



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO  
FACULTAD DE MEDICINA**

**TESIS**

**“PREVALENCIA DE POSITIVIDAD DE LAS PROTEÍNAS PODOCINA Y NEFRINA EN PACIENTES  
CON SÍNDROME NEFRÓTICO CORTICORRESISTENTE Y CORTICODEPENDIENTE”**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE NEFRÓLOGA PEDIATRA  
PRESENTA

DRA. GEORGINA MARTÍNEZ GÓMEZ

**DIRECTOR DE TESIS**

DRA. SANTA RAMÍREZ GODÍNEZ

MÉDICO NEFRÓLOGO ADSCRITO AL SERVICIO DE NEFROLOGÍA PEDIÁTRICA  
HOSPITAL DE PEDIATRÍA CENTRO MÉDICO NACIONAL DE OCCIDENTE

**CODIRECTOR DE TESIS**

DR. JUAN CARLOS BARRERA DE LEÓN.

JEFE DE DIVISIÓN DE EDUCACIÓN EN SALUD.

HOSPITAL DE PEDIATRÍA CENTRO MÉDICO NACIONAL DE OCCIDENTE

GUADALAJARA, JALISCO 29 SEPTIEMBRE 2020



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.

**ALUMNO (A)**

Dra. Georgina Martínez Gómez

Médico Residente.

Matrícula: 98295363

Unidad Médica de Alta Especialidad.

Hospital de Pediatría.

Centro Médico Nacional de Occidente.

Instituto Mexicano del Seguro Social.

Dirección: Belisario Domínguez #735, Colonia Independencia. Guadalajara, Jalisco, México.

Correo electrónico: drginamtzg@outlook.com

Teléfono: 3668-3000 ext. 31720

**INVESTIGADOR RESPONSABLE**

Dra. Santa Ramírez Godínez.

Servicio de Nefrología.

Matricula: 8470723

Unidad Médica de Alta Especialidad.

Hospital de Pediatría.

Centro Médico Nacional de Occidente.

Instituto Mexicano del Seguro Social.

Dirección: Belisario Domínguez #735, Colonia Independencia. Guadalajara, Jalisco, México.

Correo electrónico: santanefrol@yahoo.es

Teléfono 3668-3000 ext. 31720.

**INVESTIGADOR ASOCIADO**

Dr. Juan Carlos Barrera de León.

Jefe de división de Educación en Salud.

Matricula: 10147039

Unidad Médica de Alta Especialidad.

Hospital de Pediatría

Centro Médico Nacional de Occidente

Instituto Mexicano del Seguro Social.

Dirección: Belisario Domínguez #735, Colonia Independencia. Guadalajara, Jalisco, México.

Correo electrónico: jcbarrer@hotmail.com

Teléfono 3668-3000 ext. 3172.

**ASESORES**

Dra. En C. Caridad Áurea Leal Cortés.

División de Investigación Quirúrgica.

Matricula: 9298223

Centro de Investigación Biomédica de Occidente.

Instituto Mexicano del Seguro Social.

Guadalajara, Jalisco, México.

Dirección: Sierra Mojada 800, Col. Independencia.

Correo electrónico: lealc36@yahoo.com.mx.

Teléfono y fax: 3617-7385.

Dra. Arisbeth Villanueva Pérez  
Adscrita al servicio de patología  
Unidad Médica de Alta Especialidad.  
Hospital de Especialidades  
Centro Médico Nacional de Occidente  
Instituto Mexicano del Seguro Social.  
Dirección: Belisario Domínguez #735, Colonia Independencia. Guadalajara, Jalisco, México.  
Correo electrónico: arisnefropato@gmail.com

Dra. Claudia Alejandra Mendoza Cerpa  
Adscrita al servicio de patología  
Unidad Médica de Alta Especialidad.  
Hospital de Especialidades  
Centro Médico Nacional de Occidente  
Instituto Mexicano del Seguro Social.  
Dirección: Belisario Domínguez #735, Colonia Independencia. Guadalajara, Jalisco, México.

Dr. Ramón Saturnino  
Médico Pediatra  
Subespecialista en Nefrología Pediátrica

## INDICE

I.	Resumen .....	7
II.	Marco teórico .....	10
	A. Síndrome Nefrótico.....	10
	a. Epidemiología.....	10
	b. Etiopatogenia .....	10
	c. Clasificación y etiología .....	11
	d. Cuadro clínico .....	14
	e. Diagnóstico .....	15
	f. Complicaciones .....	16
	g. Tratamiento .....	17
	h. Respuesta a tratamiento .....	23
	i. Indicaciones de Biopsia .....	24
	B. Expresión de proteínas y barrera de filtración.....	25
	a. Nefrina .....	27
	b. Podocina .....	28
	C. Antecedentes .....	29
III.	Justificación .....	30
IV.	Planteamiento del problema .....	32
V.	Objetivos .....	33
	A. Objetivo General .....	33
	B. Objetivos específicos.....	33
VI.	Hipótesis .....	33
VII.	Material y métodos .....	34
	A. Tipo y diseño .....	34
	B. Universo y lugar de trabajo .....	34
	C. Calculo muestral .....	34
	D. Criterios de selección .....	34
	E. Variables del estudio .....	35
	F. Definición de variables .....	35
	G. Operacionalización de variables .....	37
	H. Desarrollo de estudio o procedimiento .....	40
	I. Procesamiento de datos y aspectos estadísticos .....	41
VIII.	Aspectos éticos .....	42
IX.	Recursos, financiamiento y factibilidad .....	44
X.	Cronograma de actividades .....	46

XI.	Resultados.....	47
XII.	Discusión .....	57
XIII.	Conclusión .....	62
XIV.	Referencias bibliográficas .....	63
XV.	Anexos .....	67
	1. Hoja de recolección de datos .....	67
	2. Consentimiento bajo información .....	69
	3. Carta de asentimiento .....	71
	4. Solicitud de Patología.....	73

## ABREVIATURAS

SN: Síndrome Nefrótico  
SNCR: Síndrome Nefrótico corticorresistente  
SNCD: Síndrome Nefrótico corticodependiente  
MBG: Membrana basal glomerular  
CMNO: Centro Médico Nacional de Occidente  
IMSS: Instituto Mexicano del Seguro Social  
SPSS: Statistical Package for the Social Sciences  
SNC: Síndrome Nefrótico Congénito  
GEFS: Glomeruloesclerosis focal y segmentaria  
EMD: Esclerosis mesangial difusa  
HTA: Hipertensión arterial  
MMF: ácido micofenólico /mofetil de micofenolato  
LMP: Leucoencefalopatía multifocal progresiva  
KDIGO: Kidney Disease Improving Global Outcome  
ISKDC: The International Study of Kidney Disease in Children  
APN: Arbeitsgemeinschaft Für Pädiatrische Nephrologie  
ADN: ácido Desoxirribonucleico  
ICN: Inhibidor de calcineurina  
SMPDL-3b: fosfodiesterasa de esfingomielina acida tipo 3b  
ACTH: Hormone adrenocorticotropic  
FDA: US Food and Drug Administration  
UPCr: índices proteínas/creatinina  
CD2AP: proteína asociada a CD2  
ZO-1: zonula occludens 1  
IECA: inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina  
ARAI: antagonistas de receptores de angiotensina II  
PHB: Prohibitina  
HP: Hospital de Pediatría  
HRP: Peroxidasa de rábano  
OMS: Organización Mundial de la Salud  
USB: *Universal Serial Bus*

## I. RESUMEN

### **Prevalencia de positividad de las proteínas podocina y nefrina en pacientes con síndrome nefrótico corticorresistente y corticodependiente.**

**Antecedentes** Síndrome nefrótico (SN) es una entidad patológica común en población pediátrica. Afecta a niños de cualquier edad. Tiene una predilección de sexo de 2:1 en varones, preferentemente en la edad preescolar, con un descenso en la adolescencia. El pico de edad inicial de presentación es de los 2 años hasta 6 años. La prevalencia a nivel mundial es de aproximadamente 16 casos por 100,000 niños, con una incidencia de 2 a 7 por cada 100 mil niños siendo mayor en poblaciones asiáticas y afroamericanas. Es una enfermedad con causas primarias y secundarias ya definidas, cuyo desenlace variará dependiente de su origen. Aproximadamente el 85% de los niños menores de 6 años son cortico sensibles y el resto presentaran algún tipo de resistencia a los mismos. Del 15% restante, un 10% responderá al manejo con otras terapias y entre un 3 a 5% no responderá a ninguna de ellas. Estudios recientes reportan hasta un 27% de corticorresistencia en niños con SN. La podocina y nefrina son proteínas estructurales localizadas en la membrana basal glomerular, más propiamente en la hendidura o diafragma de filtración. La ausencia o alteración de dichas proteínas se encuentran asociadas a la fisiopatología del síndrome nefrótico congénito; sin embargo, se desconoce su relación con el de síndrome nefrótico corticodependiente o corticorresistente.

**Objetivo General:** Reportar la prevalencia de positividad de las proteínas podocina y nefrina en pacientes con síndrome nefrótico corticorresistente y corticodependiente. **Objetivos específicos:** 1. Identificar la presencia o ausencia y distribución de la proteína podocina en muestra de biopsia renal en pacientes con síndrome nefrótico. 2. Identificar la presencia o ausencia y distribución de la proteína nefrina en muestra de biopsia renal en pacientes con síndrome nefrótico. 3. Describir las características sociodemográficas de los pacientes con síndrome nefrótico corticodependiente y corticorresistente. **Material y métodos** Diseño del estudio. Estudio transversal analítico. Universo de trabajo. Pacientes pediátricos con diagnóstico de síndrome nefrótico a los que se les realizó biopsia renal atendidos en Hospital de Pediatría del CMNO del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), Guadalajara, Jalisco, México, de enero 2015 a diciembre 2018. Criterios de Inclusión: Pacientes con



diagnostico síndrome nefrótico que ameritaron toma de biopsia renal durante el periodo de enero 2015 a diciembre 2018. Edad de 2 a 15 años 11 meses, que estén de acuerdo con el uso de la parafina de muestra de biopsia renal ya tomada, mediante consentimiento informado (padres) y carta de asentimiento (paciente). Criterios de Exclusión: Pacientes con síndrome nefrótico secundario. Pacientes que no acepten uso de biopsia renal. Menores de 2 años o mayores de 16 años. Criterios de Eliminación: Hoja de recolección de datos incompleta. Muestra suficiente de tejido renal para realización de inmunohistoquímica. Cálculo de tamaño muestral. Se realizó un censo. No se requiere cálculo de tamaño muestral. Muestreo no probabilístico. **Análisis estadístico.** En el análisis descriptivo de variables cualitativas se utilizaron frecuencias, proporciones y porcentajes. Para variables cuantitativas se realizaron medias y desviación estándar cuando la curva de datos sea simétrica; se realizaron medianas y rangos (mínimo-máximo) en caso de distribución no simétrica. Para análisis inferencial de variables cualitativas se utilizó chi cuadrada para evaluar diferencia de proporciones. La distribución de datos se realizó a través de la prueba de Kolmogorov Smirnov (distribución no simétrica  $p < 0.05$  y simétrica  $p > 0.05$ ). La información se analizó con el programa estadístico *Statistical Package for the Social Sciences (SPSS)* versión 20.0. Se consideró una significancia estadística una  $p < 0.05$ . **Recursos e infraestructura.** Tuvimos acceso a las Instalaciones del Hospital de Pediatría del CMNO del IMSS un centro de documentación en Salud, acceso Servicio de Patología de UMAE CMNO que facilitó las muestras de biopsia renal que se tomaron para su estudio, así como área de laboratorio donde se realizó el estudio inmunohistoquímico de dichas muestras, equipo de cómputo y base de datos para la descarga de información. **Experiencia del grupo.** Se contó con la participación del investigador principal Pediatría Nefrólogo y jefe de dicho servicio, asociados con experiencia en la realización de protocolos, tesis y en la recolección de información. Un tesista, que es un médico residente en nefrología pediátrica, quien se encargó junto con el resto del equipo, de la recolección de información. Personal del servicio de patología que proporcionó las biopsias de tejido renal y quien realizó la interpretación de las laminillas. Personal en el área de laboratorio, altamente capacitado para la realización del estudio inmunohistoquímico para la determinación de podocina y nefrina. **Tiempo a desarrollarse.** Una vez aceptado el protocolo, se solicitó las muestras de biopsias renales al servicio de Patología del Centro Médico Nacional de Occidente, de pacientes que hayan sido biopsiados como parte del protocolo diagnóstico de enero 2015 a diciembre de 2018. El

desarrollo completo del estudio de investigación fue hasta Septiembre 2020 con la impresión del manuscrito de tesis, presentación de resultados y conclusiones. **Conclusiones y resultados:** El Síndrome nefrótico es una entidad patológica común en la población pediátrica. La prevalencia a nivel mundial es de aproximadamente 16 casos por 100, 000 niños, preferentemente en la edad preescolar al igual que en nuestro estudio donde la prevalencia de sexo en nuestro grupo de estudio se encontró similar a la reportada en la bibliografía, un mayor número de casos en pacientes masculinos con una relación de 3:1. El grupo etario al momento del diagnóstico se presentó durante la etapa preescolar. Respecto al comportamiento solo un 35% presentaron corticodependencia y más del 50% corticorresistencia. En relación al diagnóstico anatomopatológico los datos que concuerdan con lo reportado previamente, en el que, la primera causa de síndrome nefrótico que no responde a tratamiento de primera línea es la glomeruloesclerosis focal y segmentaria en 65% de los pacientes seguida por la enfermedad de cambios mínimos en 32% y solo una glomerulonefritis mesangial en 5%. En nuestro estudio se realizó tinción inmunohistoquímica para nefrina y para podocina y se observó que de las 40 muestras para podocina reportaron resultados negativos en 25(63%), una presencia débil en 2 muestras (5%) y solo en 1(2.5%) muestra una presencia moderada. En lo que respecta a la nefrina, 27 (67%) se reportaron como negativos o con ausencia total de esta proteína y solo 4 (10%) con una presencia débil. Con esto comprobamos que sí hay una afectación de estas proteínas en pacientes con síndrome nefrótico corticodependiente o corticorresistente y que en comparación con los reportes de L.F Arias y cols. en los que se observó alteración de la distribución, en nuestra serie se reportó una ausencia total. Realizando una comparación entre la inmunohistoquímica y el comportamiento, tanto en el síndrome nefrótico corticorresistente como en el corticodependiente se observó que en más del 50% de las muestras analizables fueron negativas para podocina y nefrina, lo cual comprueba la ausencia de las proteínas en el capilar glomerular. En el glomérulo esclerosis focal y segmentaria un 83% de las muestras fueron negativas para podocina y un 85% negativas para nefrina ocasionando una posible esclerosis del capilar glomerular. En la lesión de cambios mínimos, en la que se esperaba encontrar positividad de las proteínas, sí hubo alteración del capilar ya que en el 69%(9) de las muestras valorables fueron negativas para ambas proteínas. La respuesta a tratamiento manifestada por remisión de los síntomas fue en un 65%(26), pese a que en la inmunohistoquímica se reportaron negativas ambas

proteínas lo que podríamos atribuir a la calidad de muestra obtenida o a una posible alteración en alguna otra proteína en la membrana basal implicada en la estabilidad del diafragma de filtración.

## II. MARCO TEÓRICO

### Síndrome nefrótico

El síndrome nefrótico (SN) es un desorden renal que se origina por una alta permeabilidad de la barrera de filtración glomerular. Tiene 4 características principales las cuales se usan en la actualidad para establecer el diagnóstico: una proteinuria masiva ( $>40$  mg/m<sup>2</sup>/h o un índice de proteinuria/creatininuria  $> 2$ g/g) con hipoalbuminemia ( $<2.5$  g/dl), edema e hiperlipidemia. <sup>(1,2, 3)</sup>

### Epidemiología

El SN es una entidad patológica común en la población pediátrica. La prevalencia a nivel mundial es de aproximadamente 16 casos por 100, 000 niños con una incidencia de 2 a 7 por cada 100, 000 niños. Puede afectar a niños de cualquier edad, preferentemente en la edad preescolar, con un descenso en la adolescencia. Presenta un pico de edad inicial cuya presentación es de los 2 hasta 6 años. Esta enfermedad tiene una predilección de sexo con una aparición de 2:1 en varones <sup>(4, 5)</sup>

Aproximadamente el 85% de los niños menores de 6 años son corticosensibles y el resto presentarán algún tipo de resistencia a los mismos. Del 15% restante, un 10% responderá al manejo con otras terapias y entre un 3-5% no responderá a ninguna de ellas. <sup>(3,6)</sup> Estudios recientes reportan hasta un 27% presentará Síndrome nefrótico corticorresistente (SNCR). <sup>(6)</sup>

Los aspectos epidemiológicos de la enfermedad han cambiado drásticamente. Para el año 1950 no se contaba con tratamiento alguno para el niño con síndrome nefrótico y la mejoría era uniformemente pobre, con tasas de mortalidad superiores al 65% principalmente secundaria a complicaciones por infecciones y/o trombosis. Las infecciones eran la principal causa de complicaciones que afectaban en hasta un 20% a los pacientes hospitalizados. Como agregado a la pérdida de albumina por la orina, los pacientes con síndrome nefrótico perdían componentes de la vía alterna del complemento, incluyendo factor B y D lo que incrementaban la susceptibilidad a padecer infecciones por organismos encapsulados como *Streptococcus pneumoniae*. Para el año de

1950 a 1960, después de un tratamiento exitoso con esteroide en pacientes con SN, la mortalidad por infecciones y trombosis disminuyó en hasta un 9% con una reducción paulatina < 1% en la era moderna, gracias a los avances en el tratamiento y los cuidados de soporte. Con esto, el tratamiento exitoso del SN y su remisión redujeron de manera importante la morbilidad y mortalidad que acompañaban por si sola a esta enfermedad. <sup>(7)</sup>

## **Etiopatogenia**

Diversas teorías intentan explicar la etiopatogenia del SN con implicación de mecanismos moleculares e inmunológicos; como son la pérdida de carga eléctrica de la barrera de filtración, alteraciones en el tamaño del poro endotelial, existencia de un factor plasmático de permeabilidad y/o la ausencia de otros factores que afectan la estabilidad de la estructura proteínica de la barrera de filtración, alteraciones funcionales de los linfocitos T con producción de citoquinas, etc. Conduciendo a la pérdida de estabilidad del podocito y del diafragma de hendidura; alterando la permeabilidad de la pared capilar glomerular. <sup>(8,9,10)</sup>

El SN de aparición en el 1º año de vida, clasificado en síndrome nefrótico congénito (SNC) si la aparición es en los primeros 3 meses y SN Infantil entre los 3 y 12 meses de vida, es ocasionado, en su mayoría, por anomalías en los genes codificadores de proteínas específicas del podocito (Con excepción de los secundarios a enfermedades infecciosas), originando daño estructural y pérdida de la barrera de filtración glomerular. <sup>(8,9,10)</sup>

Se han identificado también mutaciones tales como la mutación en el gen *NPHS1*, codificador de la proteína Nefrina, que causa el SNC tipo finlandés. <sup>(11)</sup> Así como la mutación en el gen *NPHS2*, codificador de la proteína Podocina (que explica el 40% de los SN corticorresistente familiares y un 10-20% de los esporádicos), con histología de glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GEFS). <sup>(12)</sup> Mutaciones en el gen *WT1* como causa de esclerosis mesonil difusa (EMD) aislada o formando parte del síndrome de Denys-Drash (EMD, pseudohermafroditismo masculino, tumor de Wilms) o Frasier (GEFS, fenotipo femenino con cariotipo 46XY y gonadoblastoma). <sup>(13,14)</sup>

Se ha observado también asociación de SN con otros síndromes mal formativos como el de Pierson (EMD, microcoria con mutación del gen *LAMB2*), Galloway (EMD, microcefalia, retraso mental y hernia hiatal), Nail-Patella (displasia esquelética y ungueal con mutación de la proteína *LMXB1*), Schimke (GEFS, displasia espondilo epifisaria, defecto inmunitario, procesos oclusivos vasculares e isquemia cerebral secundaria con mutación del gen *SMARCAL1*), etc. <sup>(15)</sup>

## **Etiología y clasificación**

El SN es causado, bien por enfermedad (causas primarias) o bien por enfermedades extra renales que afectan al riñón (causas secundarias).

### **1) Síndrome nefrótico primario**

El SN primario incluye una amplia lista de etiologías con un rango de edad de presentación desde la niñez hasta la adolescencia, con afección variable de la función renal, presentando diferentes grados de respuesta al tratamiento. <sup>(16)</sup>

#### **a) La enfermedad de cambios mínimos:**

Es el hallazgo histopatológico más común en los niños con SN. Las biopsias de los pacientes con enfermedad por cambios mínimos tienen una apariencia normal cuando se examinan con microscopía óptica; observándose fusión de los procesos podocitarios con microscopía electrónica y ausencia de inmunocomplejos en la inmunofluorescencia. <sup>(1,16)</sup>

#### **b) Glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GEFS):**

Las muestras de pacientes con dicha variante presentan a la microscopía óptica hallazgos de esclerosis de algunos segmentos en los glomérulos. Se ha visto que estos niños tienen menor probabilidad de lograr la remisión de la enfermedad en comparación con otras causas. <sup>(1,16)</sup>

#### **c) Glomerulonefritis membranoproliferativa:**

También llamada glomerulonefritis mesangiocapilar y/o glomerulonefritis lobular, enfermedad renal causada por el depósito de complejos inmunes en el con aumento de las células glomerulares mesangiales acompañado de depósitos de anticuerpos en la membrana basal glomerular, lo que activa el sistema del complemento con su consecuente lesión. <sup>(16)</sup>

d) **Glomerulonefritis membranosa:**

Es una enfermedad caracterizada por depósitos inmunes subepiteliales y la formación de proyecciones perpendiculares de material similar a la membrana basal glomerular (MBG) en la parte externa de ésta (entre el citoplasma del podocito y la MBG): "spikes" (espinas) en la microscopia de luz. <sup>(1,16)</sup>

e) **Proliferación mesangial difusa:**

Se trata de una hiper celularidad mesonil la cual tiene un amplio rango, desde leve hasta la severa en la que hay distorsión y lobulación marcada del penacho. Puede acompañarse de incremento de la matriz mesonil extracelular. En muchos casos se evidencian depósitos inmunes en el mesangio. <sup>(16)</sup>

## 2) Síndrome nefrótico secundario

Los niños mayores pueden presentar una causa de SN secundario a algún desorden genético, siendo importante considerar el abordaje genético, dependiendo de la edad del niño. La importancia de estas causas hereditarias de SN es que en su mayoría son resistentes a la mayoría de las terapias, existiendo reportes de remisión en algunos de los niños; aun siendo necesarios mayores estudios para entender la respuesta a la terapia en niños con SN hereditario. <sup>(4, 17)</sup> No solo los síndromes hereditarios pueden ser causantes de SN secundario entre las principales causas se han descrito:

- **Otras nefropatías**

- Glomerulonefritis aguda <sup>(18)</sup>
- Púrpura de Schönlein-Henoch <sup>(18)</sup>
- Nefropatía IgA <sup>(18)</sup>

– Síndrome de Allport <sup>(18)</sup>

- **Enfermedades sistémicas**

- Vasculitis <sup>(18)</sup>

- Lupus eritematoso sistémico <sup>(18)</sup>

- Artritis reumatoide <sup>(18)</sup>

- Diabetes mellitus <sup>(18)</sup>

- Amiloidosis <sup>(18)</sup>

- Síndrome Hemolítico Urémico <sup>(18)</sup>

- **Enfermedades infecciosas** (Virus de hepatitis B, virus de hepatitis C, citomegalovirus, virus de Epstein Barr, virus de inmunodeficiencia adquirida, malaria)

- **Neoplasias** (leucemia, linfoma Hodgkin) <sup>(18)</sup>

- **Fármacos** (Antiinflamatorios no esteroideos. sales de oro, D-penicilamina, captopril) <sup>(18)</sup>

### Cuadro clínico

La manifestación principal la constituye el edema, inicialmente, éste se presenta sólo en zonas declive como en las extremidades inferiores y se extiende de manera ascendente hasta el área genital, la pared abdominal e incluso peri orbitaria. En casos de edema significativo se pueden observar vesículas y flictenas por acúmulo de líquido intradérmico. De igual forma, puede presentarse desarrollo de ascitis la cual produce sensación de distensión abdominal y saciedad temprana y en situaciones extremas disnea. Igualmente, puede haber derrame pleural y en casos graves edema de pulmón. Con hipoalbuminemia profunda hay compromiso del crecimiento de las uñas, lo cual se manifiesta como discretas bandas horizontales de color blanco que van de un extremo a otro de la uña (signo de Muehrcke). La dislipidemia grave del SN favorece el depósito de lípidos en el área peri orbitaria, lo que se denomina xantelasma. <sup>(18)</sup>



## Síndrome nefrótico congénito (SNC)

Se define como un SN manifestado que se presenta antes del tercer mes de vida.

El SNC tipo finlandés, es una rara enfermedad renal autosómica recesiva primeramente descrita en ciertas comunidades. La enfermedad se caracteriza por proteinuria masiva por lo regular de inicio “*in útero*”, que siempre se manifiesta antes de los 3 meses de edad. El SNC es considerado como corticorresistente y con pérdidas masivas de proteínas que necesitan remplazo intravenoso de albumina y nutrición parenteral con un alto riesgo de septicemia. Es por esto por lo que se han descrito tratamientos como lo son la nefrectomía bilateral con diálisis y su consecuente trasplante al alcanzar un peso de 10 kg. La sobrevida del injerto por lo general es buena. El curso de la enfermedad es progresivo, generalmente llevando a la enfermedad renal terminal a los 2 o 3 años. Esclerosis mesonil progresiva con dilatación microquística de los túbulos proximales son los hallazgos característicos histopatológicos en el síndrome nefrótico congénito. <sup>(19,20)</sup>

### Diagnóstico

Como se mencionó previamente, el diagnóstico del SN primario se basa en la presencia de las siguientes características.

1. Presencia de una proteinuria masiva ( $>40$  mg/m<sup>2</sup>/h o un índice de proteinuria/creatininuria  $> 2$ g/g).
2. hipoalbuminemia ( $<2.5$  g/dl).
3. Edema.
4. Hiperlipidemia. <sup>(1,2, 3)</sup>

## Complicaciones

- **Clínico y laboratorio:**

Como son la hematuria (25%), hipertensión arterial (20%) e insuficiencia renal (3%), que se asocian con lesión renal subyacente. La mayoría presentan derrame pleural sin disnea. La presencia de polipnea y/o hipoxemia obliga a descartar tromboembolismo pulmonar. No es común el edema pulmonar pero sí en pacientes que han recibido tratamiento con albúmina intravenosa (en general contraindicada). Son muy frecuentes la ascitis, la hepatomegalia y el dolor abdominal que precisa una cuidadosa valoración para descartar peritonitis primaria, que puede estar presente al debut. El edema intestinal puede provocar diarrea. Los pacientes son más susceptibles a infecciones (especialmente neumococo) por disfunción inmune de células T y B, pérdida urinaria de inmunoglobulinas, complemento y properdina, con mayor riesgo de peritonitis primaria, celulitis, neumonía, meningitis y sepsis. Las alteraciones secundarias a la enfermedad de base son dislipemia, hipercoagulabilidad y alteraciones tiroideas. Los niños pequeños tienen mayor riesgo de hipovolemia. La asociación de hipovolemia, diuréticos, infecciones, punciones venosas e inmovilización contribuyen al riesgo de fenómenos tromboembólicos en miembros inferiores, renal, seno longitudinal o pulmonar (2-8%). Un 15% de los pacientes en recaída pueden mostrar signos de tromboembolismo pulmonar en la gammagrafía de ventilación-perfusión. La hipertensión arterial (HTA) (por hiper- o hipovolemia) y la hiperlipidemia confieren riesgo cardiovascular. La enfermedad, las complicaciones y el tratamiento contribuyen a la desnutrición y el hipocrecimiento. En niños que responden al tratamiento, la función renal se mantiene normal a largo plazo; sin embargo, los pacientes con SN congénito y el 50% de los síndromes nefróticos corticorresistentes (SNCR) evolucionan a enfermedad renal terminal. <sup>(18)</sup>

- **Secundarias a tratamiento.**

Los niños que reciben terapia con esteroides por largos periodos se encuentran expuestos a presentar efectos adversos asociados a las dosis acumulativas de los mismos. Entre estos se incluyen estatura baja, cataratas, hiperglucemia, apariencia cushinoide, obesidad e

hipertensión, desordenes de personalidad y trastornos del sueño, necrosis a vascular de la cadera, disminución de la densidad ósea, y úlceras estomacales. <sup>(7)</sup>

Dentro de las complicaciones secundarias a terapia alquilante se encuentran alteración en el conteo de células blancas durante el tratamiento, pérdida de cabello, cistitis hemorrágica; siendo complicaciones a largo plazo la fibrosis pulmonar, fibrosis ovárica y esterilidad. <sup>(21)</sup>

Los principales efectos adversos por inhibidores de calcineurina son hipertensión, hiperplasia gingival, elevación de la creatinina, hipertricosis, hiperglucemia, hipercolesterolemia, gastrointestinales, neurotoxicidad, fibrosis intersticial renal, tubulopatía tóxica, vasculopatía, y esclerosis. <sup>(17)</sup>

Complicaciones secundarias a anti proliferativos, mofetil de micofenolato (MMF) como la enfermedad activa grave del aparato digestivo, con medicamentos que interfieran con la circulación enterohepática. Mayor riesgo de desarrollo de linfomas y otras neoplasias, en especial de piel (limitar la exposición a luz solar y ultravioleta), existe riesgo elevado de sufrir infecciones oportunistas (bacterianas, fúngicas, víricas y protozoarias), infecciones mortales y sepsis. Incluyen reactivaciones de virus latentes, como la hepatitis B o hepatitis C e infecciones causadas por poliomavirus (nefropatía asociada al virus BK, leucoencefalopatía multifocal progresiva [LMP] asociada al virus JC). <sup>(22)</sup>

## **Tratamiento**

Los niños con SN son tratados inicialmente con corticosteroides orales. <sup>(3,5, 23)</sup> Sin embargo, habrá casos en los que se requiera de otro tipo de tratamiento, ya que un 15% de los pacientes con síndrome nefrótico, no responderán al tratamiento con esteroides. <sup>(3,6)</sup> A continuación se hace una descripción los fármacos utilizados en tratamiento de la enfermedad.

### **1. Terapia con esteroide.**

Aunque ha sido usada universalmente, el mecanismo de acción de los corticoesteroides para el tratamiento del SN es incierto. Se han formulado Hipótesis de que el SN es generado por un desorden

en el sistema inmune, con disfunción de las células T, resultando en la liberación de un factor circulante que causa la fusión de los procesos podocitarios con su proteinuria consecuente. Los corticosteroides presumiblemente actúan por supresión de un factor mediador de las células T, aunque la identificación de este factor circulante permanece inconclusa. Alternamente, los corticosteroides pueden tener un efecto directo sobre el podocito estabilizando el cito esqueleto de actina con alteración de su expresión genética. <sup>(24)</sup>

Para el año 2012 las guías *KDIGO* (Kidney disease improving global outcome) recomendaban como parte del tratamiento inicial del niño con síndrome nefrótico con prednisona o prednisolona a una dosis de 60 mg/m<sup>2</sup>/día (o 2 mg/kg/día) en dosis única al día por 4 a 6 semanas, seguida de 40 mg/m<sup>2</sup> (o 1.5 mg/kg/día) por 2 a 5 meses en días alternos. La dosis recomendada de inicio a 60 mg/m<sup>2</sup>/día fue usada de manera empírica en el estudio internacional de la enfermedad renal en el niño por sus siglas en inglés (*ISKDC*) en la década de 1960s y 1970s y adoptado por el Arbeitsgemeinschaft Für Pädiatrische Nephrologie (*APN*) estudiados en los 1970s y 1980s. Para esas fechas aún no se contaba con ningún estudio aleatorizado controlado. La *ISKDC* y su régimen de tratamiento consistió en una dosis diaria de esteroide a 60 mg/m<sup>2</sup>/día por 4 semanas seguido de una dosis de descenso por 4 semanas a 40 mg/m<sup>2</sup>/día, encontraron que el 85% de los niños < 6 años y el 60% de los niños entre 6 y 16 años responderían a este régimen. Desafortunadamente, un alto porcentaje de los niños tratados con este régimen presentarán recaída de la enfermedad. <sup>(2,3, 5, 21)</sup>

Finalmente, estudios han comparado los 3 días consecutivos por dosis semanal de esteroide a la terapia en dosis con días alternos y encontraron una disminución en la tasa de recaídas para los niños tratados con esteroide en días alternos. <sup>(3,5)</sup>

Los niños con recaídas frecuentes o con corticodependencia deben ser tratados con la terapia esteroidea en días alternos por al menos un periodo de 3 meses después de haber entrado en remisión con la dosis más baja posible para mantener la remisión. <sup>(5, 25)</sup>

Los niños que reciben terapia esteroidea por largos periodos se encuentran expuestos a presentar efectos adversos asociados a las dosis acumulativas de los mismos. Entre estos se incluyen estatura baja, cataratas, hiperglucemia, apariencia cushingnoide, obesidad e hipertensión, desordenes de personalidad y trastornos del sueño, necrosis a vascular de la cadera, disminución de la densidad ósea, y úlceras estomacales. Los niños con terapia esteroidea a largo plazo deberían ser monitorizados por complicaciones con su uso, incluyéndose exámenes anuales de la vista por posibilidad de desarrollar cataratas. Los niños con SN y recaídas frecuentes y que desarrollan algún efecto adverso se les deberían ofrecer agentes sustitutos. <sup>(7)</sup>

## 2. Terapia alquilante

Los agentes alquilantes son agentes alternos para el tratamiento del niño con SN con recaídas frecuentes y dependientes de esteroides capaces de inducir remisión. <sup>(2)</sup>

Dentro de los agentes alquilantes tenemos a la ciclofosfamida y el clorambucil:

### a) Ciclofosfamida.

Directamente previene la división celular por entrecruzamiento de las hebras de ADN disminuyendo así su síntesis. Su mecanismo de acción aún es desconocido, pero se presume que tiene un efecto inmunosupresor sobre los linfocitos T. <sup>(2)</sup>

Se puede administrar una dosis oral por 8 – 12 semanas a 2 mg/kg/día. Los niños deben de estar en remisión con esteroide antes de que la terapia con ciclofosfamida haya iniciado, y el esteroide debe ser continuado a dosis intermitentes durante la terapia con ciclofosfamida. Los niños con recaídas frecuentes presentan mejoría (72 – 36% de remisión sostenida a 2 y 5 años) en comparación a los niños corticodependiente (40 y 24% de remisión sostenida a los 2 y 5 años). Los niños mayores (>7.5 años) aparentemente alcanzan en mayor medida la remisión que los niños más pequeños (<3.8 años). El tratamiento intravenoso se da a una dosis repartida en ciclos mensuales en número aproximado de 6, sin exceder la dosis total acumulada de 168 mg/kg. <sup>(2)</sup>. No existe

diferencia entre el tratamiento intravenoso y el oral con ciclofosfamida, generalmente la terapia intravenosa se utiliza en pacientes con pobre adherencia terapéutica. Sus principales efectos adversos pueden ser toxicidad gonadal con una dosis acumulada > 200 mg/kg. Por esta razón no se debe exceder una dosis acumulativa máxima de 168 mg/kg (2mg/kg/día x 12 semanas). Se debe vigilar el conteo de células blancas durante el tratamiento, pérdida de cabello, cistitis hemorrágica como potenciales complicaciones del tratamiento. <sup>(21)</sup>

**b) Clorambucil:**

Se presenta en forma de comprimidos de 2 mg. La dosis habitual oscila entre 0.1 y 0.2 mg por Kg de peso y día. Precisa controles sanguíneos periódicos para vigilar el nivel de leucocitos circulantes, en caso de que su número disminuya en exceso puede ser necesario interrumpir el tratamiento o disminuir la dosis. <sup>(21)</sup>

### **3. Inhibidores de calcineurina (ICN)**

Dentro de este grupo de fármaco los más conocidos son la ciclosporina y el tacrolimus comúnmente usados como agentes inmunosupresores en trasplante de órgano sólidos. Los inhibidores de calcineurina inhiben la activación de las células T y sus efectos en el paciente con síndrome nefrótico por este mecanismo. Alternadamente la ciclosporina ha demostrado tener un efecto directo en el podocito al estabilizar el citoesqueleto de actina la cual es responsable de mantener la forma de esta célula. <sup>(2)</sup>

Los inhibidores de calcineurina son el tratamiento de primera línea para niños con SNCR y como terapia alternativa para los niños con recaídas frecuentes. <sup>(2)</sup>

Los niños con SNCR deberían recibir una terapia de 6 meses con Inhibidores de calcineurina (ICN). La ciclosporina es administrada a una dosis de inicio de 4 – 5 mg/kg/día divididos en 2 dosis con monitoreo de niveles. Tacrolimus es administrado a una dosis de inicio de 0.1 mg/kg/día en dos dosis con monitoreo de niveles. Los niveles óptimos aproximados de ambos fármacos son 60 – 150 µg/L para ciclosporina y de 5 – 10 µg/L para tacrolimus. Con ambos se ha demostrado alcanzar una remisión parcial o total de aproximadamente un 60 – 80% para pacientes con SN (>50% de reducción

en la proteinuria) después del tratamiento con ICN. No se cuenta con un tratamiento promedio, pero se demostró en un estudio reciente en pacientes tratados por 3 años con ciclosporina que el 73% de los niños que detuvieron su terapia con el (ICN) presentaron recaída del SN durante el seguimiento con una media de 9.7 años. <sup>(18)</sup> Los principales efectos adversos de la ciclosporina incluyen hipertensión (10%) hiperplasia gingival (32%), elevación de la creatinina (6%) e hipertrichosis (70%). <sup>(2)</sup>

El tacrolimus causa significativamente menos hiperplasia e hipertrichosis en comparación con ciclosporina y es preferido en pacientes con efectos cosméticos importantes, principalmente en niñas adolescentes. Sin embargo, no es inocuo, ya que puede tener como efectos secundarios hiperglucemia, hipercolesterolemia, gastrointestinales, neurotoxicidad. <sup>(2)</sup>

Uno de los principales efectos adversos de la ciclosporina puede ser el desarrollo de fibrosis intersticial renal en el 11% de los niños tratados menos de 2 años y en 58% de los niños tratados por más de 2 años de manera demostrada por biopsia. <sup>(2)</sup> Sin embargo, la nefrotoxicidad no se limita sólo a fibrosis intersticial, incluye también tubulopatía tóxica, vasculopatía, y esclerosis. <sup>(2)</sup>

#### **4. Mofetil de micofenolato (MMF)**

Es un medicamento que suprime la respuesta del sistema inmune por inhibición de la proliferación de los linfocitos B y T. Su mecanismo de acción permanece aún desconocido, pero ha demostrado un efecto inmunosupresor certero. Ha demostrado buena aceptación debido a una menor presencia de efectos adversos en relación con los inhibidores de calcineurina. La mayoría de los estudios que usan MMF se han desarrollado en poblaciones con corticorresistente o con recaídas frecuentes. El tratamiento de inicio es de 600 mg/m<sup>2</sup>/dosis dado dos veces al día durante al menos 12 meses. Se ha demostrado que niños con síndrome nefrótico y con recaídas frecuentes, 64 – 80% de los niños lograron la remisión posterior a la terapia de 6 a 12 meses con MMF. Al igual que los que recibieron tratamiento con ICN, los niños con síndrome nefrótico corticodependiente después de discontinuar el MMF presentaron recaídas frecuentes necesitando una terapia prolongada. <sup>(2, 22)</sup>

MMF también fue usado para tratar el SNCR, pero con menor eficacia. En un estudio multicéntrico aleatorizado, niños y adultos con SNCR y GEFS por biopsia que fueron tratados con MMF + dexametasona versus ciclosporina. Se obtuvo una remisión parcial en el 46% de los pacientes tratados con ciclosporina y en 33% de los pacientes tratados con MMF + dexametasona después de 12 meses, sin embargo, la diferencia no fue significativa y en los dos brazos del estudio. <sup>(22)</sup>

## 5. Rituximab

Rituximab es un anticuerpo quimérico monoclonal en contra del CD20 de las células B, causando su depleción después del tratamiento. El Rituximab actúa en el SN por alteración en la interacción entre las células B/T propiciando cambios en la secreción y/o coestimulación de citocinas. Alternamente, el Rituximab debe tener un efecto directo en la estructura del podocito y su función parece ser el de ligar directamente a la fosfodiesterasa de esfingomielina acida tipo 3b (SMPDL-3b) que es una proteína de superficie podocitaria. Se ha observado que el Rituximab disminuye la tasa de recaídas en niños con recaídas frecuentes o cortica dependencia en el SN, el régimen y dosis varían según el tipo de reporte. Sin embargo, dosis de 375 mg/m<sup>2</sup> por 1 – 4 semanas son las más comúnmente utilizadas. En los diversos estudios se muestra mejoría con una menor tasa de recaídas con un inicio a los 19 meses posteriores al haber iniciado el tratamiento. Inclusive se ha visto una menor necesidad de prednisona en periodos cortos (3 meses). El tratamiento no ha demostrado disminución de la proteinuria. Las limitaciones en cuanto a su uso son proporcionales al desarrollo de efectos adversos. Aproximadamente una tercera parte de los niños tratados presentó reacciones con la infusión aguda como fiebre, náusea, vómito, diarrea, rash, broncoespasmo. Como efectos serios fibrosis pulmonar, neumonía por *Pneumocystis jiroveci*, neoplasias y leucoencefalopatía progresiva multifocal. <sup>(26)</sup>

## 6. Hormona adrenocorticotropa (ACTH)

Fue usada inicialmente en 1950 para el tratamiento del SN y es el único aprobado por la FDA (US Food and Drug Administration). En la década de los sesenta la terapia con ACTH perdió popularidad por la disponibilidad y los bajos costos de la terapia con esteroides orales. <sup>(2, 3)</sup>



## **Respuesta al tratamiento corticoide.**

Como se mencionó previamente, el SN es una entidad patológica común en la población pediátrica y aunque es cierto que más del 80% de ellos responderá adecuadamente a la terapia de inicio con esteroide, existe un bajo porcentaje de ellos que nunca lo hará. (2) Aproximadamente el 85% de los niños menores de 6 años son cortico sensibles, y el resto presentaran algún tipo de resistencia a los mismos. (4,12) La importancia de este último punto es que los niños con recaídas frecuentes y cortico-dependencia/dependencia pueden presentar efectos adversos de manera significativa derivados de las dosis acumuladas del manejo a largo plazo con esteroide, siendo necesario cambiar de modalidad terapéutica en muchas otras ocasiones. La terapia en estos casos debería ser asesorada por un nefrólogo pediatra. (21, 27) El SN puede ser también clasificado basados en su habilidad para lograr la remisión con tratamiento corticoide (basados en la completa normalización de la proteinuria). (3,5, 23)

### **1. Síndrome nefrótico corticorresistente (SNCR)**

Aquel en el que exista persistencia de proteinuria después de 4 semanas de terapia oral con esteroide (prednisona a 60 mg/m<sup>2</sup> por día). La corticorresistencia uno de los principales problemas en el paciente con síndrome nefrótico, aproximadamente de un 12 – 15% de los niños con SN no responderá a esta terapia. (19, 21, 27)

### **2. Síndrome nefrótico corticodependiente (SNCD)**

Cuando el paciente presenta 2 recaídas consecutivas al disminuir la dosis de prednisona o durante los primeros 14 días después de la suspensión. (21, 27)

Algunas de las definiciones que deben quedar claras, para entender de mejor manera la respuesta a corticoides, corticorresistencia, cortico dependencia y respuesta a tratamiento son:

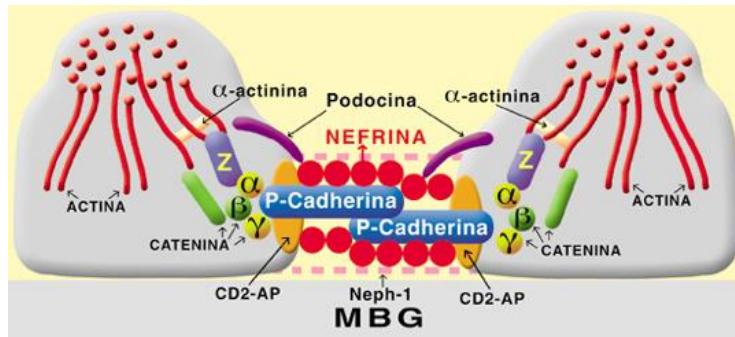
1. **Remisión completa de la proteinuria.** Se define como una excreción en 24 horas  $< 100 \text{ mg/m}^2$  por día, Índice proteínas/creatinina (UPCr)  $< 0.2 \text{ mg/mg}$  o en tira reactiva de 0 o (+) o en ausencia de proteinuria una albumina sérica  $> 3.5 \text{ g/dl}$ .<sup>(27)</sup>
2. **Remisión parcial:** Definida como una excreción de proteínas en recolección de orina de 24 horas de  $0.1 - 1 \text{ g/m}^2/\text{día}$ , UPCR=  $0.2 - 2 \text{ mg/mg}$ , o en tira reactiva de 1 +, con una albumina de  $> 3 \text{ g/dl}$ .<sup>(27)</sup>
3. **Proteinuria subnefrótica.** Es una proteinuria en 24 horas  $> 100 \text{ mg}$ , pero  $< 1 \text{ g/m}^2$  por día de cociente proteinuria creatinuria de 0.2 (0.6 si  $< 2$  años) a  $2 \text{ mg/mg}$ , o en una tira reactiva proteinuria de 1 +.<sup>(27)</sup>
4. **Proteinuria en rango nefrótico.** Se define como excreción de proteínas  $> 1 \text{ g/m}^2$  por día, UPCR  $> 2 \text{ mg/mg}$  o tira reactiva  $> 1 +$ .<sup>(27)</sup>
5. **Recaída.** Es la aparición de proteinuria en tira reactiva de +++ durante 5 días consecutivos en cualquier momento evolutivo.<sup>(21, 27)</sup>
6. **Tipo de recaídas.** Pueden ser recaídas **habituales:** menos de 3 recaídas en 6 meses o más de 4 en 1 año. **Recaídas frecuentes:** más de 2 recaídas en 6 meses o más de 4 en 1 año.<sup>(21, 27)</sup>

## INDICACIONES DE BIOPSIA RENAL.

Dentro de las indicaciones para la realización de biopsia de tejido renal, se encuentran las siguientes:

1. Todos los pacientes con diagnóstico de síndrome nefrótico menores de 12 meses
2. Resistencia a Corticoides.
3. Recaídas frecuentes.
4. Síndrome nefrótico con signos de deterioro de filtrado glomerular o con signos clínico-analíticos de ser secundario a una enfermedad sistémica o infecciosa.
5. Cambios desfavorables evolutivos con paso de corticosensibilidad o corticodependencia a una corticorresistencia.
6. Tratamiento prolongado ( $> 18$  meses) con anticalcineurínicos.<sup>(27)</sup>

## EXPRESIÓN DE PROTEÍNAS Y LA BARRERA DE FILTRACIÓN



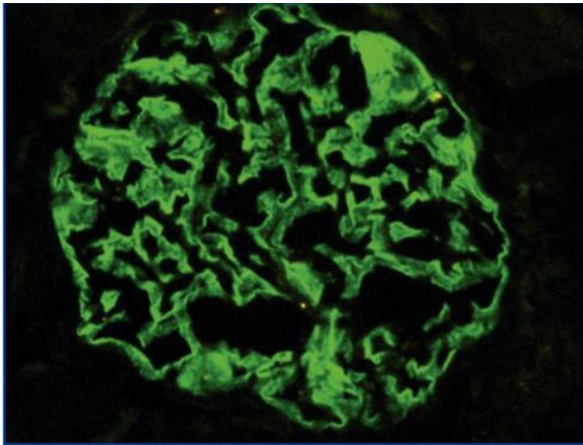
<https://www.uninet.edu/cin2003/conf/sdieguez/dieguez.html>

Las células epiteliales viscerales del glomérulo están unidas a la membrana basal glomerular por medio de extensiones citoplasmáticas que forman interdigitaciones conocidas como procesos podocitarios. Normalmente el filtrado glomerular pasa entre ellos a través de una unión intercelular especializada, exclusiva de podocitos, que es conocida como hendidura de filtración (o diafragma de hendidura, slit diaphragm), que aquí llamaremos, por ser un término que describe mejor su estructura y función, diafragma de filtración. Esta estructura está anclada al citoesqueleto de los procesos podocitarios y en este complejo hay numerosas proteínas estructurales y con funciones de mensajeros que no han sido completamente conocidas ni entendidas. Hasta el momento se han caracterizado al menos 15 proteínas que forman parte de este complejo, todas ellas importantes en el mantenimiento de su estructura y función: nefrina, podocina, *NPSH 1, 2 y 3*, *P-cadherina*, proteína asociada a CD2 (CD2AP), cateninas, FAT 1 y 2, zonula occludens 1 (ZO-1), actina, alfa-actinina-4, densina y CRIM19,11-21. Desde finales de los noventa, con el descubrimiento de varias mutaciones en genes que codifican estas moléculas, se descubrió que ésta es la principal barrera para la filtración de proteínas. <sup>(11, 14, 28)</sup>

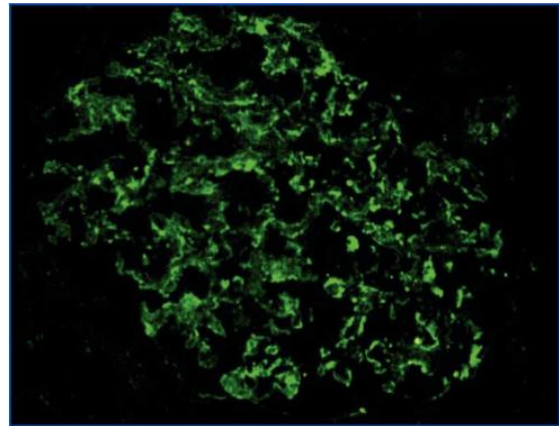
En los casos de síndrome nefrótico adquirido, el cual se asocia a interacción o no de inmunocomplejos y/o inmunidad celular, se describen alteraciones podocitarias como un fenómeno secundario al síndrome nefrótico y desencadenar en la desestructuración y la pérdida de función del diafragma de filtración y su complejo anclaje de proteínas pueden ser tanto causa como consecuencia del síndrome nefrótico.

Por lo tanto, la pérdida de la expresión de algunas de estas proteínas es un episodio común en casos de proteinuria en rango nefrótico y no siempre indica que haya mutaciones en los genes que las codifican; la pérdida simultánea de varias de estas proteínas en algunos de nuestros casos indica una alteración no genética. <sup>(24)</sup>

L.F Arias y cols, en su estudio sobre expresión de proteínas nefrina, podocina y actinina-4 en tejido renal de pacientes con proteinuria, estudiaron su distribución a través de la membrana basal glomerular en riñones sin patología agregada. Esta distribución normal se pierde en casos de proteinuria nefrótica, lo que sugiere que la alteración podocitaria encontrada en estos pacientes tiene relación directa con la redistribución o pérdida de una o varias de las proteínas asociadas con el diafragma de filtración. En casos de mutación de genes codificando alguno de los extremos de estas proteínas podría haber una pérdida en la expresión de dicho extremo, pero puede conservarse la inmunomarcación del otro extremo, o la proteína mutada se continúa detectando, pero estaría alterada su localización. Esto indica que puede que, aunque se conserve la inmunotinción para uno de los extremos de la nefrina, la podocina o la actinina 4, este hallazgo no descarta la presencia de mutaciones en los genes que las codifican. <sup>(14)</sup>



**Figura 1.** Expresión de nefrina en las paredes de los capilares glomerulares. Este patrón de expresión fue el evidenciado en el tejido normal y en las biopsias de pacientes con hematuria aislada. Esta expresión fue similar para nefrina, podocina y  $\alpha$ -actinina-4. Inmunofluorescencia indirecta para nefrina, extremo C-terminal, x400.



**Figura 2.** La expresión de nefrina, podocina y  $\alpha$ -actinina-4. en pacientes con proteinuria en rango nefrótico estaba alterada, con pérdida de la tinción continua, lineal, en las paredes capilares. Aquí se evidencian gránulos gruesos, discontinuos, en las paredes capilares glomerulares. Compárese con la figura 1. Inmunofluorescencia indirecta para nefrina, extremo C-terminal, x400.

La expresión granular de la nefrina, podocina y actinina-4 en lugar de lineal, indica que estas proteínas se han redistribuido en el citoplasma podocitaria y no logran ensamblarse como en la estructura normal de glomérulos sin enfermedad; sin embargo, nuestros resultados indican que esto puede ser una consecuencia del SN de diversa etiología, y no necesariamente una causa. <sup>(11)</sup>

Al parecer, los podocitos responden, de alguna manera, a la proteinuria y alteran el ensamblaje de estas proteínas; en consecuencia, estas proteínas representan una diana terapéutica en la proteinuria, como parece sugerir la modificación de la proteinuria con el uso de los inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (IECA) o de los antagonistas de receptores de angiotensina II (ARA II). En algunos pacientes, en los que se demuestra modificación en la expresión de nefrina. <sup>(6)</sup>

## NEFRINA

La nefrina es una proteína que forma un cierre tipo filtro en el centro de la hendidura diafragmática, desempeñando un importante papel en la señalización de célula a célula. Esta proteína es codificada por el gen *NPHS1*, las mutaciones dan lugar al SNC. <sup>(29)</sup>

Las mutaciones en *NPHS1* propician una falla de la barrera de filtración causando pérdida masiva de proteínas. La mutación mayor tipo finlandés (*nt12delCT, L41fsX91*) y la mutación menor (*c.3325C>T, R1109X*) en el gen *NPHS1* se describió por primera vez en pacientes con proteinuria persistente menores de 1 año en > 90% de los de los que reunían criterios para síndrome nefrótico tipo finlandés. <sup>(11)</sup>

La incidencia de SNC es alta en Finlandia, pero existe un alto incremento en el número de casos alrededor del mundo. Recientemente se han demostrado en Europa Central estudios de cohorte de niños con SN y mutaciones en el gen *NPHS1* donde se presentan mutaciones similares en el gen *NPHS2* (39% cada uno). Más de 80 diferentes mutaciones en *NPHS1* han sido descritas, incluyendo delecciones, truncadas y mutaciones sin sentido. La mutación *NPHS1* se distribuye a través del gen afectando los dominios extracelulares e intracelulares. <sup>(29)</sup>

El SNC de tipo finlandés pertenece a la enfermedad también llamada hereditaria, con su máxima incidencia en Finlandia comparada al resto del mundo. Afecta a 1: 10'000 nacidos en Finlandia. Kestila et al. (1998) reportaron la posición afectada de gen *NPHS1*, que se ve afectado en los niños con SN tipo finlandés, el cual se localiza en el brazo largo del cromosoma 19, 19q13.1, con un telómero que va orientado al centrómero. El gen de 26 kilobases contiene 29 exones. El codón para la iniciación de la traducción de metionina ésta localizado en el exón 1 y el codón de paro (*TAA*) se encuentra en el exón 29. El análisis Northern Blot demostró expresión de *NPHS1* solo en los riñones y por hibridación in situ localizándose su expresión en los podocitos glomerulares. *NPHS1* codifica para una proteína renal, llamada nefrina, proteína transmembrana con 8 dominios de tipo inmunoglobulina, un dominio fibronectina, un dominio transmembrana y un pequeño dominio intracelular. <sup>(29)</sup>

El papel de nefrina en la patogénesis del SN finlandés, sugiere un rol crucial en la barrera de filtración. Se ha obtenido por microscopia inmunoelectrónica la localización de dicha proteína en el podocito a nivel de la hendidura diafragmática. <sup>(29, 16)</sup>

## PODOCINA

La podocina es una proteína que forma parte de la membrana basal glomerular, codificada por el gen *NPHS2* (*OMIM \*604766*). <sup>(12, 30)</sup>

Un simple gen es responsable de aproximadamente el 30% de los casos de SNCR y que además no responden a otra terapia inmunosupresora; generalmente con lesiones de glomeruloesclerosis focal y segmentaria, que generalmente progresan a enfermedad renal en estadio final. En un estudio realizado en 1783 familias se identificaron mutaciones en 21 de 27 genes que codifican para proteínas principalmente expresadas en la barrera de filtración. El curso clínico en niños afectados difería de manera considerable con respecto a las enfermedades hereditarias, edad, resultados de la biopsia renal, respuesta al tratamiento inmunosupresor y a las manifestaciones extra renales. El gen *NPHS2* que codifica para podocina, un miembro de la familia de proteínas estomatinas que se localiza en la hendidura diafragmática. En el complejo hendidura – diafragma, la podocina actúa con la nefrina miembro de la superfamilia de inmunoglobulinas como una de las principales proteínas de la

hendidura diafragmática. Podocina pertenece a una familia que comprende más de 1800 proteínas conservadas a través de la evolución, que comparten aproximadamente 150 dominios de aminoácidos, similares a una proteína mitocondrial llamado prohibitina (PHB). Se ha demostrado que es una alteración que no se presenta en todos los grupos étnicos. Demostrándose que quien presenta alteraciones en casos esporádicos con mutaciones heterocigotas u homocigotas presentarán enfermedad entre los 3 y 5 años. Se encontró que en afroamericanos y pacientes asiáticos una baja prevalencia de mutaciones en *NPHS2*.<sup>(12)</sup>

## ANTECEDENTES

Dentro de los estudios realizados en pacientes con síndrome nefrótico y en específico, en pediatría solo se reporta en 2009, L.F Arias y cols, sobre expresión de proteínas nefrina, podocina y actinina-4 en tejido renal de pacientes con síndrome nefrótico, proteinuria significativa y hematuria. De estos 40 con diagnóstico de síndrome nefrótico y se realizó la comparación con tejido de donadores cadavéricos, los cuales se referían con función renal y datos histológicos normales, con el objetivo de reportar las diferencias entre estos. El análisis de las muestras se llevó a cabo por medio de inmunofluorescencia directa. Los resultados obtenidos en las muestras renales de riñones sanos, se reporta que las proteínas podocina, nefrina y  $\alpha$ -actinina-4, presentan un patrón en la membrana basal glomerular lineal, homogénea y difusa en capilares glomerulares periféricos, en comparación con los pacientes con síndrome nefrótico donde se reportó una pérdida de la expresión de dichas proteínas, así como presentación de un patrón granular, con gránulos finos o gruesos en la parte externa de los capilares glomerulares.

Lo que sugiere que la alteración podocitaria encontrada en estos pacientes tiene relación directa con la redistribución o pérdida de una o varias de las proteínas asociadas con el diafragma de filtración, explicando la posible etiología de la enfermedad y su mala respuesta al tratamiento.

### III. JUSTIFICACIÓN

Magnitud: el síndrome nefrótico es una entidad patológica común en la población pediátrica. Puede afectar a niños de cualquier edad, desde la infancia hasta la adolescencia. Esta enfermedad tiene una predilección de sexo con una aparición de 2:1 en varones, preferentemente en la edad preescolar, con un descenso en la adolescencia. <sup>(1)</sup> El pico de edad inicial de presentación es de los 2 años hasta 6 años. La prevalencia a nivel mundial es de aproximadamente 16 casos por 100, 000 niños, con una incidencia de 2 a 7 por cada 100 mil niños, siendo mayor en poblaciones asiáticas y afroamericanas. <sup>(5)</sup>

Aproximadamente el 85% de los niños menores de 6 años son cortico sensibles, y el resto presentaran algún tipo de resistencia a los mismos. Los primeros reportes estimaron que el SNCR se observa en aproximadamente en el 10% de los niños con SN idiopático, mientras que los estudios más recientes reportan un 27% de los niños con SNCR. <sup>(6)</sup>

En México se hace descripción de reportes de niños con SN, siendo uno de los más importantes en el occidente del país el estudio dirigido por el Dr. Patiño y su grupo de colaboradores bajo el nombre de “Características del síndrome nefrótico primario en edades no habituales, en un hospital pediátrico de tercer nivel en Guadalajara”. En dicha investigación en el servicio de nefrología del hospital de pediatría del CMNO, del IMSS, entre enero 2007 – junio 2009 se otorgaron 13419 pacientes; de ellas 829 fueron por SN, lo que representó el 6.1% de todas las consultas y la tercera causa motivo de atención en este servicio, 232 con diagnóstico de SN fueron hospitalizados, lo que represento el 9.7% de los 2410 hospitalizados en nefrología, siendo también la tercera causa de hospitalización en ese servicio. De los niños con diagnóstico con SN, 56 se encontraron fuera del rango de edad de mayor presentación (menores de 2 años y mayores de 10 años, pero menores de 16 años). Calculándose una prevaecía de 2.32 casos por cada 100 pacientes hospitalizados en el servicio de nefrología. <sup>(31)</sup>

Trascendencia: aproximadamente el 85% de los niños menores de 6 años son cortico sensibles, y el resto presentaran algún tipo de resistencia a los mismos. Del 15% restante, un 10% responderá al manejo con otras terapias y entre un tres y un 5% no responderá a ninguna de ellas. <sup>(3.6)</sup>



El describir desde el punto de vista molecular la enfermedad, las alteraciones en la expresión y distribución de las proteínas podocina y nefrina, nos permitirá entender la fisiopatología, la respuesta al tratamiento y pronóstico de los pacientes.

A nivel institucional, el conocimiento generado por la realización de este trabajo es de utilidad para la creación de intervenciones que mejoren el pronóstico de los pacientes.

Por último, pero no menos importante, los pacientes pediátricos serán los más beneficiados, ya que a mientras más información respecto a su patología más amplio es el panorama de manejo de estos, con mejores resultados, mejoría en pronóstico y sin intervenciones innecesarias.

Vulnerabilidad: El presente proyecto de investigación reporta características de la membrana basal glomerular, específicamente en relación las proteínas que conforman la hendidura de filtración, ya que en la actualidad no contamos con suficiente información en relación con la expresión de la podocina y la nefrina como proteínas que están asociadas a la MBG; en donde la ausencia en expresión y/o anormalidad en la distribución parecen estar en relación con el pronóstico del paciente. El personal médico, se beneficia de este conocimiento, al poder aplicarlo en sus protocolos de manejo en esta población.

Factibilidad: el presente proyecto de investigación tuvo una factibilidad alta, debido a que el servicio de Nefrología del Hospital de Pediatría del CMNO, es un centro de concentración del país que atiende a los pacientes con SN que presentan corticorresistencia y cortica dependencia con seguridad social de la zona occidente del país. Se contó con el apoyo del servicio de patología para proporcionar los bloques de parafina con muestras de biopsias de riñón para su estudio; así como con el apoyo del laboratorio donde realizó el estudio inmunohistoquímico del tejido renal. Se contó además con el apoyo de profesores con experiencia en el área de investigación y nefrología. Con un promedio anual de 30 pacientes por año, con muestra sea significativa.

Viabilidad: el proyecto de investigación tuvo una viabilidad alta, ya que en el servicio de nefrología del hospital de pediatría del CMNO los procedimientos y tratamientos se realizan de acuerdo con políticas y objetivos de la institución y la UMAE Hospital de Pediatría.

#### IV. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El SN se define como una proteinuria masiva ( $>40$  mg/m<sup>2</sup>/hr o un índice de proteinuria/creatininuria  $> 2$ g/g) con hipoalbuminemia ( $<2.5$  g/dl), edema e hiperlipidemia. Se clasifica de acuerdo con su capacidad para lograr remisión con el tratamiento a base de corticoesteroides. <sup>(3,23)</sup> Se presenta en varones 2:1, preferentemente en la edad preescolar, con un descenso en la adolescencia. <sup>(1)</sup> El pico de edad inicial de presentación es de los 2 años hasta 6 años. La prevalencia a nivel mundial es de aproximadamente 16 casos por 100, 000 niños, con una incidencia de 2 a 7 por cada 100 mil niños siendo mayor en poblaciones asiáticas y afroamericanas. <sup>(5)</sup> Aproximadamente el 85% de los niños menores de 6 años son cortico sensibles, y el resto presentaran algún tipo de resistencia a los mismos. <sup>(3,6)</sup>

Parece ser que el pronóstico de los pacientes con SN va en relación con ciertas mutaciones de las proteínas en la MBG. Dentro de las dos mutaciones principales se encuentran la presente en la proteína *NPHS1* nefrina y la proteína *NPHS2* podocina, como estructuras de vital importancia para el adecuado funcionamiento de la barrera de filtración. Una de las alternativas que se plantea, es el estudio a través del análisis por inmunohistoquímica de las enfermedades, evaluando la expresión de las proteínas, sus modificaciones por región, malformación de estas y alteraciones en su distribución.

No existen suficientes estudios a nivel nacional e internacional sobre la expresión de las proteínas podocina y nefrina en la MBG de pacientes con SNCR y SNCD. En México se cuenta con pocos reportes de dicha enfermedad, la mayoría con bajos niveles de evidencia, haciéndose descripciones de casos. El presente estudio pretende vulnerar esta falta de información. Se ha visto que la ausencia en expresión y/o anormalidad en la distribución de las proteínas parece tener relación con el pronóstico del paciente y su respuesta al tratamiento. Concluyendo, que, si se estudia la enfermedad desde el punto de vista molecular, se estará en la posibilidad de evitar tratamientos innecesarios para el paciente, evitando complicaciones y riesgos.

## V. OBJETIVOS

### Objetivo General

Reportar la prevalencia de positividad de las proteínas podocina y nefrina en pacientes con síndrome nefrótico corticorresistente y corticodependiente.

### Objetivos específicos

1. Identificar la presencia o ausencia y distribución de la proteína podocina en muestra de biopsia renal en pacientes con síndrome nefrótico
2. Identificar la presencia o ausencia y distribución de la proteína nefrina en muestra de biopsia renal en pacientes con síndrome nefrótico
3. Describir las características sociodemográficas de los pacientes con síndrome nefrótico corticodependiente y corticorresistente.

## VI. Hipótesis

Existe una anomalía en la expresión y la distribución de las proteínas podocina y nefrina en la membrana basal glomerular en las muestras de biopsia renal de los pacientes pediátricos con síndrome nefrótico corticorresistente y corticodependiente.

## VII. MATERIAL Y METODOS

- A. **Tipo y diseño.** Estudio transversal analítico.
- B. **Universo de estudio.** Pacientes pediátricos con diagnóstico síndrome nefrótico que no respondieron a tratamiento de primera línea y que ameritaron biopsia renal, atendidos en el Hospital de Pediatría del CMNO del IMSS, Guadalajara, Jalisco, México, durante el periodo de enero de 2015 a diciembre 2018.
- C. **Lugar de trabajo.** El presente estudio se realizó en el Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de Occidente (CMNO), del Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), en Guadalajara, Jalisco, México. Las biopsias en parafina de tejido renal se solicitaron al servicio anatomía patológica del instituto. El estudio inmunohistoquímico del tejido renal se llevo a cabo en el laboratorio en el área de investigación y la interpretación de las laminillas se llevarón a cabo por el servicio de antomía patológica.
- D. **Calculo muestral.** Ya que se realizó un censo se incluyeron todas las muestras obtenidas, no se requirió de cálculo de tamaño muestral.
- E. **Criterios de selección.**

### Criterios de inclusión

- Pacientes pediátricos con diagnóstico de síndrome nefrótico a los que se le realizó biopsia renal durante el periodo comprendido de enero 2015 a octubre 2018.
- Edad entre 2 y 15 años 11 meses.
- Ambos sexos.
- Pacientes quienes hayan aceptado el uso de muestra de biopsia mediante consentimiento informado (Padres) y carta de asentimiento (Paciente).

### Criterios de no inclusión

- Pacientes pediátricos con diagnóstico de Síndrome nefrótico secundario.
- Pacientes quienes no hayan aceptado el estudio de muestra de biopsia renal.
- Pacientes menores de 2 años y mayores de 15 años 11 meses.

#### Criterios de eliminación

- Hoja de recolección de datos incompleta.
- Muestras que no cuenten con suficiente de tejido renal para realización de inmunohistoquímica.
- Perdida de derechohabiencia

#### **F. Variables del estudio**

##### Variable Independiente

- Tipo de Síndrome nefrótico.

##### Variable dependiente

- Detección y distribución de podocina y nefrina

##### Variables intervinientes

- Edad.
- Sexo.
- Grupo etario.
- Tipo de tratamiento.
- Lesión histopatológica.

#### **G. Definición de variables**

##### Variable dependiente

- Detección de podocina. Es determinación de la proteína podocina en biopsia de tejido renal a través estudio inmunohistoquímico. Se operacionalizará como presente y ausente.
- Detección de nefrina. Es determinación de la proteína nefrina en biopsia de tejido renal a través estudio inmunohistoquímico. Se operacionalizará como presente y ausente.
- Distribución de la podocina en la MBG. Es la determinación de la distribución de la proteína podocina en la MBG a través de estudio inmunohistoquímico. Pudiendo ser una distribución normal o anormal. Normal cuando la proteína esté presente dentro de la hendidura

diafragmática de la MBG; anormal, cuando la proteína esté ausente o fuera de la hendidura diafragmática de la MBG.

- Distribución de la nefrina en la MBG. Es la determinación de la distribución de la proteína nefrina en la MBG a través de estudio inmunohistoquímico. Pudiendo ser una distribución normal o anormal. Normal cuando la proteína esté presente dentro de la hendidura diafragmática de la MBG; anormal, cuando la proteína esté ausente o fuera de la hendidura diafragmática de la MBG.

### Variable independiente

- Tipo de síndrome nefrótico: desorden renal que se caracteriza por una alta permeabilidad de la barrera de filtración glomerular. Tiene 4 características principales una proteinuria ( $>40$  mg/m<sup>2</sup>/hr o un índice de proteinuria/creatininuria  $> 2$ g/g) con hipoalbuminemia ( $<2.5$  g/dl), edema e hiperlipidemia. <sup>(1,2, 3)</sup>
- se definirá como **síndrome nefrótico corticorresistente** aquel en el que exista persistencia de proteinuria después de 4 semanas de terapia oral con esteroide (prednisona a 60 mg/m<sup>2</sup> por día). **Síndrome nefrótico corticodependiente** se define cuando el paciente presenta 2 recaídas consecutivas al disminuir la dosis de prednisona o durante los primeros 15 días después de la suspensión.

### **Variables intervinientes**

- Edad. Número de años cumplidos al momento de realizar la biopsia renal.
- Sexo. Con base a los caracteres sexuales del paciente será operacionalizada como masculino y femenino.
- Grupo etario. Es aquel grupo determinado por la edad y la pertenencia a una etapa específica del ciclo vital humano. Se clasificará de acuerdo con la clasificación de la organización mundial de la salud (OMS). Como recién nacido, lactante, escolar, preescolar o adolescente.
- Tipo de tratamiento. tipo de tratamiento del paciente al momento de realizar la biopsia renal.
- Lesión histopatológica. Características específicas que se relacionan una enfermedad con un tejido orgánico. Determinado a través del estudio de histológico.

## H. Cuadro de Operacionalización de variables

Operacionalización de variables.					
Variable independiente					
Variable	Naturaleza	Definición	Escala de medición	Pruebas estadísticas	Indicador
<b>Tipo de síndrome nefrótico</b>	Cualitativa	Se define como síndrome nefrótico corticorresistente aquel en el que exista persistencia de proteinuria después de 4 semanas de terapia oral con esteroide (prednisona a 60 mg/m <sup>2</sup> por día); definiéndose como síndrome nefrótico corticodependiente cuando el paciente presenta 2 recaídas consecutivas disminuir la prednisona o durante los primeros 15 días después de las suspensiones.	Nominal	Porcentaje Frecuencia Proporción X <sup>2</sup>	1.corticorresistente 2.corticodependiente
Variables dependientes					
<b>Detección de podocina en la MBG</b>	Cualitativa	Es determinación de la proteína podocina en biopsia de tejido renal a través estudio inmunohistoquímico	Nominal	Porcentaje Frecuencia Proporción X <sup>2</sup>	1.presente 2.ausente

<b>Detección de nefrina en la MBG</b>	Cualitativa	Es determinación de la proteína nefrina en biopsia de tejido renal a través estudio inmunohistoquímico	Nominal	Porcentaje Frecuencia Proporción X <sup>2</sup>	1.presente 2. ausente
<b>Distribución de podocina en la MBG</b>	Cualitativa	Es la determinación de la distribución de la proteína podocina en la membrana basal glomerular a través de estudio inmunohistoquímico	Nominal	Porcentaje Frecuencia Proporción X <sup>2</sup>	1.normal 2. Anormal
<b>Distribución de nefrina en la MBG</b>	Cualitativa	Es la determinación de la distribución de la proteína nefrina en la membrana basal glomerular a través de estudio inmunohistoquímico	Nominal	Porcentaje Frecuencia Proporción X <sup>2</sup>	1.normal 2. Anormal
<b>Variables intervinientes</b>					
<b>Edad</b>	Cuantitativa	Número de años cumplidos al momento de la biopsia renal.	Discreta	Media Desviación estándar*	Número de años
<b>Sexo</b>	Cualitativa	Con base en los caracteres sexuales del paciente.	Nominal	Porcentaje Frecuencia Proporción	1.femenino 2.masculino



<b>Grupo etario</b>	Cualitativa	Es aquel grupo determinado por la edad y la pertenencia a una etapa específica del ciclo vital humano. Se clasificará de acuerdo con la clasificación de la OMS	Ordinal	Porcentaje Frecuencia Proporción	1. recién nacido 2. Lactante 3. escolar 4. preescolar 5. adolescente
<b>Tipo de tratamiento</b>	Cualitativa	Tipo de tratamiento del paciente al momento de realizar la biopsia renal.	Nominal	Porcentaje Frecuencia Proporción	1. Esteroide 2. Ciclofosfamida 3. Ciclosporina 4. Ácido micofenólico 5. Rituximab 6. Otros
<b>Lesión histopatológica</b>	Cualitativa	Características específicas que se relacionan una enfermedad con un tejido orgánico. Determinado a través del estudio de histológico.	Nominal	Porcentaje Frecuencia Proporción	1. Enfermedad de cambios mínimos. 2. glomeruloesclerosis focal y segmentaria. 3. Glomerulonefritis membranoproliferativa 4. glomerulonefritis membranosa 5. proliferación mesangial difusa.
*o medianas, mínimos y máximos en caso de distribución no normal					

## I. Desarrollo del estudio o procedimiento

1. Una vez elaborado el protocolo de investigación, éste se sometió a evaluación y autorización por el comité local de ética e investigación en salud (CLIEIS 1302) de la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Pediatría.
2. Se procedió realizar revisión de expedientes para realizar el llenado de una hoja de recolección.
3. Se tomó el número de teléfono, se les llamó y se citó en el área de Nefrología Pediátrica del Hospital de Pediatría, para explicar en qué consiste el estudio y se solicitar firma del consentimiento bajo información por parte de los padres y carta de asentimiento por parte del paciente.
4. Acudimos al servicio de anatomía patológica, del CMNO del IMSS, en Guadalajara, Jalisco, México. Donde previa autorización del jefe de departamento de Patología Dr. Aldo Antonio Alcaraz Wong y de la Nefropatóloga Dra. Claudia Mendoza Cerpa, se realizó el llenado de solicitud laminillas y bloque de parafina y se recabó las biopsias de riñón nativo de pacientes pediátricos con diagnóstico de síndrome nefrótico que se realizaron durante el periodo de enero 2015 a diciembre 2018.
5. La biopsia de tejido renal se analizó a través de estudio inmunohistoquímico en el laboratorio en el área de investigación quirúrgica por la Doctora en ciencias Caridad Áurea Leal Cortés con la finalidad determinar la expresión de proteínas podocina y nefrina; así como su distribución en la MBG. El procedimiento para el estudio inmunohistoquímico se describe a continuación:
  - a. Realizar cortes de 3-4 micras del tejido inmerso en parafina y colocarlo en laminillas electro cargadas. Dejar secar a 58 grados toda la noche.
  - b. Desparafinizar, rehidratar y desenmascarar el epítipo en olla de presión utilizando el buffer adecuado al anticuerpo.
  - c. Incubar con el bloqueador peróxido de hidrógeno durante 10 min y enjuagar.
  - d. Incubar el tejido con el anticuerpo contra Nefrina durante 30-60 min.
  - e. Incubar con biotina durante 10 min.
  - f. Incubar con HRP marcada durante 10 min.

- g. Incubar con el cromógeno detector Diaminobencidina durante 5 min.
  - h. Contrateñir con Hematoxilina y Eosina.
  - i. Cubrir con cubreobjetos y observar.
  - j. Repetir el procedimiento para la detección de podocina en corte de tejido independiente.
  - k. **Nota:** como medida de seguridad y para evitar verter reactivos peligrosos a la tarja, antes de desechar el cromógeno se inactiva con hipoclorito al 10%.
6. Al obtener las laminillas, fueron valoradas por la Doctora Arisbeth Villanueva Perez, adscrita del servicio de Patología de HP del CMNO del IMSS.
  7. La información obtenida se vació a una base de datos y se analizó estadísticamente con el programa SPSS versión 20.
  8. Los resultados se expresan en forma de gráficas, tablas y mediante redacción.
  9. Se emitieron las conclusiones del estudio.

#### J. **Procesamiento de datos y aspectos estadísticos**

La información obtenida se vació a una base de datos y se analizó estadísticamente con el programa SPSS versión 20.

- Para el análisis descriptivo de las variables cualitativas se utilizaron frecuencias, proporciones y porcentajes.
- Para el análisis descriptivo de variables cuantitativas se utilizaron medidas de tendencia central y de dispersión de acuerdo con la curva de distribución de datos:
  - En caso de distribución simétrica se utilizó media y desviación estándar.
  - En caso de curva no simétrica se utilizaron medianas y rangos (mínimo y máximo).
- Para análisis inferencial de variables cualitativas se utilizará prueba de chi cuadrada.
- Las características de distribución de las variables cuantitativas se realizarán a través de la prueba de Kolmogorov Smirnov, considerándose distribución no simétrica  $p < 0.05$  (utilización de pruebas no paramétricas) y simétrica  $p > 0.05$  (utilización de pruebas paramétricas).
- La información se vaciará en una base de datos electrónica y los datos se analizarán con el programa estadístico SPSS versión 20.0.

- Se considerará un valor significativo de  $p < 0.05$ .

## VIII. ASPECTOS ÉTICOS

El trabajo de investigación se sujetó al reglamento General de Salud en Materia de Investigación en Salud 2014, en su título primero capítulo único, en sus artículos 1,2 y 3 , ya que este ordenamiento tiene por objeto, proveer, en la esfera administrativa , el cumplimiento de la ley general de salud en lo referente a la investigación para la salud en los sectores público, social y privado, siendo este de aplicación en todo el territorio nacional y sus disposiciones son de orden público y de interés social.

Se apegó a su título segundo de los aspectos éticos de investigación en seres humanos, capítulo I, en sus artículos 13, 14, 16 17, 18, 20, 21 y 22 en su capítulo III, en sus artículos 36, 37 y 39. Dicha investigación, de acuerdo con el artículo 17 de esta Ley, es considerada como tipo I, investigación sin riesgo. Ya que en esta investigación prevalecerá el criterio a su dignidad y protección de sus derechos y bienestar, ya que el grupo de trabajo corresponde a niños de 0 meses a 16 años, se considera autonomía disminuida.

Se realizó consentimiento informado para el uso de información según los lineamientos del comité de investigación en salud y directivas de la buena práctica clínica y según el reglamento de la ley general de salud en materia de investigación para la salud en su capítulo III, artículos 36,37 y 39. El proceso de cita y firma de consentimiento informado y carta de asentimiento se realizó por la tesista residente de segundo año de subespecialidad de nefrología pediátrica Georgina Martínez Gómez, una vez obtenido los datos del paciente por la tesista.

La información se obtuvo de expedientes y las biopsias de tejido renal en parafina fueron todas aquellas solicitadas al servicio de patología, de aquellas que ya fueron realizadas previamente como parte del protocolo diagnóstico y manejo del paciente.

Dentro de las consideraciones éticas se respetó la confidencialidad. Respecto a este punto podemos dar las especificaciones siguientes:

- **Confidencialidad.** Los datos obtenidos de cada uno de los participantes se utilizaron única y exclusivamente para la realización de la presente investigación, asegurando que los pacientes no puedan ser identificados en las presentaciones o publicaciones que deriven del estudio y que los datos respecto a su privacidad serán tratados en una forma confidencial. Se enumeró cada una de las muestras, así como su hoja de recolección de datos, para respetar la identidad de cada uno de los pacientes, sin revelar el nombre, edad o lugar de procedencia. Una vez obtenida la información de los expedientes clínicos y del resultado de laboratorio, se realizó el vaciado de la información y se guardó en base de datos en laptop personal de la tesista, la cual cuenta con contraseña de inicio únicamente conocida por ésta y al final de la investigación, una vez presentado el trabajo, se eliminara cualquier registro, así mismo los bloques de parafina con las muestras de tejido renal obtenidas del Servicio de Patología, se regresaron al término del estudio para quedar en disposición del paciente, para el uso que desee darle y el resultado del mismo estudio se agregara a su expediente clínico.

## **IX. RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD**

### **Humanos**

Se contó con la participación del investigador principal y asociados con experiencia en la realización de protocolos, tesis y en la recolección de información. Se contó con un tesista, que es un médico residente en formación en el curso de especialización en nefrología pediátrica, quien se encargó juntamente con el resto del equipo de la recolección de información. Apoyo del personal de anatomía patológica que facilitará las biopsias de tejido renal para su estudio, así como la interpretación de las laminillas. Se contó con el apoyo del personal del laboratorio donde se realizó el estudio inmunohistoquímico de las muestras.

### **Materiales**

Se tuvo acceso a las instalaciones del Hospital de Pediatría del CMNO del IMSS, un centro de documentación en salud, acceso a equipo de cómputo y acceso a base de datos para la descarga de artículos con información útil para la investigación, Se utilizó equipo de cómputo personal, dispositivos *Universal Serial Bus* (USB), impresoras, copias de hojas de recolección, lapiceros, lápices, hojas tamaño carta, borradores. Programas estadísticos para análisis de información.

Se contó con el acceso y apoyo en las instalaciones del laboratorio del área de investigación quirúrgica, quienes serán los encargados de realizar el estudio inmunohistoquímico del tejido renal.

### **Financiamiento o recursos financieros**

Los gastos derivados de la presente investigación quedaron a cargo del investigador principal, asociado y tesista. Los gastos necesarios para la elaboración del manuscrito de tesis derivado de la investigación quedaron a cargo del investigador principal, asociados y por el alumno.

## **Infraestructura**

Se cuenta en la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de Occidente con el personal hospitalario a evaluar de quienes se obtuvieron los datos para la revisión y análisis de resultados.

## **Factibilidad**

El presente proyecto de investigación tuvo una factibilidad alta, debido a que el servicio de Nefrología del Hospital de Pediatría de CMNO, es un centro de concentración del país que atiende a los pacientes con diagnóstico de síndrome nefrótico que no respondieron a tratamiento de primera línea y que ameritaron la toma de biopsia renal de la zona occidente del país. Se contó con el apoyo del servicio de patología para proporcionar las muestras de biopsias de riñón para su estudio. Así como con el personal del laboratorio en el área de investigación quirúrgica quien proporcionó los reactivos para el estudio inmunohistoquímico.

## X. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDAD	OCTUBRE- NOVIEMBRE 2019	DICIEMBRE 2019 ENERO 2020	FEBRERO - MARZO 2020	ABRIL- MAYO 2020	JUNIO- JULIO 2020	AGOSTO- SEPTIEMBRE2 020
REVISIÓN DE BIBLIOGRÁFICA	XX					
REALIZACIÓN DE PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN POR TESISTA.	XX	XX				
REGISTRO DE PROTOCOLO DE Y AUTORIZACIÓN POR COMITÉ DE INVESTIGACIÓN (CLIEIS)		X	X			
RECOLECCIÓN DE DATOS O TRBAJO DE CAMPO.				XX	XX	
CODIFICACIÓN Y PROCESAMIENTO INFORMACIÓN.					XX	
ANALISIS ESTADÍSTICO Y PROCESAMIENTO DE INFORMACIÓN					XX	
ENTREGA DEL TRABAJO FINAL Y/O PUBLICACION DE RESULTADOS						XX

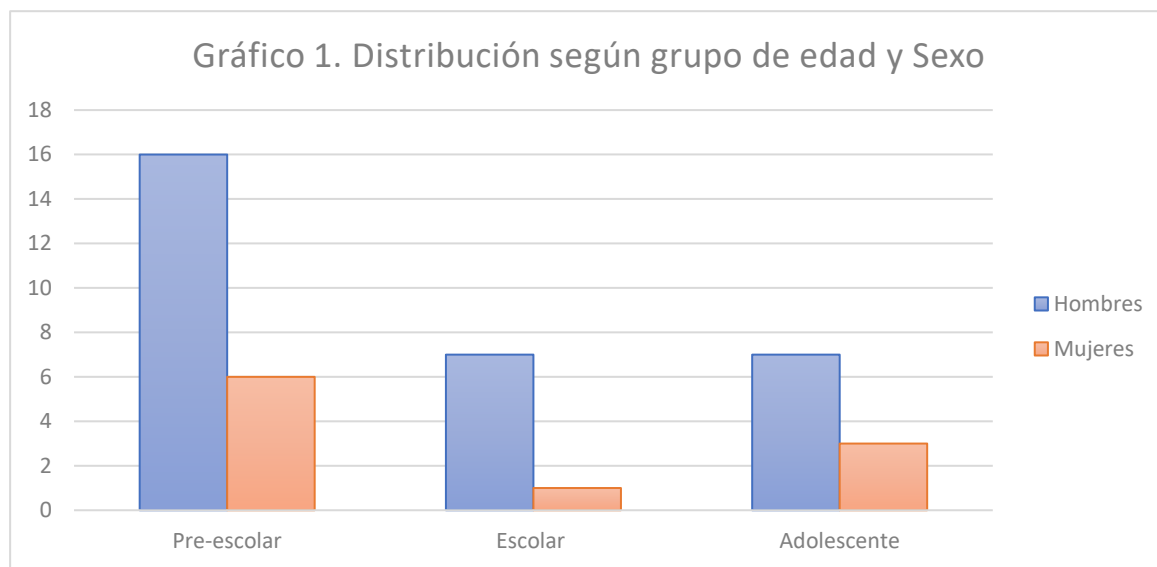


## XI. RESULTADOS

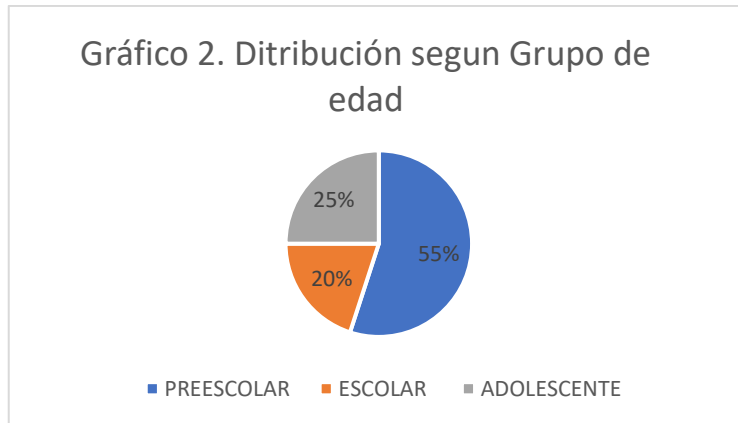
Se obtuvieron un total de 69 pacientes con diagnóstico de síndrome nefrótico corticodependiente o corticorresistente, de los cuales se excluyeron 29, en 4 de ellos el diagnóstico fue secundario a enfermedades sistémicas, 9 contaban con muestra insuficiente y en 16 casos no se contaba con muestra en el servicio de patología.

Las muestras estudiadas fueron un total de 40 pacientes, un 30 (75%) fueron hombres y 10 (25%) mujeres.

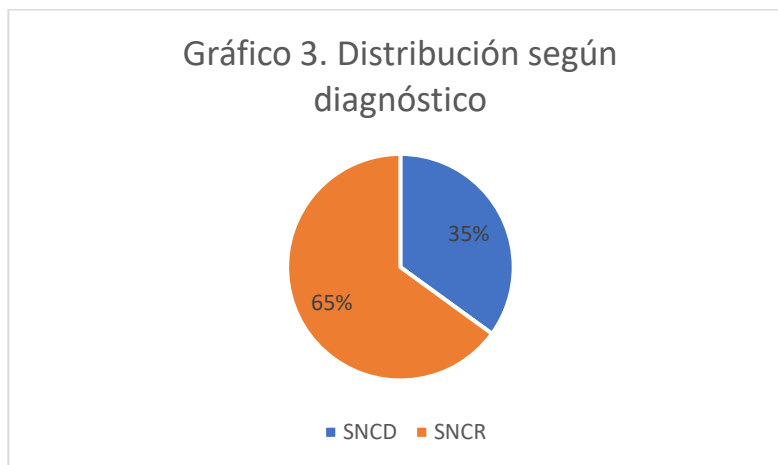
En el grupo de las mujeres se reportó un 60%(6) pre-escolares, 10%(1) escolar y 30%(3) adolescentes. En el grupo de los hombres un 53%(16) pre-escolares, 23%(7) escolares y 23%(7) adolescentes(gáfico1).



En total por grupo de edad se reportó un predominio en preescolares con un 55% del los paciente, seguido por los adolescentes con un 25% y por ultimo los escolares con un 20%. (Gráfico 2)



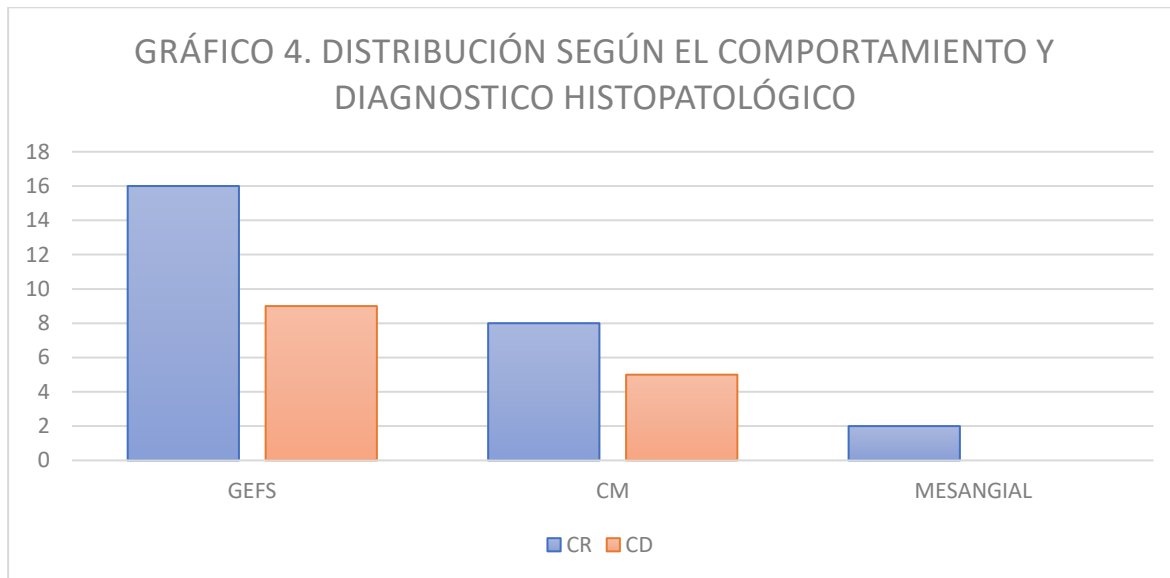
Del total de los pacientes unicamente 14 (35%) se catalogaron con síndrome nefrótico corticodependiente y el resto, 26 (65%) como sndrome nefrótico corticorresistente. (Gráfico 3)



Todos los pacientes incluidos en el estudio contaban con antecedente de biopsia renal percutanea con el fin de obtener un diagnóstico histopatológico reportandose un 62% (25) con una Glomeruloesclerosis focal y segmentaria, un 32%(13) enfermedad de cambios minimos y solo un 5%(2) con glomerulonefritis mesangial. (Gráfico 4)

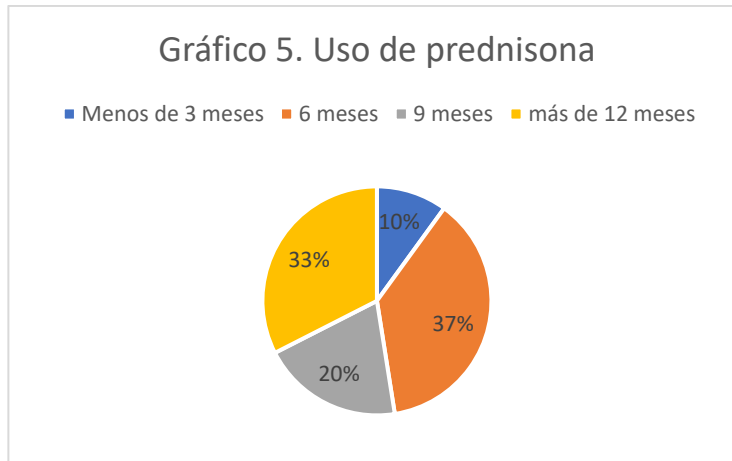
De los pacientes con diagnostico de Sindrome nefrotico secundario a una glomeruloesclerosis focal y segmentaria mas del 50% presentaron un comportamiento de corticorresistencia y de éstos solo un 36% de cortico dependencia. (Gráfico 4)

En aquellos que tuvieron un diagnostico de enfermedad de cambios minimos tambien más de la mitad o sea un 62% presento un comportamiento de corticorresistencia y solo un 38% de corticodependencia y aquellos que tuvieron diagnosticos de glomerulonefritis mesangial presentaron en un 100% (2) un comportamiento de corticorresistencia. (Gráfico 4)



En cuanto al tratamiento previo a la toma de biopsia, todos los pacientes estudiados reportaron haber recibido esteroides, sin embargo el tiempo de tratamiento varia desde 3 hasta mas de 12 meses.

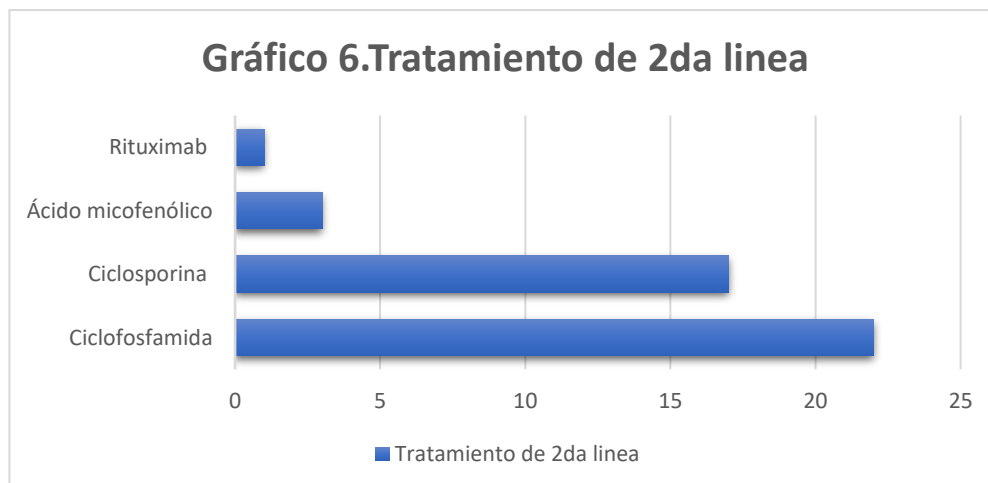
Solo 4 pacientes(10%) recibieron esteroide 3 meses o menos, 15 pacientes(37%) alrededor de 6 meses, 8 pacientes (20%) 9 meses y 13 pacientes (32%) recibieron esteroide por mas de 12 meses. (Gráfico 5)



Posterior a la toma de biopsia se realizó un cambio de tratamiento en todos los pacientes, de acuerdo a la evolución y respuesta a tratamiento previo, dentro de los medicamentos utilizados fueron:

- Inhibidores de la calcineurina como ciclosporina
- Agente alquilante como la ciclofosfamida
- Inmunosupresor inhibidor de la síntesis de novo de purinas como el Ácido micofenólico
- Anticuerpo monoclonal como el rituximab.

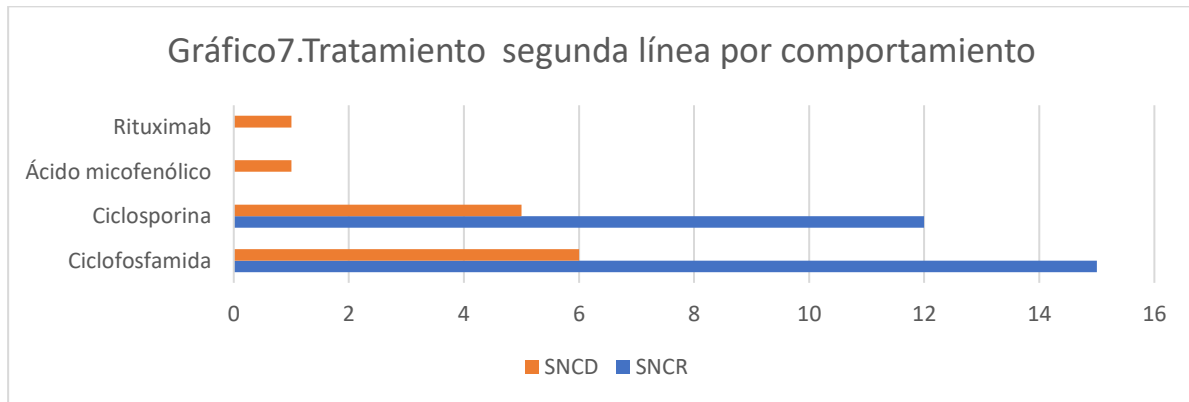
En mas de la mitad de los pacientes se administro ciclofosfamida con un 55%(22), la ciclosporina en 17 pacientes (42%), solo 3 (7.5%) pacientes recibieron acido micofenolico y 1(2.5%) paciente rituximab. Cabe resaltar que en tanto l ácido micofenólico y el rituximab fueron tratamiento de segunda o tercera linea. (Gráfico 6)



Se reporto que solo 6 de los 40 pacientes recibieron como tratamiento ciclofosfamida y ciclosporina, en tiempos diferentes.

De los que tuvieron un comportamiento corticorresistente, 15 recibieron ciclofosfamida y 12 ciclosporina. (Gráfico 7)

Los que presentaron comportamiento corticodependiente solo 6 recibieron ciclofosfamida, 5 ciclosporina, ácido micofenólico 1 y rituximab 1. (Gráfico 7)



Los resultados del análisis de los bloques de parafina con muestra de biopsia renal, se reporto sin glomerulos analizables en 12(30%) de las muestras para Podocina y 9 (22%) para nefrina.

De las muestras donde sí se reportaron glomerulos, para podocina se observaron como negativo en 25(62.5%) de las muestras (Imagen 3), presencia débil en 2 (5%) de las muestras y presencia moderada en 1(2.5%) de las muestras(imagen2). (Gráfico 8)

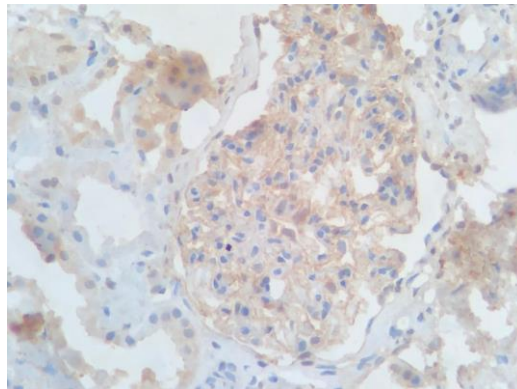


Imagen 1. Control Inmunohistoquímica Podocina

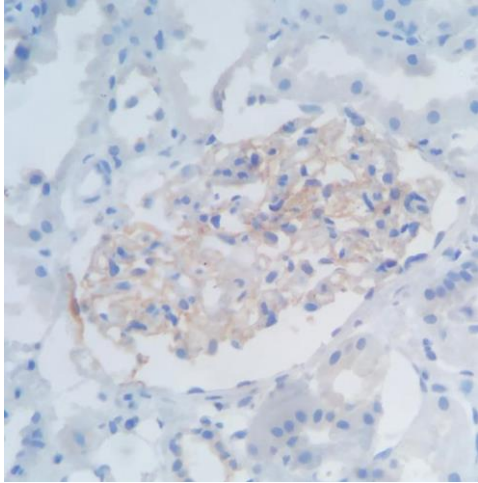


Imagen2. Inmunohistoquímica positiva Podocina

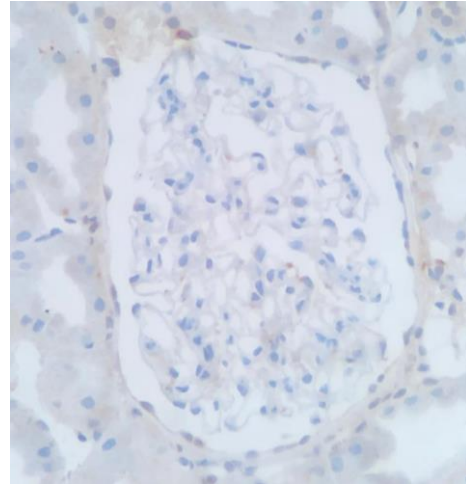


Imagen 3. Inmunohistoquímica Negativa Podocina

En cuanto a los resultados del análisis de los bloques para nefrina, 27(67%) como negativos y solo 4 (10%) con presencia débil.

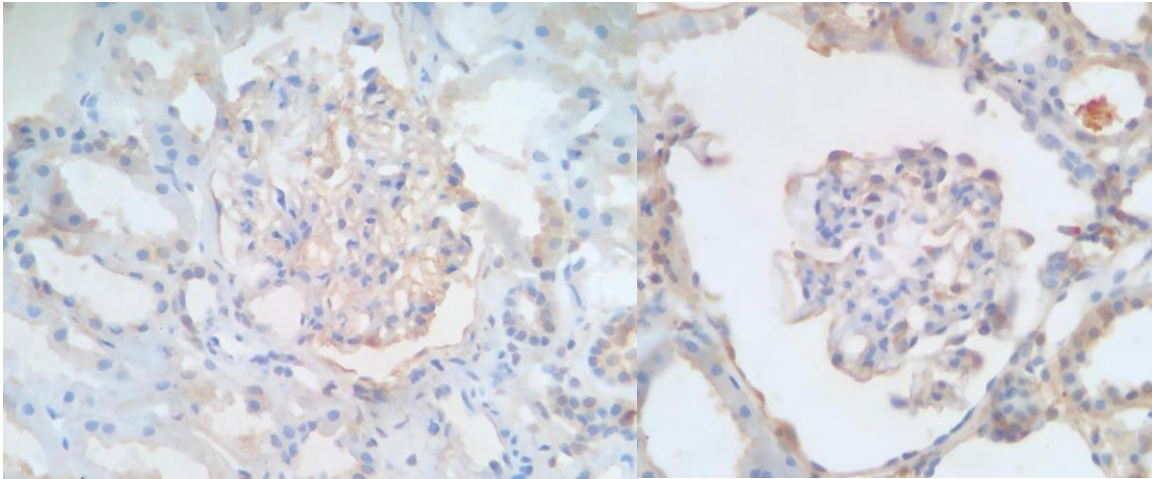
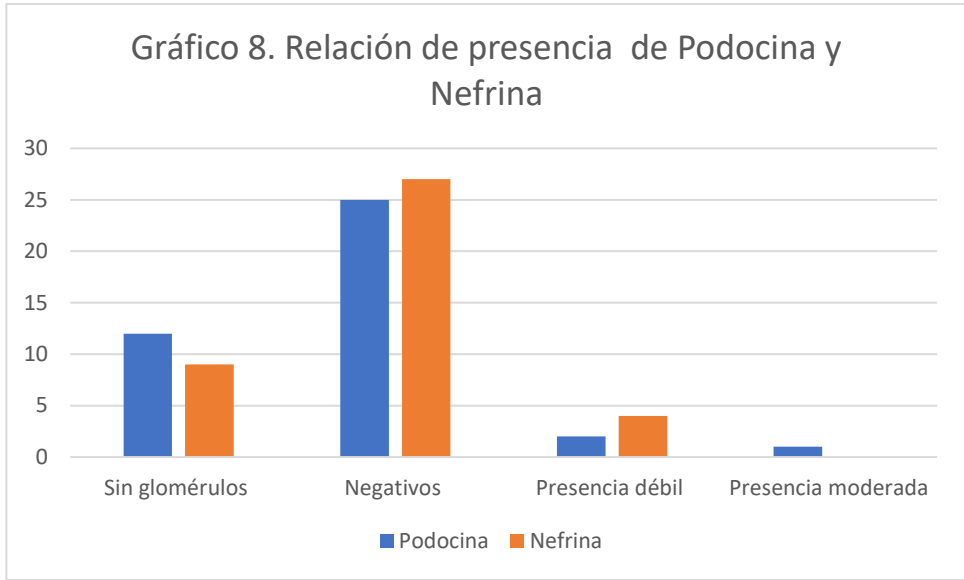


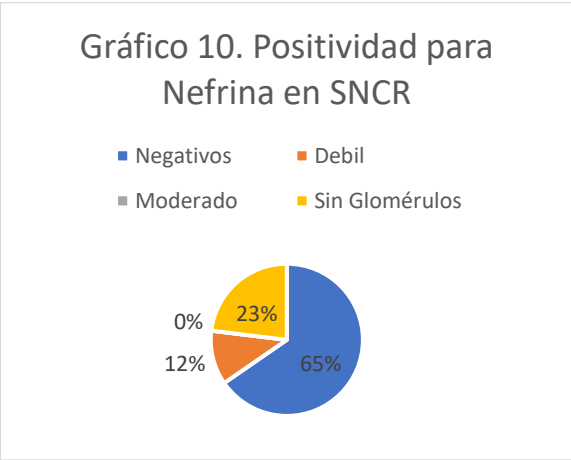
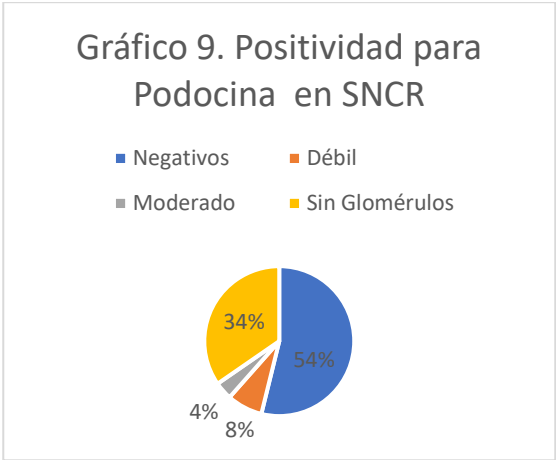
Imagen 4. Control Inmunohistoquímica Nefrina.

Imagen5. Inmunohistoquímica positiva NEFRINA



Delos 26 pacientes con síndrome nefrótico corticorresistente con muestra para podocina se reportan 9(34%) sin glomerulos y 17(66%) con muestra valorable; de estos fueron negativas 14(54%), con presencia debil 2 (8%) y presencia moderada 1 (4%). (Gráfico 9)

Las muestras para la nefrina se reportaron 20(77%) valorables; de estas 17 (65%) se reportaron como negativas y 3(12%) con presencia debil. (Gráfico 10)



En los 14 pacientes que presentaron un comportamiento corticodependiente, las muestras valorables para podocina fueron 11 (79%) y practicamente el total de estas se reportó como negativa. (Gráfico 11) Las muestras valorables para nefrina fueron 11 (78%), de estas 10(72%) se observaron negativas y solo 1 (7%) como débil. (Gráfico 12)

Gráfico 11. Positividad para nefrina en SNCD

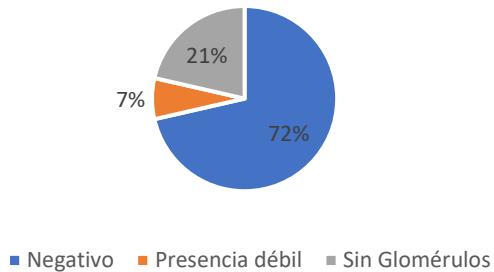
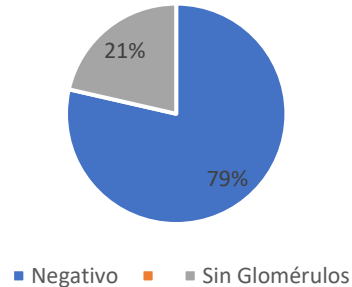


Gráfico 12. Positividad para podocina en SNCD



En los 25 pacientes con diagnóstico histopatológico de glomeruloesclerosis focal y segmentaria tenemos que solo 18 muestras fueron valorables, en un 83%(15) se reporto como negativo para podocina, un 11%(2) con presencia débil y 5%(1) con presencia moderada. (Gráfico 13) Para nefrina, fueron 20 valorables, de estos un 85%(17) fueron negativos y solamente un 15%(3) tuvieron una presencia débil. (Gráfico 14)

Gráfico 13. Positividad para podocina en GEFS

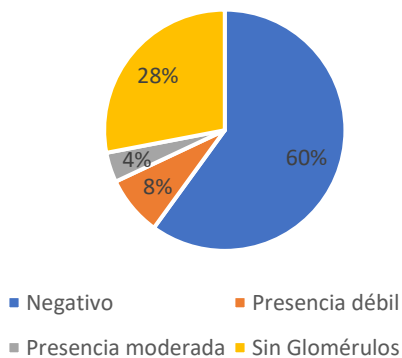
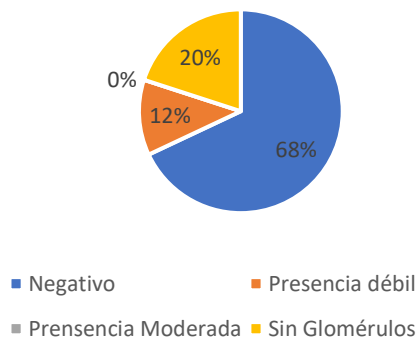


Gráfico 14. Positividad para nefrina en GEFS

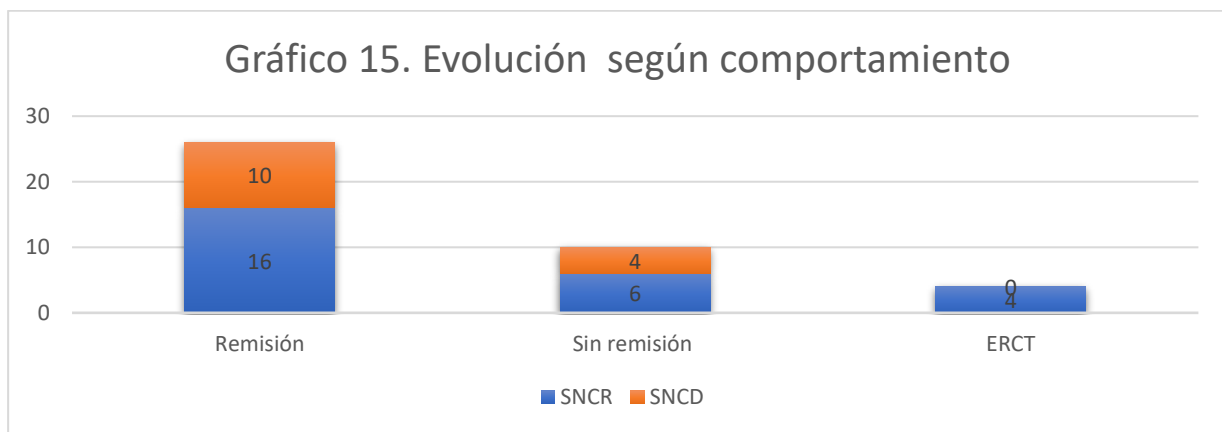




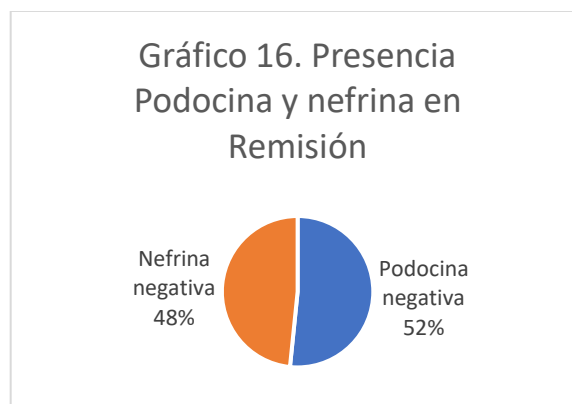
De los 13 pacientes en los que se realizó diagnóstico de cambios mínimos, solo 9 muestras fueron valorables y el 100% de éstas se reportaron negativas para nefrina y podocina.

De los 2 pacientes con diagnóstico de glomerulonefritis mesangial solo 1 muestra fue valorable y se reporto negativa para podocina. Para nefrina las 2 muestras fueron valorables 1 se reporto negativa y 1 con presencia debil.

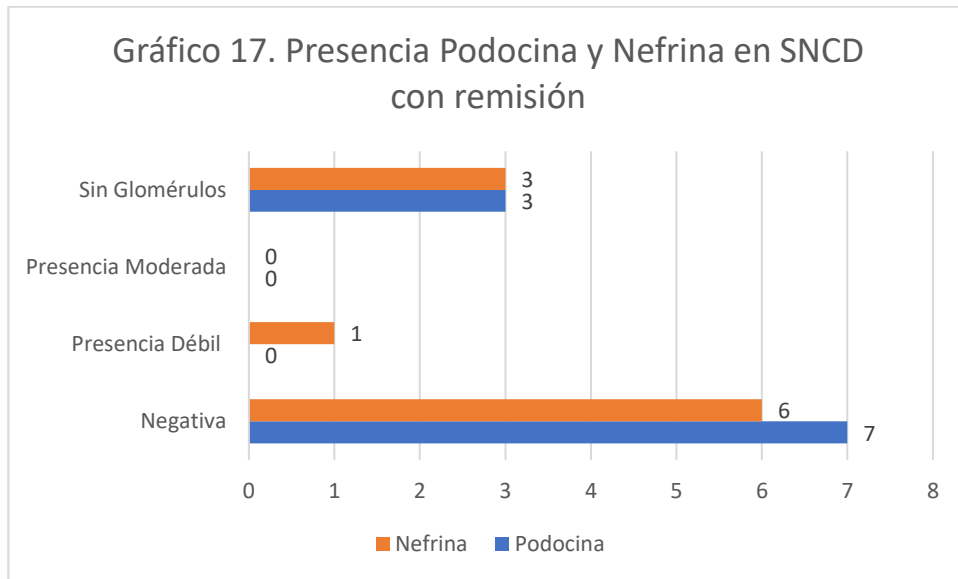
en cuanto a la evolución que presentaron los pacientes un 65%(26) se reportaron con remisión, 25%(10) sin remisión de los síntomas y un 10% (4) con evolución a enfermedad renal cronica terminal. (Gráfico 15)



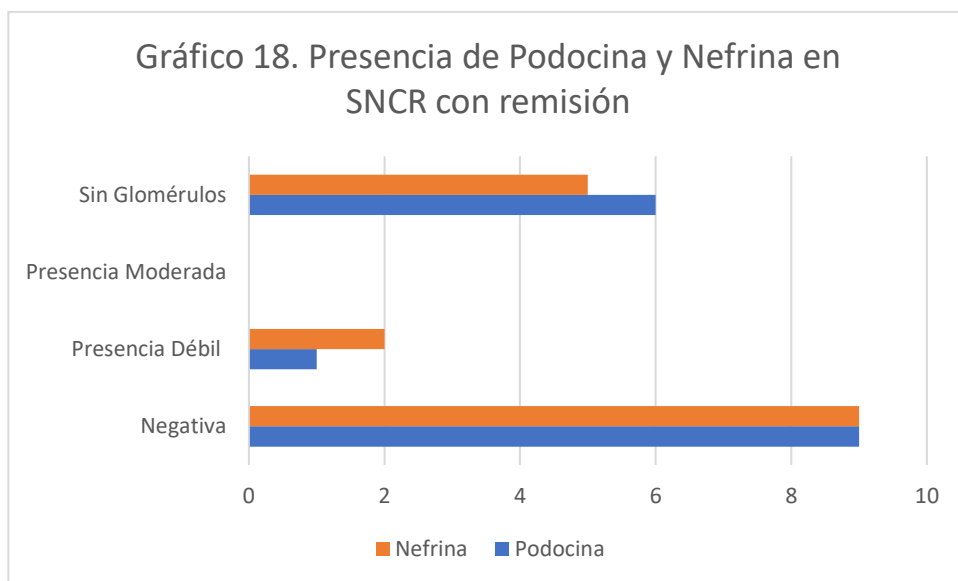
De los 26 pacientes que presentaron remisión con tratamiento ya sea con comportamiento corticodependiente o corticorresistente; 16 (61%) fueron negativos para podocina y 15 (57%) para nefrina.



Del total de pacientes con remisión, 10 presentaron un comportamiento corticodependiente, 7(70%) fueron negativos para podocina y 3(30%) se reportaron sin glomérulos. Para nefrina 6(60%) fueron negativos, 1(10%) débil y 3(30%) se reportaron sin glomérulos .(Gráfico 17)



En cuanto al grupo que presentó un comportamiento corticorresistente y tuvieron remisión con tratamiento fueron un total de 16, de los cuales se reportan 9(56%) de las muestras negativas para podocina, 1(6.3%) con presencia débil y 6(37%) muestras sin glomérulos. Para nefrina 9(56%) se reportan negativos, 2(12%) con presencia débil y 5(32%) sin glomérulos valorables. (Gráfico 18)



## XII. DISCUSIÓN

El Síndrome nefrótico es una entidad patológica común en la población pediátrica. La prevalencia a nivel mundial es de aproximadamente 16 casos por 100, 000 niños, preferentemente en la edad preescolar. En nuestro hospital, un 6.1% de la consulta de Nefrología pediátrica es por síndrome nefrótico con una prevalencia de 2.32 casos por cada 100 pacientes hospitalizados en el servicio.

Son diversas las teorías que tratan de explicar la etiopatogenia del síndrome nefrótico, causas moleculares hasta inmunológicas, todas llegando a un punto común que es la pérdida de la inestabilidad del podocito y del diafragma de hendidura, principalmente la estructura compuesta por las diferentes proteínas entre ellas la podocina y la nefrina, con la siguiente alteración de la pared capilar glomerular.

La evolución y tratamiento de los pacientes pediátricos puede variar de acuerdo con la edad de presentación y las características histopatológicas en la biopsia renal. Se menciona que aproximadamente el 85% de los niños menores de 6 años tienen un comportamiento corticosensible, del 15% restante, un 10% responderá al manejo con otras terapias y entre un 3-5% no responderá a ninguna de ellas.

En este estudio se consideraron el grupo etario, tratamiento, evolución y características anatomopatológicas de los pacientes con síndrome nefrótico con comportamiento corticodependiente o corticorresistente.

La prevalencia de sexo en nuestro grupo de estudio se encontró similar a la reportada en la bibliografía, un mayor número de casos en pacientes masculinos con una relación de 3:1. Por otra parte la relación respecto al grupo etario al momento del diagnóstico encontramos que como se describe en la literatura, se presentó más durante la etapa preescolar, seguido por adolescentes y por último en escolares, esto último muestra una diferencia a lo previamente referido en la bibliografía, donde los escolares son el 2do grupo etario con mayor número de casos. Tal como lo refirió el Dr. Patiño y Cols., en su estudio en 2009, cerca de un 93% de los niños con diagnóstico de síndrome nefrótico son escolares.

Respecto al comportamiento se conoce que más de un 85% de los niños con síndrome nefrótico tendrán una adecuada respuesta al tratamiento con esteroide y solo un 15% ameritarán otro tipo de medicamentos, pero también se sabe que el porcentaje de pacientes con corticodependencia o corticorresistencia va en aumento. Durante nuestro estudio solo un 35% presentaron corticodependencia y más del 50% corticorresistencia.

En relación al diagnóstico anatomopatológico que se reportó a la toma de biopsia durante el abordaje del síndrome nefrótico, encontramos datos que concuerdan con lo reportado previamente, en el que, la primera causa de síndrome nefrótico que no responde a tratamiento de primera línea con esteroide, es la glomeruloesclerosis focal y segmentaria en 65% de los pacientes seguida por la enfermedad de cambios mínimos en 32% y solo una glomerulonefritis mesangial en 5%.

Al realizar una relación entre el comportamiento y el diagnóstico anatomopatológico reportado, encontramos que más del 50% los pacientes tanto con glomeruloesclerosis focal y segmentaria (64%), cambios mínimos (62%) y con glomerulonefritis mesangial (100%) presentaron corticorresistencia. Ahora bien, no nos fue posible el determinar el tipo de variantes histológica en el caso de GEFS, ya que no es uno de los objetivos de nuestro estudio y debido a que no se realizó el reporte en muchas de las biopsias.

Dentro del tratamiento de primera línea aún, según ISKDC, siguen siendo los esteroides, prednisona en un esquema de 4 a 6 semanas con dosis diaria de 60mg/m<sup>2</sup>/SC o 2 mg/kg/día seguida de un descenso a dosis a 40mg/m<sup>2</sup>/SC o 1.5 mg/kg/día en días alternos por 4 a 6 semanas. Durante nuestro estudio en todos los casos se dio este esquema, únicamente encontramos diferencias en cuanto al tiempo de tratamiento previo a la biopsia renal, en el que, de los 40 pacientes, un 37% recibió 6 meses, un 32% por más de 12 meses, 20% por 9 meses y solo 10% por menos de 3 meses, explicado por el diferente comportamiento de cada paciente o el tiempo entre cada cita de valoración

En cuanto al tratamiento de segunda línea conocemos varios grupos dentro de los cuales se incluyen inmunosupresores, como ácido micofenólico o ciclosporina, ciclofosfamida o en últimos años el rituximab, aunque sin tan buenos resultados. En nuestro estudio al tratarse de pacientes con una mala o nula respuesta a los esteroides, recibieron en algún momento posterior a la toma de biopsia, uno e incluso varios medicamentos de segunda línea, entre estos la ciclofosfamida y ciclosporina.

En la membrana basal glomerular se encuentran extensiones citoplasmáticas que forman interdigitaciones y que se conocen como podocitos, es a través del espacio entre ellos, conocido como unión intercelular, diafragma de filtración o slit diafragma donde comienza el proceso de filtración. Esta estructura está formada por numerosas proteínas, dentro las principales se encuentran la podocina y la nefrina, motivo de nuestro estudio.

Sabemos que en el caso de síndrome nefrótico congénito existe una mutación en el gen NPHS1 que codifica para la nefrina, por lo que al existir una deficiencia de ésta se verá alterado el diafragma de filtración y por ende pérdida de proteínas. En el caso del síndrome primario o idiopático, se ha relacionado con alteraciones funcionales inducidas por un mecanismo inmunitario dependiente de los linfocitos T, lo que produce una pérdida de la carga electrostática de la barrera glomerular lo cual facilitaría el paso de las proteínas a través de ella.

Sin embargo, desconocemos si la presencia de estos cambios puede producir algún tipo de alteración de las proteínas en el diafragma de filtración, lo que explicaría el comportamiento de corticorresistencia o corticodependencia.

Conocemos por L.F Arias y cols., en su estudio sobre la expresión de podocina, nefrina y actinina-4 en el que se analizaron biopsias renales mediante inmunofluorescencia directa, que en pacientes con proteinuria en rango nefrótico la distribución de estas proteínas se encontraba alterada ocasionando una posible disfunción podocitaria, algunas biopsias expresaron una forma granular de las proteínas lo que indica que habían sufrido una redistribución en el citoplasma podocitaria.

En comparación, en nuestro estudio a las 40 biopsias incluidas se les realizó tinción inmunohistoquímica para nefrina y para podocina. Se observó que de las 40 muestras para podocina, 12(30%) no tenían glomérulos analizables y de las muestras para nefrina 9(22%), del resto, al menos poseían un glomérulo analizable.

En las muestras para podocina se reportaron resultados negativos en 25(63%) del total, lo que se traduce como ausencia de la podocina, una presencia débil en 2 muestras (5%) y solo en 1(2.5%) muestra una presencia moderada refiriéndose granular. En lo que

respecta a la nefrina, 27 (67%) se reportaron como negativos o con ausencia total de esta proteína y solo 4 (10%) con una presencia débil.

Por lo que podemos afirmar según nuestros resultados que sí hay una afectación importante en cuanto a la presencia de estas proteínas en pacientes con síndrome nefrótico corticodependiente o corticorresistente y que en comparación con los reportes de L.F Arias y cols. en los que se observó alteración de la distribución, en nuestra serie se reportó una ausencia total de estas.

Realizando una comparación entre la inmunohistoquímica y el comportamiento, tanto en el síndrome nefrótico corticorresistente como en el corticodependiente se observó que en más del 50% de las muestras analizables fueron negativas para podocina y nefrina, lo cual comprueba la ausencia de las proteínas en el capilar glomerular.

Por otra parte, la relación entre la lesión histopatológica y el resultado de la inmunohistoquímica reportó que en glomérulo esclerosis focal y segmentaria un 83% de las muestras fueron negativas para podocina y un 85% negativas para nefrina, por lo que podemos afirmar que al encontrar negativas estas proteínas en la inmunohistoquímica, se produce una alteración del capilar glomerular, ocasionando una posible esclerosis del mismo.

En la lesión de cambios mínimos, pese a como su propio nombre lo dice, se esperaba encontrar positividad de las proteínas sin embargo encontramos que si hubo alteración del capilar ya que en el 69%(9) de las muestras valorables fueron negativas para ambas proteínas.

En la glomerulonefritis mesangial, de las 2 muestras analizadas, 1(50%) fue negativa para podocina, la otra no contaba con glomérulos analizables y para nefrina 1 se reportó negativa y 1 con presencia débil.

Respecto a la evolución de los pacientes un 65%(26) se reportó en remisión de los síntomas, un 62%(16) con comportamiento corticorresistente y un 38%(10) corticodependiente, de estos, pese a la buena respuesta en más del 50% de los casos, tanto la podocina como la nefrina se reportaron negativas.

El total de 25%(10) sin remisión, 60%(6) con corticorresistencia y 40% corticodependencia.

Del 10% que tuvo evolución a enfermedad renal crónica, todos habían presentado corticorresistencia, por lo que pudiera ser un factor de mal pronóstico aquellos pacientes que presenten este comportamiento.

Sin embargo, los hallazgos encontrados en nuestro estudio, habría que tomarlos con reserva ya que la ausencia total de ambas proteínas podría ser incompatible con la vida y los pacientes no hubieran llegado a la edad escolar o adolescencia como se observa en el síndrome finlandés que se presenta en niños pequeños con proteinuria masiva desde el nacimiento. Pudiendo explicarse con la alteración de alguna otra proteína en el diafragma de hendidura, ya que existen otras proteínas que no se han estudiado.

También es importante considerar que el material histológico analizado no tenía las condiciones adecuadas para evaluar un número grande de glomérulos, en algunos casos solo se observó 1 glomérulo, lo cual la ausencia de las proteínas en 1 solo glomérulo debe interpretarse con precaución. No se sabe si las proteínas pudieran estar dañadas en diferentes zonas del riñón y la biopsia no siempre proporciona un material que permita al patólogo evaluar adecuadamente al riñón.

Finalmente, sería ideal que los resultados de la presencia o ausencia de nefrina y podocina se confirmaran en mejor material histológico, por lo que un estudio prospectivo garantizaría el tejido de biopsia y resultados mas fidedignos.

### XIII. CONCLUSIONES

- Al igual que en estudios pasados y lo referido en la bibliografía el síndrome nefrótico es más común durante la edad preescolar y con predilección por el sexo masculino con una relación de 3:1.
- El comportamiento predominante fue la corticorresistencia y la lesión histopatológica fue la glomeruloesclerosis focal y segmentaria, asociado a una menor respuesta a tratamiento.
- El esquema de Prednisona, según ISKDC, sigue siendo de primera línea en manejo del paciente pediátrico con síndrome nefrótico.
- La segunda línea de tratamiento, en nuestro hospital es la ciclofosfamida independientemente a la lesión histopatológica.
- Las proteínas podocina y nefrina en el capilar glomerular del paciente pediátrico con síndrome nefrótico de comportamiento corticodependiente y corticorresistente se encuentran ausentes o con escasa presencia.
- En nuestra población la lesión histopatológica de glomeruloesclerosis se asoció a una peor respuesta a tratamiento, a ausencia de la podocina y nefrina en más de 80% y peor pronóstico a largo plazo.



#### XIV. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Davin JC, Rutjes NW. Nephrotic Syndrome in Children: From Bench to Treatment. *Int J Nephrol*. 2011;372304.
2. Rheault M, Michelle N. Nephrotic Syndrome: Updates and Approaches to Treatment. *Current Treatment Options in Pediatrics*. 2016; 2 (2) 94 – 103.
3. Prince TA. Nephrotic Syndrome. St. Luke's University Health Network. 2015; 36 (2).
4. Trnka P, Megan W, William R. A retrospective review of telehealth services for children referred to a paediatric nephrologist. *BMC Nephrology*. 2015; 16(1)125.
5. Penna ||, Neves PDMDM, Cobô EDC, Silva MV, Castellano LR, Corrêa RRM, et al. An overview of molecular mechanism of nephrotic syndrome. *Int J Nephrol*. 2012; 2012.
6. Grupo de trabajo de la guía de práctica clínica de diagnóstico y tratamiento del síndrome nefrótico primario en niños. *Guía de práctica clínica IMSS. Diagnóstico y tratamiento del síndrome nefrótico primario en niños*. Evidencias y Recomendaciones Catálogo Maestro de Guías de Práctica Clínica: IMSS-271-132013. 2013. [http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/imss\\_271\\_13\\_sxnefroticoprimarioenninos/imss\\_271\\_13\\_sxnefroticoprimarioen\\_ninosger.pdf](http://www.cenetec.salud.gob.mx/descargas/gpc/CatalogoMaestro/imss_271_13_sxnefroticoprimarioenninos/imss_271_13_sxnefroticoprimarioen_ninosger.pdf) (último acceso 19.06.16)
7. Álvarez DS. Complicaciones agudas del síndrome nefrótico, Hospital Pediátrico Docente "William Soler", Ciudad de La Habana. *Rev cubana Pediatr* 1999; 71(4):245-53.
8. Araya C, Diaz L, Wasserfall C. T regulatory cell function in idiopathic minimal lesion nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2009; September; 24(9): 1691–1698.
9. Cil O, Besbas N, Duzova AR. Topaloglu et al. Genetic abnormalities and prognosis in patients with congenital and infantile nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrology*. 2015; 30 (8) 1279 – 1287.

10. Chernin G, Heeringa S, Vega-Warner V. Adequate use of allele frequencies in Hispanics—a problem elucidated in nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrolgy*. 2010 feb; 25 (2): 261 – 266.
11. Beltcheva O, Martin P, Lenkkeri U, Tryggvason K, Gene N. Mutation Spectrum in the Nephtrin Gene (NPHS1) in Congenital Nephrotic Syndrome. 2001; 373:368–73.
12. Guaragna MS, Lutaif ACGB, Piveta CSC, Souza ML, de Souza SR, Henriques TB, et al. NPHS2 mutations account for only 15% of nephrotic syndrome cases. *BMC Med Genet* [Internet]. *BMC Medical Genetics*; 2015; 16:88.
13. Bertelli R, Trivelli A, Magnasco A, Cioni M, Bodria M, Carrea A, et al. Failure of regulation results in an amplified oxidation burst by neutrophils in children with primary nephrotic syndrome. *Clin Exp Immunol*. 2010; 161(1):151–8.
14. Arias LF, Vieco BE, Arteta AA. Expresión de nefrina, podocina y  $\beta$ -actinina-4 en tejido renal de pacientes con proteinuria. *Nefrología* 2009; 29(6):569-575.
15. Cara-fuentes G, Clapp WL, Johnson RJ, Garin EH. Pathogenesis of proteinuria in idiopathic minimal change disease: molecular mechanisms. *Pediatr Nephrol* [Internet]. *Pediatric Nephrology*; 2016; Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s00467-016-3379-4>.
16. Sajid S, Shah H, Akhtar N. Histopathological patterns in pediatric idiopathic steroid resistant nephrotic syndrome. *J Ayub Med Coll Abbott abad* 2015; 27(3).
17. McCaffrey J, Lennon R, Webb NJA. The non-immunosuppressive management of childhood nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2015.
18. Román E. Síndrome nefrótico pediátrico. *Protoc diagn ter pediatr*. 2014; 1:283-301.
19. Joshi S, Andersen R, Jespersen B, Rittig S. Genetics of Steroid Resistant Nephrotic Syndrome: A review of mutation spectrum and suggested approach for genetic testing. *Department of Clinical Medicine - The Department of Pediatrics*. 2013; 102 (9) 844-856.
20. Wang J, Mao J. The etiology of congenital nephrotic syndrome: current status and challenges. *World J Pediatr*. 2016; 12 (2) 149 -158.

21. Em H, Ns W, Jc C. Corticosteroids for the initial episode of steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2015; 30:1043–1046.
22. Zhao W, Elie V, Baudouin V. Population pharmacokinetics and Bayesian estimator of mycophenolic acid in children with idiopathic nephrotic syndrome. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2010; 69 (4) 358-366.
23. Khurana M, Trauma A, Aivado M. Urine proteomic profiling of pediatric nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol*. 2006; 21 (9) 1257 - 1265.
24. Trautmann A, Bodria M, Ozaltin F. Spectrum of Steroid-Resistant and Congenital Nephrotic Syndrome in Children: The PodoNet Registry Cohort. *Clin J Am Soc. Nephrol*. 2015; 10 (4)592-600.
25. Gibson K, Glenn D, Ferris M. Back to the Future: Therapies for Idiopathic Nephrotic Syndrome. *Blood purification*. 2015; 39 (1-3) 105-109.
26. Ravani P, Rossi R, Bonanni A. Rituximab in Children with Steroid-Dependent Nephrotic Syndrome: A Multicenter, Open-Label, Noninferiority, Randomized Controlled Trial. *J Am Soc. Nephrol*. 2015; 26, 1-8.
27. Hodson E, Hahn E, Craig J. Corticosteroid therapy for nephrotic syndrome in children (Review). *Pediatric Nephrology*. 2015; 30 (7) 1043-1046.
28. Bouchireb K, Boyer O, Gribouval O. NPHS2 Mutations in Steroid-Resistant Nephrotic Syndrome: A Mutation Update and the Associated Phenotypic Spectrum. *Human Mutation*. 2014; 35 (2) 178-186.
29. Heeringa S, Vlangos C, Chernin G. Thirteen novel NPHS1 mutations in a large cohort of children with congenital nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant*. 2008; 23 (11) 3527–3533.
30. Hildebrandt F, Heeringa S. Specific podocin mutations determine age of onset of nephrotic syndrome all the way into adult life. *Kidney International*. 2009; 75 (7) 669 – 671.

31. Ríos M, Patiño G. Características del síndrome nefrótico primario en edades no habituales, en un hospital pediátrico de tercer nivel en Guadalajara, Jalisco, México, Bol Med Hosp Infant Mex. 2011;68 (4): 271-277.

XV. ANEXOS

Anexo I. Hoja de recolección de datos

---

DEPARTAMENTO DE EDUCACIÓN E INVESTIGACIÓN EN SALUD  
CENTRO MÉDICO NACIONAL DE OCCIDENTE  
HOSPITAL DE PEDIATRIA  
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
DELEGACIÓN ESTATAL JALISCO

HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS

NUMERO \_\_\_\_\_

1. FOLIO DE BIOPSIA: \_\_\_\_\_

2. FECHA DE BIOPSIA: \_\_\_\_\_

3. EDAD DEL PACIENTE AL MOMENTO DE LA BIOPSIA RENAL: \_\_\_\_\_

4. EDAD AL MOMENTO DEL DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME NEFRÓTICO: \_\_\_\_\_

5. SEXO            A) FEMENINO            B) MASCULINO

6. GRUPO ETARIO  
A) RECIEN NACIDO    B) LACTANTE    C) ESCOLAR    D) PREESCOLAR    E) ADOLESCENTE

7. TIPO DE SINDROME NEFROTICO            A) SNCR            B) SNCD

8. TIEMPO DE TRATAMIENTO ESTEROIDEO  
A) 3 MESES    B) 6 MESES    C) 9 MESES    D) 12 MESES    E) MAS DE 12 MESES

9. TIPO DE TRATAMIENTO  
A) ESTEROIDE            B) CICLOFOSFAMIDA            C) ÁCIDO MICOFENOLICO  
D) CICLOSPORINA    E) TRACROLIMUS            F) RITUXIMAB  
G) OTROS.

10. DETECCIÓN DE PODOCINA  
A) PRESENTE            B) AUSENTE

11. DETECCIÓN DE NEFRINA  
A) PRESENTE            B) AUSENTE

12. DISTRIBUCIÓN DE PODOCINA  
A) NORMAL            B) ANORMAL

---

14.DISTRIBUCIÓN DE NEFRINA

A) NORMAL    B) ANORMAL

15.LESIÓN HISTOPATOLÓGICA

- A) ENFERMEDAD DE CAMBIOS MÍNIMOS
  - B) GLOMERULOESCLEROSIS FOCAL Y SEGMENTARIA.
  - C) GLOMERULONEFRITIS MEMBRANOPROLIFERATIVA
  - D) GLOMERULONEFRITIS MEMBRANOSA
  - E) PROLIFERACIÓN MESANGIAL DIFUSA
-

## Anexo 2. Consentimiento informado



### INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y POLÍTICAS DE SALUD COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD

#### Carta de consentimiento informado para participación en protocolos de investigación (padres o representantes legales de niños o personas con discapacidad)

Guadalajara Jalisco Fecha: \_\_\_\_\_ Número de registro Institucional: \_\_\_\_\_

Anteponiendo un saludo, me es grato dirigirme a usted con la finalidad de hacerle una invitación a participar en un estudio que llevaré a cabo con el título: *“PREVALENCIA DE POSITIVIDAD DE LAS PROTEÍNAS PODOCINA Y NEFRINA EN PACIENTES CON SÍNDROME NEFRÓTICO CORTICORRESISTENTE Y CORTICODEPENDIENTE”*

Justificación y objetivo del estudio: reportar las posibles alteraciones renales de la biopsia renal, que puedan estar relacionadas con el comportamiento, evolución y pronóstico de la enfermedad de su hijo.

Procedimientos: Si usted acepta, se recabará la muestra de parafina en el área de patología de la biopsia de riñón ya tomada en años previos a su hijo y se le harán nuevos estudios con la finalidad de revelar posibles cambios que puedan estar relacionados con la evolución de la enfermedad de su hijo.

Posibles riesgos y molestias: No tiene ningún tipo de riesgo o molestia, ya que se usará la muestra que ya se tomo en años previos como parte del abordaje diagnóstico.

Beneficios del consentimiento: Se realizará un segundo análisis de la muestra ya tomada al paciente y así podremos saber la causa de la enfermedad de su hijo y posible pronóstico.

En caso de no aceptar el presente consentimiento, se retirará y se regresará la muestra al área de patología, en cualquier momento del estudio.

Privacidad y confidencialidad: Los datos obtenidos serán accesibles exclusivamente por el equipo médico a cargo de la presente investigación y por los tutores legales del paciente.

Declaración de consentimiento:

Después de haber leído y habiéndome explicado todas mis dudas acerca de este estudio:

No acepto que mi familiar o representado participe en el estudio.

Si acepto que mi familiar o representado participe y que se tome la muestra solo para este estudio.

Si acepto que mi familiar o representado participe y que se tome la muestra para este estudios y estudios futuros, conservando su sangre hasta por 5 años tras lo cual se destruirá la misma.

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas con el estudio podrá dirigirse a:

**Investigador responsable:** Doctora Santa Ramírez Godínez

Matricula:8470723 Correo electrónico: santanefrol@yahoo.es

**Colaboradores** Doctora Georgina Martínez Gómez Matrícula: 98295363

Correo electrónico: drginamtzg@outlook.com

Dirección: Belisario Domínguez #735, Colonia Independencia. Guadalajara, Jalisco, México.

Teléfono 3668-3000 ext. 31720

**Investigador asociado** Doctor Juan Carlos Barrera de León.

Jefe de división de Educación en Salud. Matrícula:10147039

Dirección: Belisario Domínguez #735, Colonia Independencia. Guadalajara, Jalisco, México.

Correo electrónico: jcbarrer@hotmail.com, Teléfono 3668-3000 ext. 3172.

**Asesores:** Doctora en Ciencias Caridad Áurea Leal Cortés. División de Investigación Quirúrgica.

Matricula: 9298223 Centro de Investigación Biomédica de Occidente.

Instituto Mexicano del Seguro Social. Dirección: Sierra Mojada 800, Col. Independencia.

Correo electrónico: lealc36@yahoo.com.mx, Teléfono y fax: 3617-7385.

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comité de Ética de Investigación en Salud del CNIC del IMSS: Avenida Cuauhtémoc 330 4° piso Bloque "B" de la Unidad de Congresos, Colonia Doctores. México, D.F., CP 06720. Teléfono (55) 56 27 69 00 extensión 21230, correo electrónico: [comité.eticainv@imss.gob.mx](mailto:comité.eticainv@imss.gob.mx)

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma de ambos padres o tutores o representante legal

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma de quien obtiene el consentimiento

\_\_\_\_\_  
Testigo 1

\_\_\_\_\_  
Testigo 2



### Anexo 3. Carta de asentimiento



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN Y POLÍTICAS DE SALUD  
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD

**Carta de asentimiento en menores de edad (8 a 17 años)**

Guadalajara Jalisco, fecha: \_\_\_\_\_ Número de registro institucional \_\_\_\_\_

Hola, mi nombre es Georgina Martínez Gómez y trabajo en el Instituto Mexicano del Seguro Social. Actualmente estoy realizando un estudio para conocer acerca tu enfermedad y quiero pedirte que me apoyes. El nombre del estudio es:

**“PREVALENCIA DE POSITIVIDAD DE LAS PROTEÍNAS PODOCINA Y NEFRINA EN PACIENTES CON SÍNDROME NEFRÓTICO CORTICORRESISTENTE Y CORTICODEPENDIENTE”**

Objetivo del estudio y procedimientos: El objetivo principal es reportar alteraciones en biopsia renal, implicadas en el pronóstico y evolución de tu enfermedad (síndrome nefrótico) y con esto poder ofrecer tratamientos que podrían mejorar el pronóstico.

Para poder participar en el estudio necesito que me digas si podemos usar una muestra renal (biopsia de tu riñón que se tomó años anteriores) para analizarla otra vez.

Tu participación en el estudio es voluntaria, es decir, aun cuando tu papá o mamá hayan dicho que podemos utilizar la muestra, es tu decisión si participas o no. También es importante que sepas que, si en algún momento ya no quieres continuar, no habrá ningún problema y dejaras de participar.

En todo momento te estaremos informando sobre los resultados de la muestra que te tomamos para que pueda mejorar tu tratamiento. Toda la información que obtengamos de tu muestra es confidencial, únicamente conocerán los resultados el equipo médico a cargo de ti y tus padres.

Si aceptas participar, te pido que por favor pongas una (x) en el cuadrado de abajo que dice "Sí quiero participar" y escribe tu nombre.

Si quiero participar

No quiero participar

\_\_\_\_\_  
Nombre y firma de la persona que obtiene el asentimiento:

Fecha: \_\_\_\_\_

Clave: 2810-009-014

**Investigador responsable:** Doctora Santa Ramírez Godínez

Matricula:8470723 Correo electrónico: santanefrol@yahoo.es

**Colaboradores** Doctora Georgina Martínez Gómez Matrícula: 98295363

Correo electrónico: drginamtzg@outlook.com

Dirección: Belisario Domínguez #735, Colonia Independencia. Guadalajara, Jalisco, México.

Teléfono 3668-3000 ext. 31720

**Investigador asociado** Doctor Juan Carlos Barrera de León.

Jefe de división de Educación en Salud. Matrícula:10147039

Dirección: Belisario Domínguez #735, Colonia Independencia. Guadalajara, Jalisco, México.

Correo electrónico: jcbarrer@hotmail.com, Teléfono 3668-3000 ext. 3172.

**Asesores:** Doctora En Ciencias Caridad Áurea Leal Cortés. División de Investigación Quirúrgica. Matrícula: 9298223

Centro de Investigación Biomédica de Occidente.

Instituto Mexicano del Seguro Social. Dirección: Sierra Mojada 800, Col. Independencia.

Correo electrónico: lealc36@yahoo.com.mx, Teléfono y fax: 3617-7385.

Anexo 4. Solicitud de Patología



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL**

**Dirección de Prestación Médicas.**

**Coordinación de Unidades Médicas de Alta Especialidad.**

**U.M.A.E. Hospital de Especialidades, C.M.N.O.**

**"Lic. Ignacio García Téllez"**

**Dirección General de la U.M.A.E**

**Depto. de Anatomía Patológica**

No. De Folio: \_\_\_\_\_

**SOLICITUD DE LAMINILLAS Y BLOQUES DE PARAFINA.**

Guadalajara, Jal., a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ del \_\_\_\_\_.

**DATOS DEL SOLICITANTE:** (Sólo se proporcionará información al propio paciente o familiares directos previa identificación y autorización del mismo).

NOMBRE: \_\_\_\_\_

DOMICILIO: \_\_\_\_\_

CIUDAD: \_\_\_\_\_

TELEFONO: \_\_\_\_\_

Estimado Doctor:

Solicito atentamente me sea proporcionado laminillas y bloques de parafina a nombre de:

Nombre del paciente: \_\_\_\_\_

Número de afiliación: \_\_\_\_\_

Servicio tratante: \_\_\_\_\_

Lo anterior con la finalidad de: \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Agradezco de antemano sus finas atenciones, quedo de usted, su seguro(a) servidor(a).

\_\_\_\_\_  
FIRMA DEL SOLICITANTE



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL  
DIRECCIÓN DE PRESTACIONES MÉDICAS



**Dictamen de Aprobado**

Comité Local de Investigación en Salud 1302.  
HOSPITAL DE PEDIATRIA, CENTRO MEDICO NACIONAL DE OCCIDENTE LIC. IGNACIO GARCIA TELLEZ,  
GUADALAJARA JALISCO

Registro COFEPRIS 17 CI 14 039 045  
Registro CONBIOÉTICA CONBIOETICA 14 CEI 001 2018022

FECHA Lunes, 23 de marzo de 2020

M.E. Santa Ramirez Godinez

**PRESENTE**

Tengo el agrado de notificarle, que el protocolo de investigación con título "PREVALENCIA DE POSITIVIDAD DE LAS PROTEÍNAS PODOCINA Y NEFRINA EN PACIENTES CON SÍNDROME NEFRÓTICO CORTICORRESISTENTE Y CORTICODEPENDIENTE" que sometió a consideración para evaluación de este Comité, de acuerdo con las recomendaciones de sus integrantes y de los revisores, cumple con la calidad metodológica y los requerimientos de ética y de investigación, por lo que el dictamen es **A P R O B A D O**.

Número de Registro Institucional  
R-2020-1302-020

De acuerdo a la normativa vigente, deberá presentar en junio de cada año un informe de seguimiento técnico acerca del desarrollo del protocolo a su cargo. Este dictamen tiene vigencia de un año, por lo que en caso de ser necesario, requerirá solicitar la reaprobación del Comité de Ética en Investigación, al término de la vigencia del mismo.

ATENTAMENTE

M.E. Ruth Alejandrina Castilla Sánchez  
Presidenta del Comité Local de Investigación en Salud No. 1302

Imprimir

**IMSS**  
SECRETARÍA DE SALUD