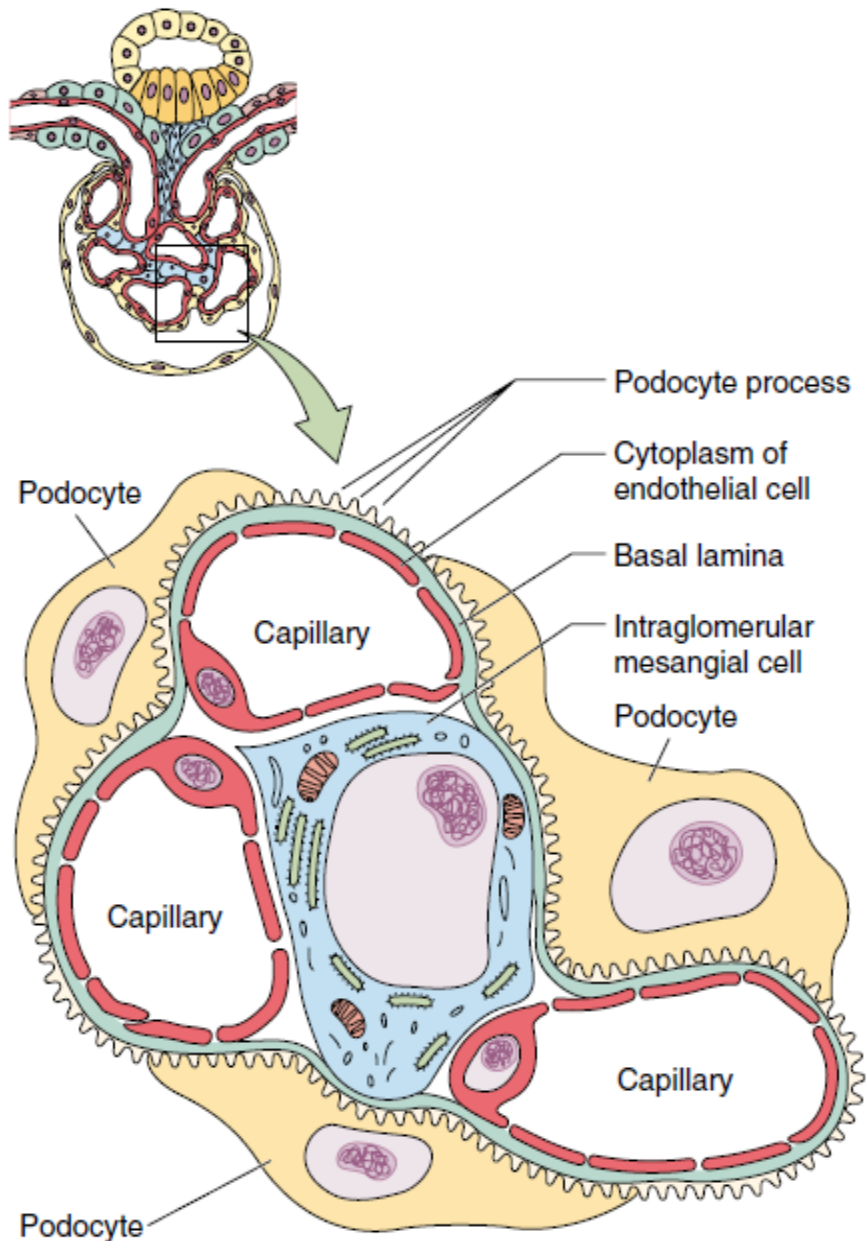


Figura 8. Esquema de la relación entre las células mesangiales intraglomerulares, podocitos y glomérulo.

1.2 Angiogénesis

Las células endoteliales revisten la superficie interna de las estructuras vasculares y juegan un rol importante en el desarrollo de la función y enfermedad. El desarrollo de los vasos sanguíneos se conoce como vasculogénesis (angiogénesis), las células endoteliales proliferan, migran y están asociadas a un laberinto primitivo vascular que sirve andamio para el reclutamiento y proliferación de células musculares lisas. (4)

Angiogénesis es un término griego, acuñado por primera vez en 1787 por el cirujano británico John Hunter para describir el procesos de crecimiento que e ocurría en los cuernos de los renos y que se traduce literalmente como “formación de vasos”.

Los principales factores que estimulan la angiogénesis son angiogenina, angiopoietina-1, Del-1, factores de crecimiento fibroblástico: ácido (aFGF) y básico (bFGF), folistatina, factor estimulador de colonias granulocíticas (G-CSF), factor de crecimiento granulocítico (HGF), interleucina-8 (IL-8), leptina, midkina, factor de crecimiento placentario, factor de crecimiento endotelial derivado de plaquetas (PD-ECGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas BB (PDGF-BBB), pleiotofina (PTN), progranulina, proliferina, factor de crecimiento transformador β (TGF- β), factor de crecimiento transformador β (TGF β), factor de necrosis tumoral α (TNF α), factor de crecimiento vascular endotelial (VEFG).

Por otro lado la generación de vasos ocurre cuando un crecimiento inadecuado de vasos sanguíneos no restituye apropiadamente la circulación necesaria por el órgano, llevando a los tejidos a condiciones de isquemia y muerte celular.(5)

1.3. Microangiopatía trombótica (MAT)

El término Microangiopatía Trombótica (MAT) fue propuesto por Symmers en 1952 (6), para referirse a una lesión de la pared vascular (principalmente en arteriolas y capilares) con engrosamiento de la misma, edema y desprendimiento de las células endoteliales de la membrana basal, acumulación de material algodonoso en el espacio subendotelial, trombosis plaquetaria intraluminal y obstrucción parcial o completa del lumen vascular (7).

La microangiopatía trombótica que afecta al riñón consiste en un grupo heterogéneo de desórdenes de diferentes etiologías.

Clínicamente se caracteriza por una triada compuesta por anemia hemolítica microangiopática, trombocitopenia y daño renal agudo. Puede estar o no asociada a un padecimiento sistémico. Cuando afecta diversos órganos se puede manifestar mediante petequias, púrpura, sangrado de tubo digestivo, afasia, disfasia, parestesia, problemas visuales, convulsiones y coma.

El daño renal se manifiesta por síndrome urémico hemolítico. En la afección de sistema nervioso central se presenta la púrpura trombocitopénica trombótica.

La trombocitopenia y la anemia hemolítica están casi invariablemente presentes en pacientes con MAT y son el reflejo de la disrupción y consumo de plaquetas y hematíes en la microcirculación. La presencia de otros signos clínicos depende de la

distribución de las lesiones microvasculares y la consecuente disfunción orgánica. Han sido descritas dos entidades patológicamente indistinguibles pero clínicamente diferenciables, según exista un compromiso prevalente del cerebro o de los riñones.

1.3.1. Patogénesis

La microangiopatía trombótica (MAT) se caracteriza histopatológicamente por la oclusión que resulta en trombosis microvascular y clínicamente se presenta como trombocitopenia profunda, anemia hemolítica microangiopática y datos de isquemia en diferentes órganos.

La MAT incluye dos síndromes:

1. Púrpura trombocitopénica trombótica
2. Síndrome urémico hemolítico

Las características histopatológicas de la TTP son: trombos hialinos en la luz de las arteriolas terminales y capilares. Las lesiones trombóticas están acompañadas por proliferación celular endotelial localizada. En pacientes que han muerto por esta causa, se han encontrado microtrombos en todos los órganos, principalmente en miocardio, riñón, páncreas, glándula suprarrenal y cerebro.

De los órganos más importantes que se ven afectados son los riñones, en el que la microangiopatía trombótica se encuentra frecuentemente como causa de daño vascular. El glomérulo se encuentra constituido por podocitos que son células epiteliales altamente especializadas, así como hay una membrana glomerular fenestrada y una membrana basal glomerular, estas tres estructuras forman la barrera de filtración glomerular. Los podocitos mantienen esta función por múltiples mecanismos:

1. Los diafragmas de barrido entre los pedicelos
2. La síntesis e integridad de la membrana celular
3. Las interacciones de las células endoteliales

El daño a los podocitos juega un papel importante en el síndrome nefrótico y síndrome nefrítico, entidades que tienen como causa diversas enfermedades (8).

El síndrome de anemia hemolítica se puede asociar a enfermedades con diarrea o sin diarrea, y puede ser esporádicas o familiares.

Las enfermedades asociadas a diarrea son secundarias a infección por *Escherichia coli*. El mecanismo de esto es la producción de verotoxinas y moléculas de adhesión, que facilitan la acción unión de bacterias a colonocitos, transfiriendo así las toxinas.

La forma esporádica ha sido ligada a mutaciones en el complemento regulador de la proteína del factor H. esta forma denominada púrpura trombocitopénica trombótica a sido ligada a anomalías de las metaloproteinasas que son las responsables del rompimiento del factor largo de Von Willebrand en multímeros pequeños menos activos (ahora llamados ADAMTS-13). Se puede encontrar deficiencia de un inhibidor de la proteasa. La ausencia de la proteasa resulta en un aumento de multímeros VWT, que son protrombóticos.

1.3.2. Histopatología

Los principales hallazgos patológicos de daño renal son en los capilares glomerulares, arterias y arteriolas. Estos cambios se producen por daño endotelial y activación del sistema de coagulación.

En estadios tempranos los glomérulos muestran engrosamiento de las paredes capilares causados por edema de las células endoteliales y acumulación de material entre la célula endotelial y la membrana basal.

En microscopía de luz las paredes capilares muestran un doble contorno con tinciones de plata. En la microscopía electrónica se observa la presencia de material fibrilar acelular en la región subendotelial.

El término de glomérulo con menos sangre, es utilizado para describir el glomérulo con asas capilares colapsadas, que contienen fragmentos de eritrocitos, plaquetas y fibrina. La necrosis fibrinoide en la arteriola eferente se asocia a trombosis en el glomérulo, esta fase se conoce como fase temprana. Generalmente no se observa aumento de la celularidad. El mesangio muestra pérdida de la arquitectura con apoptosis de las células mesangiales, este proceso se denomina mesangiólisis. La disolución parcial o completa de la matriz mesangial y de las células resulta en el desarrollo de dilatación aneurismática de los capilares. El daño isquémico se caracteriza por colapso y engrosamiento de las paredes capilares con plegamiento de éstas. En el daño vascular agudo estos hallazgos se hacen prominentes y las lesiones vasculares incluyen trombosis de las arteriolas y arterias. Cuando ocurre necrosis de los capilares glomerulares se pueden observar medias lunas. En lesiones progresivas la proliferación y respuesta esclerótica se combinan en el glomérulo. Las áreas de mesangiólisis progresan a cambios escleróticos, con proliferación de las células glomerulares intrínsecas, lo que puede producir un cambio compatible con patrón membranoproliferativo, el cual es indistinguible de la glomerulonefritis tipo I por microscopía de luz. El análisis por inmunofluorescencia y microscopía electrónica puede hacer el correcto diagnóstico de la lesión de la membrana basal glomerular.

Los cambios arteriales agudos pueden ir desde daño moderado a severo del endotelio con evidencia de necrosis fibrinoide de la capa media u trombosis de la luz glomerular. Conforme la enfermedad progresa se encuentra proliferación de la capa miointimal con estrechamiento de la luz capilar y arterial, de las arterias arcuata e interlobulares.

Las células miointimales presentan apariencia edematosa. Esta lesión se denomina como hiperplasia mucoide de la íntima como característica de la microangiopatía trombótica. Cuando la lesión avanza, la capa elástica interna presenta duplicación. Esta laminación produce una importante afección de la luz vascular. Esta fase se asocia frecuentemente con hipertensión severa.

Los cambios en los túbulos e intersticiales son secundarios a las lesiones vasculares y glomerulares. Se encuentra colapso tubular asociado con necrosis tubular. Las áreas de necrosis e infartos se presentan en los casos severos.

La microscopía de inmunofluorescencia demuestra depósitos de fibrina o fibrinógeno en el glomérulo y en el mesangio así como en las paredes vasculares. Ocasionalmente se han presentado depósitos no específicos así como también de inmunoglobulinas y complemento.

Los hallazgos de la microscopía electrónica muestra lesiones tempranas de separación de la membrana basal y el endotelio con acumulación subendotelial de material fibrilar que corresponde fibrinógeno. La trombosis de los capilares con tactoides de fibrina también se ha encontrado con acumulación de plaquetas. Las células endoteliales en el glomérulo, arterias y arteriolas muestran plegamiento y separación de las estructuras subyacentes y evidencia de apoptosis(9).



Figura 9. La microangiopatía trombótica muestra de la membrana basal glomerular, con microscopía de luz, con incremento de los depósitos de fibrina en la lámina rara interna. Ocasionalmentese pueden observar tactoides de fibrina en la microscopía electrónica.

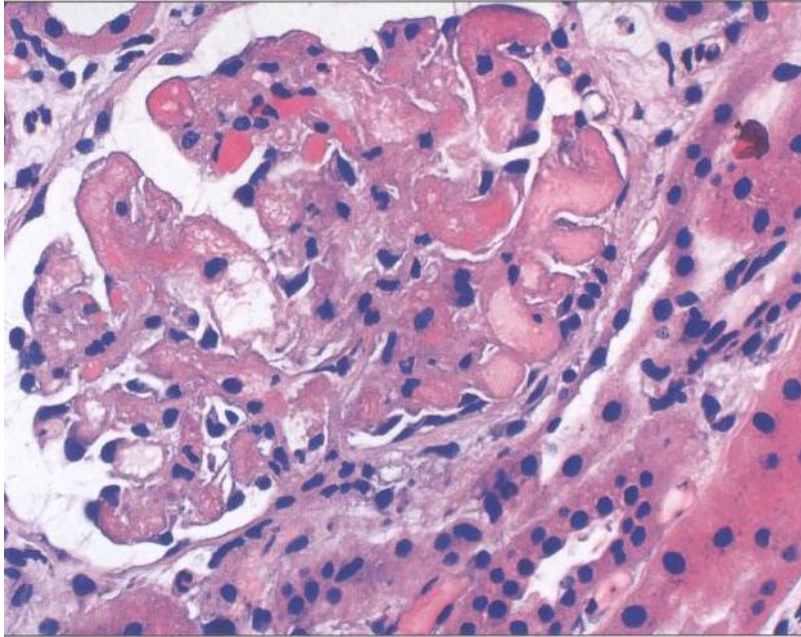


Figura 10. El glomérulo muestra engrosamiento de las paredes capilares causada por edema y acumulación de material entre las células endoteliales y la membrana basal. El microtrombo esta presente con tinción H-E. (H-E, x400)

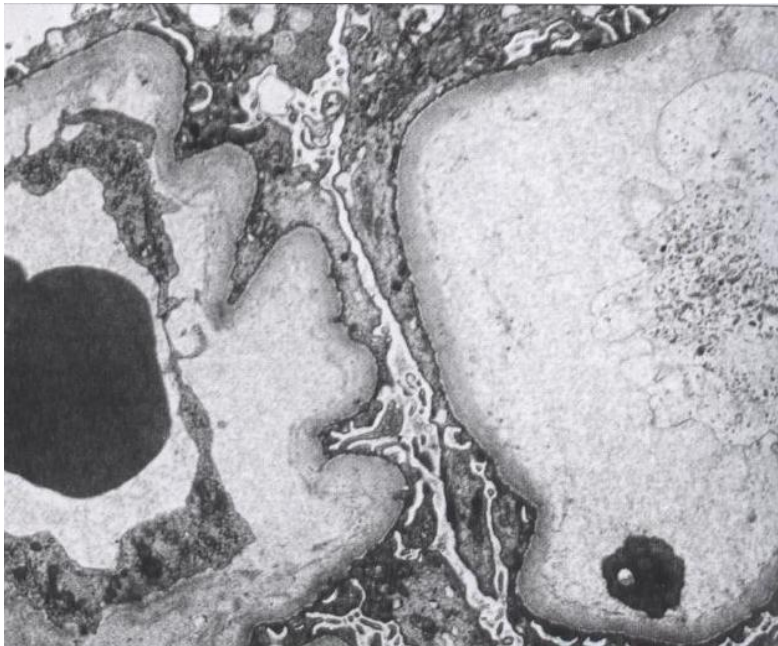


Figura 11. La microscopía electrónica muestra material electron lúcido que separa las células endoteliales de la membrana basal. (TEM, x5000)

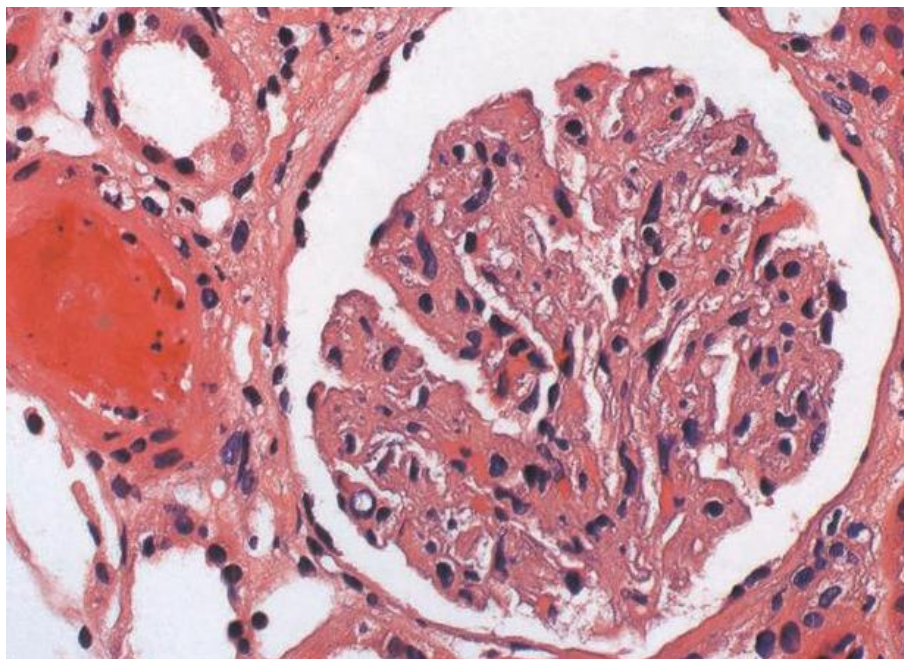


Figura 11. Se observa necrosis fibrinoide de la arteria aferente, una característica que se encuentra en los glomerulos colapsados. (H-E, x400)

1.4. Papel de los microRNAs en la proliferación vascular y microangiopatía trombótica

Las células endoteliales son necesarias para el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos en la neovascularización.

Los microARN (miRNA) son una clase de ARN no codificantes que regulan la expresión génica en el nivel post-transcripcional mediante la inhibición de la traducción de proteínas a partir del ARNm mediante la promoción de la degradación de ARNm. Más de 500 miRNAs humanos han sido identificados hasta ahora, y la creciente evidencia indica que los miRNAs tienen distintos perfiles de expresión y juegan un papel crucial en diversos procesos fisiológicos y patológicos, como cardiogénesis, la diferenciación de linaje hematopoyético, y la oncogénesis. Mientras tanto, un miRNAs específicos pocos que regulan las funciones de las células endoteliales y la angiogénesis se han descrito. El miRNA-27b, y miRNA-130 fueron identificados colaboradores para pro-angiogénesis. Por el contrario, miR-221 y miR-222-inhiben la migración de células endoteliales y la proliferación endotelial y de la expresión de la óxido nítrico sintetasa.

Por otra parte, algunos miRNAs están implicados en la angiogénesis tumoral, como el MIR-17-92 y miR-378 en racimo. Los primeros estudios indican también la contribución de los miRNAs específicos (por ejemplo, miR-155, miR-21, y miR-126) a la inflamación y las enfermedades vasculares. Por lo tanto, la identificación de miRNAs y sus respectivos objetivos pueden ofrecer nuevas estrategias terapéuticas para el tratamiento de las enfermedades vasculares

tales como la aterosclerosis, para mejorar la neovascularización después de la isquemia, o para prevenir el progresión tumoral.(10)

Se demuestra que una célula endotelial restringido microARN (miR-126) interviene en el desarrollo de angiogénesis in vivo.

La eliminación selectiva de miR-126 en ratones hace que los vasos se dañen, debido a la pérdida de la integridad vascular y defectos en las células endoteliales proliferación, la migración y la angiogénesis.

Las anomalías vasculares de miR-126 en ratones se parecen a las alteraciones de la señalización disminuida de los factores de crecimiento angiogénico factores, tales como VEGF y FGF.

El miR-126 mejora las acciones pro-angiogénicas de VEGF y FGF y promueve la formación de vasos sanguíneos mediante la represión de la expresión de Spred-1, que es un inhibidor de la señalización intracelular de la angiogénesis (11).

Hay estudios que han demostrado que miR-126 regula muchos aspectos de las células endoteliales, incluyendo migración celular, la reorganización del citoesqueleto, red capilar la estabilidad y en la supervivencia celular. Así mismo se ha demostrado que miR-126 es necesaria para el mantenimiento de estructura vascular in vivo. El miR-126 apunta directamente a moléculas como SPRED1, 1238G, PIK3R2 de la represión y funciones para promover la señalización del VEGF inhibiendo SPRED1 y PIK3R2.(12)

En otros estudios recientes se han identificado miRNAs específicos expresadas en las células endoteliales. Sessa et al. (19) que se utiliza para identificar expresión de microarreglos. De los 25 mirna que se ha encontrado más altamente expresados en las células endoteliales, incluyen miR-222, miR-221, miR-23a, miR-181a, miR-107, miR-31, miR-103-1.2, miR-320, miR-106, y el miR-22.

EL miR-126 es expresada en los niveles más bajos, incluyendo órganos hematopoyéticos, endocrino, y los tejidos reproductivos. Probablemente refleje la vascularidad de estos órganos. El miR-126 se expresa en las células endoteliales, pero no en las células del músculo liso vascular ni linfocítica en células (13).

1.5. TECNICAS DE ESTUDIO DE MATERIAL GENETICO

i. 1.5.1. Material genético

Las enfermedades humanas tienen una base genética, algunas son de origen hereditario y algunas otras adquiridas, de acuerdo a los cambios de la secuencia o patrón de expresión de genes. Un gen es una unidad que codifica para una proteína o ARN. La posición en la que se encuentra un gen en un cromosoma se llama locus. Las variantes en la secuencia de un gen son conocidas como alelos. Los cambios de la secuencia de ADN son conocidos como mutaciones. Por definición, un cambio presente en por lo menos 1% de la población es conocida como polimorfismo.

El ADN y ARN son polímeros compuestos por unidades repetitivas de azúcares (desoxirribosa o ribosa respectivamente). Los azúcares se unen mediante uniones fosfodiéster entre el carbono 3' de un azúcar y el carbono 5' del siguiente. En donde la terminación 5' se une al grupo hidroxil 3'. La diferencia entre el ADN y ARN es que hay

un carbono 2' como grupo hidroxilo en la ribosa. La composición del ADN son las bases adenina, citosina, guanina y timidina; el ARN se compone por uracilo que sustituye a la timidina.

El ARN en general existe como moléculas de cadena simple; sin embargo, el emparejamiento puede conformar moléculas tridimensionales, así como también una doble hélice con otra cadena complementaria de ARN o con una hebra de ADN complementaria.

La capacidad de las hebras complementarias de los ácidos nucleicos de unirse a otros, es la propiedad más importante del ADN y ARN; es debido a esta propiedad que se puede realizar en el laboratorio la hibridación de los ácidos nucleicos, como en la reacción en cadena de polimerasa (PCR), Southern Blot y la fluorescencia hibridación in situ (FISH).

Existen diversos tipos de ARN según su función:

El ARN mensajero (mRNA) es utilizado para transferir información genética, en forma de secuencias de nucleótidos, desde los genes a los ribosomas; en donde la secuencia es usada para determinar el orden de los aminoácidos en un polipéptido.

El ARN ribosomal (rRNA) es el mayor componente de los ribosomas, ya que la estructura de éstos en los polipéptidos son sintetizados por el rRNA.

El ARN trasmisor (tRNA) funciona como un adaptador que une la secuencia de los nucleótidos en el mRNA a la secuencia de los aminoácidos de un polipéptido.

Para realizar el análisis del material genético se han desarrollado varias técnicas, denominadas "técnicas de amplificación"; estas técnicas se dividen en dos grupos: blanco de amplificación y señal de amplificación.

- El blanco de amplificación consiste en el incremento en el número de copias de un determinado DNA o RNA por síntesis in vitro de ácidos nucleicos.
- La señal de amplificación es aumentar la señal del DNA o RNA sin elevar la cantidad de ácidos nucleicos.

Cualquiera de las dos técnicas se utiliza para detectar y cuantificar ácidos nucleicos específicos, así como detectar mutaciones.

1.5.2. Reacción en cadena de la polimerasa (PCR)

1.5.2.1. Cuantificación de ácidos nucleicos Específicos por PCR

Para el estudio de las diversas enfermedades se utilizan diferentes métodos, el utilizado en el presente estudio es la reacción en cadena de polimerasa (PCR).

La PCR es un estudio que pertenece al grupo de las técnicas de amplificación y fue la primera que se desarrolló, fue descrita por Kary Mullis en 1993. Es uno de las más utilizadas en los ensayos clínicos y en la investigación molecular en patología. La base de la reacción consiste en que el ADN se amplifica (se conoce como plantilla), un par de oligonucleótidos que funcionan como iniciadores, los cuatro desoxirribonucleótidos trifosfatos (dNTPs), que son los componentes básicos de la síntesis del DNA, una ADN polimerasa, las concentraciones adecuadas de magnesio y de amortiguamiento. Los otros reactivos como betaína y dimetilsulfóxido (DMSO) y 7-deaza-Dgtp se pueden añadir para mejorar la amplificación. Se utilizan varios ADN polimerasas

termoestables que se obtienen de microorganismos termófilos. Los oligonucleótidos son típicamente de 18-30 nucleótidos de longitud de una cadena sencilla de DNA. La secuencia de cada cebador es complementaria a una de las hebras de DNA diana y del par de cavadores flanco del DAN a amplificar. Los cebadores se incorporan al producto final de la PCR. La PCR inicia con el calentamiento de la solución a 94°C. a esta temperatura las hebras complementarias de DNA genómico se separan completamente. La solución se enfría a una temperatura adecuada, por lo general alrededor de 55°C, en el que los cebadores hibridan con las secuencias complementarias. La temperatura de enfriamiento es fundamental, ya que si es demasiado baja, no es se realiza una hibridación de los cebadores en los resultados deseados de la amplificación de las secuencias genómicas de interés. Si por el contrario, la temperatura es demasiado alta, los primers no se pueden hibridar con el objetivo.

Una vez que se haya determinado la temperatura correcta, se reconoce el DNA polimerasa y se extiende el primer por medio de la adición de nucleótidos en una orientación que va de 5´-3´. Esta síntesis de DNA es acelerada por el aumento de la temperatura de la reacción óptimo de la DNA polimerasa, que suele ser de 72°C de *Thermus aquaticus* (Ta polimerasa). Posterior a la amplificación, se eleva la temperatura a 94°C y se repite el proceso. Un ciclo de amplificación consiste en la desnaturalización por calor de DNA primer y la extensión del cebador por la DNA polimerasa.

Durante cada ciclo, el número de copias de la secuencia del DNA blanco se duplicó. El rendimiento teórico del producto es el siguiente:

$$P = T(1 + E)^n$$

En donde P es el número de moléculas sintetizadas, T es el número de ciclos realizados. El valor de e puede variar entre 0 y 1. En la fase exponencial de síntesis de DNA, el valor de E se aproxima al máximo teórico, que es 1 y cuyo caso se duplica el número de copias de DNA. En los ciclos posteriores de PCR el valor de E disminuye hacia 0, resultando en una meseta de la síntesis del DNA. Después de 30 ciclos el número de copias del DNA aumentó alrededor de mil millones de veces y es suficientemente abundante que se puede demostrar su presencia en geles con técnicas de tinción.

El producto amplificado tiene la misma secuencia que la del DNA objetivo. Si la mutación está presente la plantilla del DNA también está presente en el producto amplificado.

El producto final de la amplificación por PCR es valorado de manera cualitativa, por lo que es necesario realizar la valoración de manera cuantitativa y objetiva. Para esto es necesario se realice un control interno, en donde el control participe en la misma reacción, tanto con la transcripción inversa como en la amplificación de los ciclos de PCR. Al medir la proporción de producto formada por el objetivo de que a partir del control interno, es posible terminar la cantidad de ácido nucleico diana presente en la muestra.

1.5.3. MicroRNAs.....

Se han reportado en estudios recientes, un rol importante de MicroRNAs para la regulación desarrollo de procesos patológicos renales; entre los que destacan miR-15 presente en la enfermedad quística del riñón; miR-17-92 implicado en el tumor de

Wilms; así como varios miRNAs afectados por el factor transformante del crecimiento β -1 (TGF β -1) en modelos de nefropatía diabética. Algunos promotores del depósito de matriz con el miR-92 y miR-377; en la transición epitelial a mesenquimatosa participan el miR-200 y miR-2005(1).

Algunos estudios preliminares han demostrado que el miR-21 participa en la inhibición de la proliferación de células mesangiales en nefropatía diabética inducida en ratones db/db(2).

Los microRNAs (miRNAs) pertenecen a una pequeña familia de RNAs (18 a 22 nucleótidos) que interactúan para inhibir la traducción o bloquear la degradación de los RNA mensajeros (RNAm), que participan en la proliferación celular, desarrollo embrionario y control en la diferenciación y muerte celular. Múltiples miRNAs se han identificado en la regulación de la expresión de genes asociados a tumores, mientras que algunos otros

2. Justificación

La microangiopatía trombótica glomerular en pacientes con hipertensión arterial sistémica primaria, es un hallazgo frecuente y es una causa de síndrome nefrótico y crónicamente de insuficiencia renal.

Se realiza el presente estudio para determinar si existen marcadores tempranos de daño endotelial y alteración en la integridad endotelial; específicamente con marcadores moleculares como miRNA 92a y miRNA 126 respectivamente.

3. Hipótesis

El miRNA 92a se encuentra inhibido en para promover angiogénesis, por lo que puede ser un marcador temprano del daño glomerular por microangiopatía trombótica, ya que en lesión por MAT, se encuentra neovascularización y recanalización como mecanismo compensatorio. Si existe microangiopatía trombótica, entonces la expresión del miRNA92a se encontrará disminuida o ausente; en el caso contrario, en pacientes normales se encontrará expresión de este miRNA.

- El miRNA 126 al ser un marcador específico del sistema vascular, que mantiene la integridad endotelial vascular estará presente en el daño por microangiopatía trombótica, para promover angiogénesis y así la reparación endotelial, así como la inhibición de la expresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales y la potencialización de la MAP cinasa, el factor de crecimiento vascular endotelial y el factor de crecimiento de fibroblastos, para realizar la angiogénesis.

4. Objetivos

1. Determinar la presencia de marcadores tempranos de daño glomerular, específicamente:
 - a. Del miRNA 92a como marcador de daño endotelial, de recanalización y neovascularización, en lesión por microangiopatía trombótica.
 - b. Del miRNA 126 como marcador de integridad endotelial, como promotor de angiogénesis y reparación endotelial, como mecanismo compensatorio del daño endotelial por microangiopatía trombótica.
2. Demostrar la ausencia y presencia de la expresión de algunos de los marcadores tempranos en pacientes con hipertensión arterial sistémica primaria con daño por microangiopatía trombótica.

3. Demostrar la ausencia y presencia de la expresión de miRNAs, en tejido renal con microangiopatía trombótica para comprender la correlación entre el daño endotelial y la participación de miRNA 92a y miRNA 126, mediante la alteración morfológica por histología y con técnicas de amplificación del material genético.

5. Material y método

La base de datos del presente estudio se adquirió del servicio de Anatomía Patológica del Hospital General de México, del área de postmortem.

1. Los datos que se recolectaron son de los años 2008 y 2009, de resultados de estudio de autopsias, con los diagnósticos de hipertensión arterial sistémica primaria como diagnóstico principal, con microangiopatía trombótica.
2. Se evaluaron los cortes de tejido renal, para corroborar los datos histológicos de daño renal y microangiopatía trombótica, con tinción de Hematoxilina-eosina (H-E).
Fotos HE
3. De los cortes seleccionados, se realizaron estudios histoquímica con tinción de Acido periódico de Schiff (PAS), para corroborar datos histológicos compatibles con MAT.
Fotos PAS
4. Posteriormente se eligieron de los cortes más representativos los bloques de parafina para realizar estudios de amplificación de material genético.
5. Se realizaron estudios de amplificación de material genético con la técnica de Reacción en cadena de polimerasa, con lo que se siguieron los siguientes pasos:

No	PROTOCOLO	Dx RIÑÓN
1.	A08-003	Sin DM Arteriolonefroesclerosis Esclerosis focal y segmentaria secundaria
2.	A08-098	DM tipo 2 15 años Glomeruloesclerosis diabética Arteriolonefroesclerosis hialina avanzada MAT crónica
3.	A08-285	Arteriolonefroesclerosis avanzada Glomeruloesclerosis focal y segmentaria secundaria, variante del hilio MAT con Patrón MP Arterioesclerosis proliferativa de la íntima
4.	A08-295	Sin DM Arteriolonefroesclerosis hialina avanzada Esclerosis mesangial
5.	A08-299	Sin DM Arteriolonefroesclerosis hialina avanzada Glomerulomegalia Microangiopatía trombótica
6.	A08-328	DM tipo 2 tiempo desconocido Glomeruloesclerosis diabética Arteriolonefroesclerosis hialina avanzada MAT crónica
7.	A08-331	Arteriolonefroesclerosis hialina moderada
8.	A08-406	Arteriolonefroesclerosis hialina temprana
9.	A08-460	Arteriolonefroesclerosis avanzada
10.	A08-501	Arteriolonefroesclerosis proliferativa (hiperplásica) avanzada Esclerosis focal y segmentaria MAT aguda y crónica
11.	A08-536	Arteriolonefroesclerosis hialina avanzada con necrosis fibrinoide Esclerosis segmentaria temprana MAT aguda
12.	A08-555	Arteriolonefroesclerosis hiperplásica moderada
13.	A08-564	- Arteriolonefroesclerosis hialina avanzada MAT aguda
14.	A08-593	-
15.	A08-596	Arteriolonefroesclerosis Sin alteraciones
16.	A08-603	Glomerulopatía nodular MAT crónica
17.	A08-643	Arteriolonefroesclerosis avanzada. Glomeruloesclerosis focal y segmentaria MAT crónica
18.	A08-665	Arteriolonefroesclerosis hiperplásica moderada
19.	A08-685	Arteriolonefroesclerosis hialina moderada
20.	A08-716	Arteriolonefroesclerosis hiperplásica leve
21.	A09-007	Arterioesclerosis hiperplásica avanzada Glomeruloesclerosis global Hipertensión arterial sistémica secundaria a Enfermedad hipertensiva del embarazo
22.	A09-040	Datos anatómicos de hipertensión arterial sistémica Arteriolonefroesclerosis hiperplásica avanzada
23.	A09-065	Hipertensión arterial sistémica Arteriolonefroesclerosis hialina avanzada Necrosis tubular aguda
24.	A09-083	Glomerulopatía nodular MAT aguda crónica Hipertensión arterial sistémica Arteriolonefroesclerosis hiperplásica y hialina avanzada

25.	A09-099	Hipertensión arterial sistémica Arteriolonefroesclerosis hialina leve
26.	A09-124	Historia clínica de preeclampsia Hipertensión arterial sistémica Arteriolonefroesclerosis hiperplásica avanzada Glomeruloesclerosis global y segmentaria focal
27.	A09-160	MAT Esclerosis focal y segmentaria Hipertensión arterial sistémica Infartos renales antiguos pequeños bilaterales Arteriolonefroesclerosis hialina avanzada
28.	A09-177	Hipertensión arterial sistémica Arteriolonefroesclerosis hialina avanzada Glomeruloesclerosis global avanzada con hialinosis
29.	A09-323	MAT aguda y crónica Patrón membranoproliferativo Hipertensión arterial sistémica Arteriolonefroesclerosis hialina e hiperplásica avanzada Infartos antiguos
30.	A09-345	Hipertensión arterial sistémica
31.	A09-347	Hipertensión arterial sistémica reciente diagnóstico
32.	A09-365	Hipertensión arterial sistémica Arteriolonefroesclerosis hialina avanzada Microangiopatía trombótica aguda séptica NO SIRVE
33.	A09-420	Hipertensión arterial sistémica Diabetes mellitus tipo 2 20 años Glomeruloesclerosis difusa mínima. Arteriolonefroesclerosis hialina
34.	A09-428	Hipertensión arterial sistémica Arteriolonefroesclerosis
35.	A09-456	Hipertensión arterial sistémica Infarto renal
36.	A09-469	Hipertensión arterial sistémica Diabetes mellitus tipo 2 de 12 años Glomeruloesclerosis nodular y difusa diabética Nefroesclerosis hialina avanzada e hiperplásica MAT
37.	A09-526	Hipertensión arterial sistémica Glomeruloesclerosis focal y segmentaria Arteriolonefroesclerosis hiperplásica
38.	A09-566	Hipertensión arterial sistémica Amiloidosis
39.	A09-587	Hipertensión arterial sistémica Arteriolonefroesclerosis hialina avanzada Glomerulopatía nodular MAT crónica
40.		Hipertensión arterial sistémica Arteriolonefroesclerosis hialina avanzada Arteriopatía de la íntima NO SIRVE

Tabla 1. Datos recopilados de autopsias años 2008 y 2009, con diagnóstico finales.

REACCION EN CADENA DE POLIMERASA (PCR)

1.1.1. EXTRACCION DE RNA

- DESPARAFINIZACION

- ADITIVO DE AISLAMIENTO PURIFICACION DE ACIDOS NUCLEICOS FINALES Y DIGESTION DE NUCLEASAS
-

6. Resultados

En el 2008 se realizaron 736 autopsias, de éstas, 20 tienen los diagnósticos de hipertensión arterial primaria con microangiopatía trombótica glomerular; de las 20 autopsias revisadas se obtuvieron 9 con los diagnóstico comentados anteriormente. De 1 autopsia no se encontró material de estudio.

En el 2009 se realizaron 742 autopsias, de las que se obtuvieron 20 con HAS y MAT, de las cuales 2 se eliminaron por tratarse de microangiopatía séptica y se diagnosticaron con datos compatibles con microangiopatía trombótica en 5 autopsias.

Posteriormente en el estudio se confirmaron 14 autopsias con las tinciones de H-E y PAS con microangiopatía trombótica en el glomérulo renal como se puede observar en las fotografías.

Al realizar el estudio del MiRNA 92a se puede observar que la expresión el grupo riñones normales se observan las celdas con expresión intensa de esta molécula. Así mismo se puede observar que en el grupo de riñones con hipertensión pero sin microangiopatía trombótica presentan expresión de miRNA 92a sin embargo, en 4 la expresión es intensa y en 4 la expresión es de moderada, en 1 es baja y 1 es ausente. En el grupo de riñones con MAT hay 2 casos con expresión intensa, 5 con expresión moderada, 2 con baja y 1 con ausencia de la expresión.

MIRNA 92a	INTENSA	MODERADA	BAJA	AUSENTE
NORMAL	5	-	-	-
HIPERTENSION	4	4	1	1
MAT	2	5	2	1

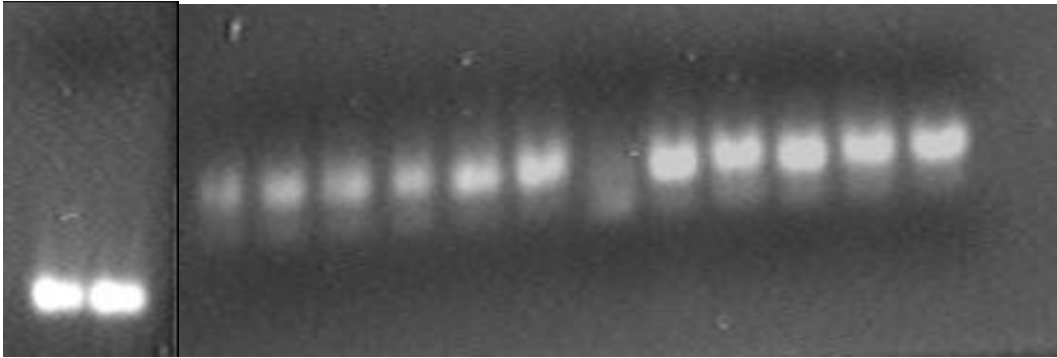
Por otro lado en el estudio del MiRNA 126 se puede observar que la expresión de esta molécula en riñones normales presenta 1 celda con expresión intensa de esta molécula. Así mismo se puede observar que en el grupo de riñones con hipertensión pero sin microangiopatía trombótica presenta en 1 celda la expresión es intensa y en 4 la expresión es de moderada, en 1 es baja y 1 es ausente. En el grupo de riñones con MAT hay 5 casos con expresión intensa, 4 con expresión moderada y 4 con baja.

MIRNA 126	INTENSA	MODERADA	BAJA	AUSENTE
NORMAL	1	-	4	-

HIPERTENSION	1	6	1	2
MAT	5	4	1	-

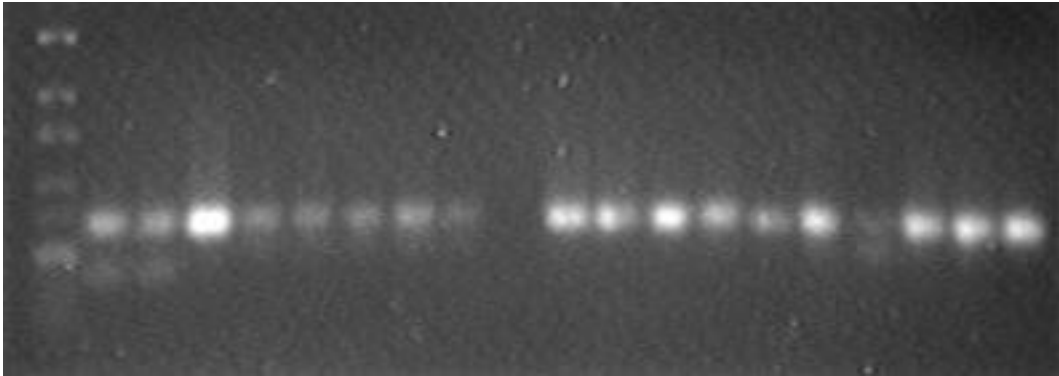
miRNA 92a HAS

SANOS



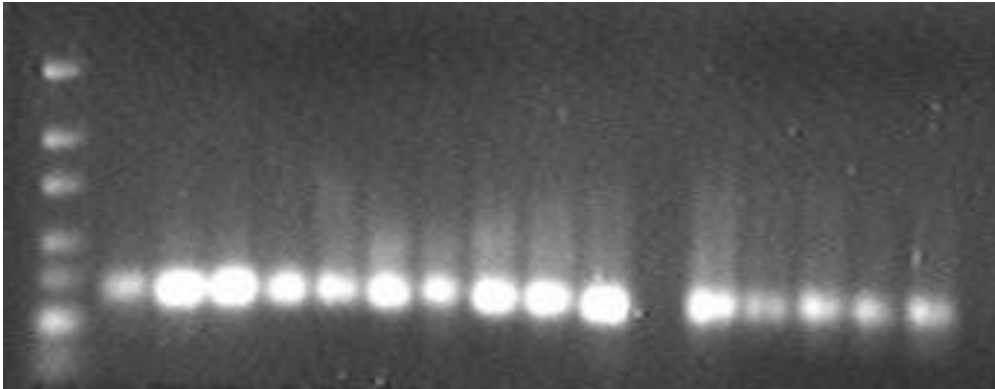
miRNA 126 HAS

miRNA 92^a MAT



MiRNA 126 MAT

NORMAL



7. Discusión y conclusiones

Por lo anterior podemos concluir lo siguiente:

- El miRNA 92a bajo condiciones normales se expresa en intensamente ya que es inhibidor de la proliferación vascular y endotelial por lo que en riñones sin alteración se expresa intensamente para cumplir con su función.
- En alteraciones que afecten la microcirculación, la función, oxigenación y alimentación de los órganos también se ve afectada, esto causa que como mecanismo de defensa, el organismo compense la isquemia con la recanalización de órganos, o trombos como es nuestro caso. Al disminuir la expresión de miRNA 92a permite que se desencadenen los factores estimulantes de angiogénesis y proliferación endotelial.
- En el caso de miRNA 126 la expresión se encuentra presente, sin embargo la expresión es baja, ya que permite que las células endoteliales mantengan su integridad, sin embargo en casos con afectación vascular, una manera de permitir la adecuada oxigenación celular, es necesario que proliferen vasos sanguíneos de neoformación y estos vasos al estar revestidos por células endoteliales, necesitan que se expresen y produzcan elementos para mantener la integridad vascular, y hacer permanentes estos vasos.
- Por lo tanto estos miRNAs son marcadores tempranos de daño vascular y endotelial, y al ser el glomérulo una estructura vascular, nos indican que el daño que está sufriendo está asociado a la alteración del endotelio vascular.
- En la microangiopatía trombótica glomerular, al producirse trombos que obstruyan el riego sanguíneo, el organismo compensa con proliferación vascular, recanalización (incluso del interior del trombo) y reendotelización.
- Al ser marcadores tempranos de daño vascular en este caso asociado a microangiopatía trombótica, se puede realizar la búsqueda intencionada de miRNA92a y miRNA126 temprana, antes de que se produzca el daño por microangiopatía trombótica y así dar tratamiento a tiempo para prevenir esta lesión, que daña globalmente la función renal e incluso llevar a insuficiencia renal crónica.

8. Referencias

1. Berne, Robert M., Levy Matthew N. Fisiología. España. Ed. Harcourt Brace segunda edición 1998.
2. Gartner Leslie, Hiatt James L. Texto atlas de histología. Estados Unidos Ed. Mc Graw Hill segunda edición 2002.
3. Mills Stacey E. Histology for pathologists. Filadelfia, Estados Unidos Ed. Lippincott Williams and Wilkins tercera edición 2007
4. J. E. Fish, D. Srivastava. MicroRNAs: Opening a new win in angiogenesis research. *Sci. Signal*.2, pel (2009)
5. Hernando Ulloa, Ulloa Domínguez. Angiogenesis en patología arterial periférica. *Med* 13 (1):29-36, 2005
6. Remuzzi, G., Ruggenti, P. and Bertani, T. Thrombotic microangiopathies. In: *Renal Pathology. With Clinical and Functional Correlations*, edited by Tisher, C.C. and Brenner, B.M. Philadelphia: J.B. Lippincott Company, 1994, p. 1154-1184.
7. Zhan Z, et al. MicroRNA-21 protects from mesangial cell proliferation induced by diabetic nephropathy in db/db mice. *FEBS Lett*. 2009 Jun 18;583(12):2009-14. Epub 2009 May 19.
8. Tsai, Han-Mou. The molecular Biology of thrombotic microangiopathy. *Kidney Int*. 2006 July ; 70(1): 16–23.
9. Fogo, Agnes B., Kashgarian Michael. Diagnostic atlas of renal pathology. Estados Unidos. Ed. Elsevier Saunders. 2005
10. Urbich Carmen, Kuehbacher Angelika. Role of microRNAs en enfermedades vasculares, inflamación y angiogénesis. *Cardiovascular Research* (2008) 79, 581–588
11. Wang et al. An endothelial specific microRNA governs vascular integrity and angiogenesis *Dev Cell*. 15(2): 261–271. 2009
12. Fish et al. miR.126 regulates angiogenic signaling and vascular integrity. *Dev Cell*. 2008 August ; 15(2): 272–284.
13. Harris et al. microRNA-126 regulates endothelial expression of vascular cell adhesion molecule 1. *PNAS*. February 5:5 1516-1521 (2008)
14. Y. Liang, D. Ridzon, L. Wong. Characterization of microRNA expression profiles in normal tissues. *BMC Genomics*. 8:166 (2007)
15. Saal S, Harvery SJ. MicroRNAs and the kidney : coming age. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2009 Jul;18(4):317-23

16. Killeen, Anthony A. Principles of molecular pathology. Totowa, New Jersey Ed. Humana Press Inc. 2004