



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

Determinación de MCP-1 y factor de
Von Willebrand en niños con
vasculitis por IgA (Púrpura de
Henoch-Schönlein) con y sin
afectación renal como probables
marcadores de actividad de la
enfermedad

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN :

PEDIATRÍA

P R E S E N T A:

Dra. Alethia Paulina Monserrat
Guzmán Núñez

TUTORA:

Dra. Mara Medeiros Domínguez



CIUDAD DE MÉXICO

FEBRERO 2022



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.

“Determinación de MCP-1 y factor de Von Willebrand en niños con vasculitis por IgA (Púrpura de Henoch-Shönlein) con y sin afectación renal como probables marcadores de actividad de la enfermedad”

A mis padres

Dr. Sarbelio Moreno Espinosa
Director de Enseñanza y Desarrollo Académico



Dra. Mara Medeiros Domingo
Tutora de Investigación

INDICE

A mis padres...	3
Planteamiento del problema	5
Justificación	5
Pregunta de investigación	5
Hipótesis	5
Objetivo	6
Metodología	6
Descripción de variables	7
Herramientas estadísticas	10
Resultados	11
Discusión	14
Limitaciones del estudio	15
Conclusiones	15
Cronograma de actividades	16
Referencias	16
ANEXOS	20

ÍNDICE

Marco teórico	4
Planteamiento del problema	8
Justificación	8
Pregunta de investigación	8
Hipótesis	9
Objetivos	9
Metodología	9
Descripción de variables	10
Análisis estadístico	13
Resultados	14
Discusión	17
Limitaciones del estudio	18
Conclusiones	18
Cronograma de actividades	19
Referencias	19
Anexos	23

MARCO TEÓRICO

Vasculitis es el término general que se refiere a las condiciones clínicas y los cambios en la pared de los vasos sanguíneos como consecuencia de un proceso inflamatorio. La presentación clínica depende de la gravedad de la enfermedad, así como del tamaño y extensión de la vasculatura afectada [1,2]. Las vasculitis son poco frecuentes en la población pediátrica, evidenciando una incidencia anual de 53/100,000 niños menores de 17 años [2,3], sin embargo, estas cifras representan el panorama mundial de esta enfermedad, ya que en México no se han reportado datos epidemiológicos de la misma.

En 1990, el Colegio Americano de Reumatología (ACR) fue el primero que intentó desarrollar criterios de clasificación para las vasculitis en adultos, incluyendo la que entonces se conocía como Púrpura de Henoch-Shönlein (HSP); la presencia de dos o más de un total de cuatro criterios (púrpura palpable, edad de inicio <20 años, dolor abdominal agudo y biopsia de piel mostrando granulocitos en arteriolas o vénulas pequeñas) demostraban una sensibilidad y especificidad del 87.1% y 87.7%, respectivamente, sin embargo, nunca fueron validados en la población pediátrica [3,4]. Por esta razón, en el año 2005, la Liga Europea Contra el Reumatismo (EULAR) junto con la Sociedad Europea de Reumatología Pediátrica (PreS), propusieron nuevos criterios de clasificación para las vasculitis en niños [5,6], estos fueron posteriormente validados por la Organización Internacional de Ensayos Clínicos en Reumatología Pediátrica (PRINTO) [6,7]. Los criterios de EULAR/PreS/PRINTO se basan en la presencia de diversas características clínicas; en el caso de IgAV se considera indispensable la presencia de rash purpúrico junto con signos y síntomas adicionales (**Gráfico 1**) alcanzando una sensibilidad (100%) y especificidad (87%) excelentes para diferenciarla de otros tipos de vasculitis [5,7].

Criterio	Descripción
Indispensable	Púrpura o petequias predominantemente en extremidades inferiores
Al menos 1 de 4	(1)Inicio agudo de dolor abdominal tipo cólico (puede incluir invaginación intestinal y hemorragia gastrointestinal). (2)Histología mostrando vasculitis leucocitoclástica o glomerulonefritis proliferativa con depósitos de IgA. (3)Inicio agudo de artralgias o artritis. (4)Hematuria o proteinuria.

Gráfico 1 | Criterios de clasificación para IgAV (EULAR/PreS/PRINTO).

Durante la conferencia Internacional de Chapel Hill (CHCC) en el 2012 se decidió reemplazar el epónimo “Púrpura de Henoch-Shönlein (HSP)” con Vasculitis por Inmunoglobulina A (IgAV) con base en la evidencia existente sobre el hallazgo histopatológico más característico de esta condición que consiste en el depósito de IgA anormal en la pared de

los vasos [3,8]. A pesar de los avances en la nomenclatura, clasificación y manifestaciones clínicas de la IgAV, aún no se conoce la causa precisa de esta enfermedad. Sin embargo, se ha evidenciado la presencia de un defecto en la glucosilación de Inmunoglobulina A que condiciona una respuesta humoral autoinmune desencadenando el proceso inflamatorio característico [9-11]; también se han asociado factores ambientales como el clima frío en las temporadas de otoño e invierno que apoyan la teoría de etiología infecciosa, principalmente viral, como desencadenantes de la enfermedad [8,9,12].

La IgAV afecta a los vasos pequeños y es la vasculitis más frecuente en la edad pediátrica con una incidencia anual de 13-20/100, 000 niños menores de 17 años [3,13,14]. El 90% de los pacientes con diagnóstico de IgAV son menores de 10 años, presentando un pico de edad de inicio de entre 4 y 6 años con predominio en el sexo masculino (1.5: 1) [1,3,14]; asimismo, presenta variaciones étnicas siendo más común en la raza blanca en un 86%, seguida de la población asiática (10%) y solo 3% en la raza negra [14].

La presentación clínica clásica incluye la tetrada de púrpura palpable, artralgias o artritis no erosiva, afectación gastrointestinal y renal [1,2]. La afectación renal se presenta en el 40-50% de los pacientes con esta enfermedad [3,12], de los cuales la mayoría se autolimita y resuelve de manera espontánea, sin embargo, entre el 1.8 y 15% evolucionará hacia enfermedad renal crónica [3]. El desarrollo de nefropatía se asocia a la edad de inicio de la enfermedad, siendo significativamente más frecuente en mayores de 10 años y menos frecuente en niños menores de cinco años [12]. Esta afectación suele ser asintomática por lo que se requiere monitorización continua de la función renal en estos pacientes desde el diagnóstico; las manifestaciones renales rara vez preceden a las lesiones dérmicas, pero es frecuente que se presenten meses después de que las lesiones en piel hayan desaparecido [12]; el hallazgo más común es la hematuria microscópica seguida de proteinuria sin edema, sin embargo, puede presentarse también nefritis asociada a síndrome nefrótico [2,12,15,16].

Aunque las manifestaciones clínicas suelen ser suficientes para realizar el diagnóstico, existen estudios complementarios que ayudan a orientar el manejo y evaluar la afectación renal, tales como: marcadores sistémicos de inflamación (velocidad de sedimentación eritrocitaria, proteína C reactiva), pruebas de función renal y examen general de orina (en búsqueda de hematuria o proteinuria para la detección oportuna de nefritis) [9,16,17]; de ser necesario, puede requerirse biopsia de la piel afectada (vasculitis leucocitoclástica con depósitos de complejos inmunes) o renal (incluyendo microscopía de luz, inmunofluorescencia y microscopía electrónica) [18].

La afectación renal es la manifestación más importante de IgAV, ya que condiciona una elevada morbilidad y mortalidad a largo plazo, determinando así el pronóstico de la enfermedad [17,19]. Por esta razón, resulta imperativo realizar seguimiento de la función renal por al menos 6 meses después del episodio agudo, incluso si el urianálisis inicial es normal. La biopsia renal está indicada en los siguientes casos: proteinuria grave (>250 mg/mmol por al menos 4 semanas), proteinuria persistente moderada (100-250 mg/mmol) o disminución en la tasa de filtración glomerular [3,16,20].

BIOMARCADORES

Un biomarcador es una característica clínica que se puede medir de forma objetiva y se puede utilizar como indicador de un proceso biológico normal, un proceso patológico o respuesta clínica a una intervención farmacológica [21]. Así, los biomarcadores tienen diversas aplicaciones que resultan útiles en el diagnóstico, seguimiento, tratamiento y pronóstico de una enfermedad.

Para que un biomarcador funcione, este debe ser preciso, objetivo y medirse de forma no invasiva, así como mostrar dirección y magnitud; debe tener alta sensibilidad, permitiendo una detección temprana sin que exista sobreposición de los resultados entre los sujetos sanos y los que padecen la enfermedad. Asimismo, debe poseer especificidad, siendo regulado de manera positiva o negativa en una enfermedad determinada o en grupos de enfermedades de características etiopatogénicas similares y no ser modificado por condiciones comórbidas; la concentración debe variar rápidamente en respuesta a un tratamiento efectivo conocido; debe apoyar en el entendimiento de la fisiopatología y en la estratificación de la gravedad del padecimiento y tener valor pronóstico. Otro aspecto importante es el costo-beneficio en el uso rutinario del marcador en la práctica clínica.

La proteína 1 quimioatrayente de monocitos (MCP-1) es miembro de la familia de quimiocinas. Las quimiocinas (citocinas quimioatrayentes) son proteínas de unión a heparina estructuralmente clasificadas en cuatro subfamilias (C-X-C, C-C, C-X3-C y C) con base en el número y localización de los residuos de cisteína y N-terminal de la molécula [29,30]. Las quimiocinas también pueden ser divididas en dos familias según su función: inflamatorias y homeostáticas. La MCP-1 pertenece a la familia de quimiocinas inflamatorias y es un potente quimioatrayente de monocitos [31]; esta participa a diferentes niveles en el proceso inflamatorio.

En el riñón, las células que producen MCP-1 son las células tubulares, células de músculo liso, células mesangiales, podocitos y células infiltradas como eosinófilos y mastocitos. En las células epiteliales tubulares, MCP-1 estimula la secreción de IL-6 y la síntesis de ICAM-1, además, en los podocitos, la MCP-1 unido a su receptor CCR2, induce la migración de podocitos y reduce tanto el RNA mensajero como la expresión de proteínas en la nefrona [32]. Este escenario es la base para el entendimiento del papel que juega la MCP-1 en la enfermedad renal.

Kulkarni y col.[33] detectaron un incremento en la expresión de MCP-1 en el tejido renal de pacientes con nefritis lúpica activa, principalmente en los túbulos renales y las células epiteliales de los capilares peritubulares.

Medeiros y col. [34] en nuestra institución, midieron la concentración de MCP-1 en la sangre y orina de 17 niños con diagnóstico de Lupus Eritematoso Sistémico (LES), encontrando concentraciones urinarias elevadas en comparación con niños sanos.

Estudios recientes han demostrado que la infiltración de monocitos/macrófagos en el glomérulo y el intersticio renal es clave en la patogénesis de la vasculitis a nivel renal. El número de monocitos/macrófagos fueron significativamente relacionados con el grado de aumento de matriz mesangial y de fibrosis intersticial [30,35].

Tam y col. [36] concluyeron que la medición de niveles de MCP-1 en orina es efectivo en la identificación del daño renal en adultos con vasculitis asociada a ANCA, ya que estos no se superponen entre los pacientes con vasculitis renal activa en comparación con aquellos sin actividad de la misma, asimismo, encontraron que la reducción de niveles urinarios de MCP-1 es un marcador temprano de respuesta al tratamiento más útil que la reducción de proteinuria, la creatinina sérica o la resolución de hematuria.

Wasilewska y col. [37] encontraron niveles aumentados de MCP-1 urinarios en pacientes pediátricos con proteinuria persistente debido a nefropatía por IgA.

Ghobrial y col. [38] comprobaron la utilidad de MCP-1 urinaria en el diagnóstico temprano de nefritis lúpica y el monitoreo de la gravedad en el involucramiento renal en niños.

Por último, Fuentes y col. [39] mostraron que los niños con nefritis por IgAV (antes HSP) tuvieron niveles urinarios aumentados de MCP-1/creatinina; concluyeron que la MCP-1 urinaria puede utilizarse como marcador no invasivo tanto para el diagnóstico temprano de nefritis por IgAV como para la evaluación de la gravedad del daño renal.

El factor de Von Willebrand (vWF) es una proteína plasmática que se sintetiza principalmente en los megacariocitos y en las células endoteliales y participa en la agregación y adhesión plaquetaria. La liberación de antígeno vWF se incrementa cuando existe lesión o inflamación del endotelio vascular [40].

Las concentraciones elevadas de antígeno vWF se identificaron en múltiples vasculitis sistémicas, incluyendo la enfermedad de Kawasaki, vasculitis por IgA y en la granulomatosis con poliangiitis [41-44]. Se encontraron concentraciones elevadas de antígeno del factor de Von Willebrand en pacientes con vasculitis activa en comparación con los pacientes en remisión y controles sanos [45-47].

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD DE VASCULITIS EN LA POBLACIÓN PEDIÁTRICA

En el año 2012 se publicó una escala denominada Puntuación de Actividad de Vasculitis Pediátrica (*Paediatric Vasculitis Activity Score, PVAS*), esta escala fue diseñada en consenso con la Sociedad Europea de Reumatología Pediátrica (PreS) y la Alianza de Investigación en Reumatología y de Artritis Juvenil de Norteamérica (CARRA) y funciona como herramienta clínica para determinar, como su nombre lo dice, la actividad de las vasculitis en los pacientes pediátricos. PVAS incluye una lista de 66 manifestaciones de vasculitis sistémica, divididas en nueve aparatos y sistemas diferentes (manifestaciones generales, cutáneas,

membranas mucosas y ojos, otorrinolaringológicas, torácicas, cardiovasculares, abdominales, renales y del sistema nervioso central); cada manifestación puede evaluarse como nueva aparición o empeoramiento de la misma o bien ausencia. Los pacientes con vasculitis activa obtuvieron cualquier puntuación mayor a cero para cada apartado de la escala PVAS de recién aparición o empeoramiento durante las cuatro semanas previas y para los cuales se descartaron otras probables causas como infección. En contraste, los pacientes sin actividad de la enfermedad obtuvieron un PVAS de 0/66 apartados^[48].

Actualmente no existe una herramienta clínica para medir específicamente la actividad de la IgAV, por lo que la escala PVAS fue la herramienta utilizada como metodología para determinar la actividad de la vasculitis por IgA (IgAV) en el presente estudio (**Anexo 1**).

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Las vasculitis por IgA condicionan comúnmente una afectación a nivel renal, lo cual eleva las cifras de morbilidad y mortalidad en estos pacientes. Actualmente existen marcadores renales (creatinina, proteinuria y hematuria) que se manifiestan alterados una vez que existe lesión renal establecida. La biopsia renal permite identificar los cambios estructurales derivados de la progresión del daño, pero resulta un método invasivo. No existen biomarcadores que permitan detectar de manera precoz la actividad de la enfermedad y el involucro renal de esta, lo que condiciona escasas oportunidades para prevenir la progresión del daño.

JUSTIFICACIÓN

Actualmente, no existe información en los niños sobre la utilidad de la detección de biomarcadores inflamatorios sanguíneos y urinarios con el objeto de determinar la presencia de daño del parénquima renal y de la gravedad del mismo. Los biomarcadores a determinar fueron MCP-1 y el factor de Von Willebrand en orina y sangre, respectivamente, como probables marcadores de la actividad sistémica y renal de la vasculitis por IgA.

El presente estudio corresponde a una investigación preliminar de sondeo pretendiendo obtener información inicial sobre la concentración de los biomarcadores mencionados en pacientes con IgAV, el tipo de vasculitis más común en la edad pediátrica.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existe asociación entre la actividad de la vasculitis por IgA con y sin afectación renal y los niveles en sangre y orina de las proteínas MCP-1 y factor de Von Willebrand?

HIPÓTESIS

Las concentraciones de MCP-1 y factor de Von Willebrand aumentan al menos un 30% en la fase de actividad de la enfermedad en comparación con los niños que se encuentren sin actividad de la misma.

OBJETIVOS

Objetivo general:

Medir las concentraciones de las proteínas MCP-1 y factor de Von Willebrand en orina y sangre, respectivamente, de niños con diagnóstico de vasculitis por IgA y analizar su probable asociación con la actividad de la enfermedad y con la afectación renal secundaria.

Objetivos específicos:

- Medir la concentración de las proteínas MCP-1 y factor de Von Willebrand en sangre y orina, respectivamente, de pacientes pediátricos con vasculitis por IgA y determinar si existe una diferencia significativa de las mismas **durante la actividad y la ausencia de actividad de la enfermedad.**
- Medir la concentración de las proteínas MCP-1 y factor de Von Willebrand en sangre y orina, respectivamente, de pacientes pediátricos con vasculitis por IgA y determinar si existe una diferencia significativa de las mismas **entre niños con y sin afectación renal.**

METODOLOGÍA

Tipo de estudio

Estudio clínico

Diseño de estudio

Observacional, descriptivo, longitudinal y prospectivo.

Población del estudio

Todos los niños menores de 17 años de edad diagnosticados con vasculitis por IgA con y sin daño renal atendidos en el Hospital Infantil de México Federico Gómez entre Junio 2017 y Marzo 2020.

Lugar de realización del estudio

Hospital Infantil de México Federico Gómez (Departamento de Reumatología y Laboratorio de Nefrología y Metabolismo Óseo).

Periodo de realización del estudio

El estudio se llevó a cabo entre el 01 de Abril 2019 y el 01 de Junio 2021.

Descripción de Variables

Tipo	Variable	Definición conceptual	Definición operacional	Escala de medición
Independiente	Actividad de IgAV	La IgAV es una inflamación de vasos pequeños donde existe depósito de IgA anormal causado por un defecto en la glucosilación.	Presencia de uno o más manifestaciones atribuibles a vasculitis de nueva aparición de síntomas o empeoramiento de síntomas existentes durante las últimas 4 semanas y para las cuales se descarten otras causas (medición con herramienta clínica PVAS).	Cualitativa-Nominal (dicotómica)
Dependiente	Concentración de MCP-1 en orina	La proteína 1 quimioatrayente de monocitos (MCP-1) pertenece a la familia de quimiocinas inflamatorias y es un potente quimioatrayente de monocitos que participa a diferentes niveles en el proceso inflamatorio.	Niveles de MCP-1 en orina medidos por método de ELISA.	Cuantitativa-continua
	Concentración de FvW en sangre	El factor de Von Willebrand (vWF) es una proteína plasmática que se sintetiza en los megacariocitos y en las células endoteliales y participa en la agregación y adhesión plaquetaria. Su liberación incrementa en respuesta a lesión o inflamación del endotelio vascular.	Niveles de vWF en sangre medidos por coagulómetro.	Cuantitativa-continua

Criterios de inclusión

- Niños con diagnóstico de vasculitis por IgA.
- Niños con consentimiento firmado de participación voluntaria.

Criterios de exclusión

- Pacientes que no contaron con los criterios diagnósticos de vasculitis por IgA.
- Pacientes con síndromes de sobreposición.
- Pacientes sin consentimiento informado firmado.

Criterios de eliminación

- Pacientes que no acudieron a las citas de seguimiento ó que desearon salir del proyecto en cualquier momento.
- Pacientes con muestras de sangre y orina inapropiadas para su correcto procesamiento.
- Pacientes que desarrollaron síndrome de sobreposición.

Descripción del procedimiento:

Se invitó a participar a los pacientes que acudieron a la consulta externa de reumatología, o bien, de primera vez al servicio de urgencias y que cumplían con los criterios de inclusión.

Los pacientes se clasificaron en 2 grupos:

Grupo 1 (G1), pacientes con vasculitis por IgA activa.

Grupo 2 (G2), pacientes con vasculitis por IgA inactiva.

El médico tratante definió la fase en que se encontraba el paciente (activa o inactiva/remisión) utilizando la escala PVAS (herramienta clínica para la evaluación de actividad de vasculitis). Asimismo, se determinó la afectación renal por medio de exámenes de laboratorio rutinarios (química sanguínea y examen general de orina).

Obtención y procesamiento de las muestras:

A todos los pacientes se les tomaron muestras de sangre y orina para medir la concentración de proteínas MCP-1 y el factor de Von Willebrand al momento del ingreso al estudio (1era toma) y posteriormente a los 4 meses (2da toma)*, esperando que las muestras se obtuvieran en ambas fases de la enfermedad. El médico investigador determinó la fase en la que se encontraba el paciente al momento del muestreo y si existía afectación renal o no.

***Ante la situación emergente de pandemia se canceló el servicio de consulta por lo que no fue posible realizar seguimiento y muestras a lo largo de un año, como se había previsto.**

- **Obtención de la muestra de orina:** se explicó el procedimiento de la toma de muestra de orina recién emitida a chorro medio al paciente y su familiar. Se colectó un mínimo de 50ml de orina en un recipiente de plástico estéril con tapa a temperatura ambiente, de los cuales 10 ml fueron utilizados para el examen general de orina. El resto de la orina se colocó en tubos cónicos de 50 ml y se centrifugó a 2500 rpm durante 30 minutos a temperatura ambiente con lo que se obtuvo el sobrenadante y se almacenó a -80°C hasta la determinación del MCP-1 por ELISA.
- **Obtención de la muestra de sangre:** se explicó detalladamente el procedimiento de la toma de muestra sanguínea al paciente y su familiar. Previa asepsia y antisepsia se colocó el brazo en extensión y se seleccionó la vena por palpación en el área antecubital. Se extrajeron 10 ml de sangre y la muestra sanguínea fue almacenada a 4°C hasta el procesamiento para su estudio.
- **ELISA para MCP-1:** se utilizó un kit de ELISA comercial (Quantikine® Human CCL2/MCP-1 Immunoassay Catalog number DCP00 SCP00 PDCP00, R&D Systems) y se realizó la lectura a 450 nm; cada muestra por duplicado y los valores se expresaron en pg/ml.
- **Determinación de niveles de factor de Von Willebrand:** se empleó plasma obtenido en un tubo con citrato sódico 0.11 M como anticoagulante. Se centrifugó antes de 5 minutos a 3 000 rpm por 10 minutos, se separó y se realizó una segunda centrifugación a 12 000 rpm por 5 minutos para evitar la activación del fVW. Su cuantificación se realizó mediante una prueba inmunológica en un aparato ACL TOP500, que es un coagulómetro con lectura de la actividad del antígeno. Se informó en porcentaje de actividad y se empleó el kit vWbiofactor assay de Bio/data Corporation.

Tamaño de la muestra

Dada la naturaleza exploratoria del estudio, se ingresaron los pacientes procedentes del Hospital Infantil de México Federico Gómez captados durante el periodo establecido, por lo que no se determinó el tamaño de la muestra y se realizó por conveniencia.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se colectó la información en una base de datos de excel. Se realizó estadística descriptiva para las variables cuantitativas con distribución normal. En caso de distribución libre se utilizó la mediana y rangos intercuartílicos. Las variables cualitativas se expresaron como frecuencias y porcentajes.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El proyecto se apegó a las recomendaciones internacionales para investigación en humanos y al reglamento de investigación en seres humanos de la Ley General de Salud. Los investigadores principales son especialistas en Nefrología Pediátrica, Reumatología pediátrica y Biología Molecular.

Debido a que los pacientes fueron sometidos a la toma de productos sanguíneos por medio de punciones venosas, se consideró que el factor de riesgo fue mayor que el mínimo, ya que se pudo producir dolor y flebitis en el sitio de la toma de las muestras de sangre. La cantidad de la muestra sanguínea no fue mayor al límite establecido por el Reglamento de Investigación en Seres Humanos de La Ley General de Salud. Se consideró un volumen total de sangre de 10 ml. Debido a la naturaleza de la enfermedad, no se contempló la inclusión de pacientes menores de 6 meses, que correspondería a un peso corporal de 7 kg, motivo por el cual el volumen que se consideró extraer se apegó a la guía pediátrica de volumen de extracción de sangre de la universidad de British Columbia.

Las biopsias renales no fueron por conveniencia del protocolo sino por indicaciones clínicas del médico tratante.

En el estudio solo participaron los pacientes cuyos padres o tutores otorgaron el consentimiento informado por escrito (**Anexo 2**), además del asentimiento de los niños participantes (**Anexo 3**), que eran mayores de 8 años. Los pacientes o familiares conservaron una copia del mismo y se mantuvo la disponibilidad del personal médico para atender dudas que surgieran durante el proceso del estudio.

Los resultados obtenidos no tuvieron impacto en el manejo clínico ni en el tratamiento directo de los pacientes que participaron en el estudio. El beneficio que recibieron consistió en la metodología estricta para que se cumplieran los criterios diagnósticos de la vasculitis por IgA y de la posible afectación renal, así como el seguimiento estrecho de la enfermedad. Los conocimientos que emanaron como resultado del presente estudio podrán utilizarse como base para la realización de estudios posteriores que podrían tener efecto en el tratamiento futuro de los niños con vasculitis por IgA.

Aspectos de confidencialidad:

La información proporcionada por el paciente y sus familiares fue de manejo exclusivo de los investigadores y se mantuvo en reserva en el expediente clínico y en los formatos de recolección de los datos del estudio. Los resultados fueron analizados de manera individual y grupal. Se asignó una clave de identificación para cada paciente para fines de análisis y publicación de resultados.

CONSIDERACIONES DE BIOSEGURIDAD

Para la manipulación del material biológico y de los reactivos se utilizaron elementos de protección personal, tales como bata, guantes y protectores como cubre bocas o lentes, cuando se requirieron. Los desechos generados a partir de las muestras biológicas fueron contenidos dentro de un recipiente rojo, específicamente para líquidos. Las puntas para micropipetas, tubos, gasas, algodón, entre otros instrumentos que estuvieron en contacto con material biológico, se depositaron en un contenedor especialmente para desechos sólidos. En el caso de los desechos punzocortantes se colocaron en un solo recipiente rojo destinado para ese fin. Cada contenedor se encontraba debidamente etiquetado. En cuanto a otro tipo de desechos no biológicos empleados para el trabajo de laboratorio, se depositaron en un recipiente destinado a este tipo de productos.

Considerando la actual pandemia, se extremaron las precauciones, haciendo un previo reconocimiento clínico del paciente (signos vitales, presencia de sintomatología, contactos, etc) antes de proceder a la toma de muestra; en caso afirmativo, se procedió a tomar la muestra y se procesó en el área para muestras exclusivas COVID, bajo las condiciones establecidas en el manual de laboratorio.

RESULTADOS

Se lograron reclutar 11 pacientes que cumplían con los criterios de inclusión al momento de la selección (**Figura 1**), sin embargo, durante la realización del estudio se eliminaron 6 pacientes debido a que 5 de ellos contaban con consentimiento informado, pero no se presentaron a las citas de seguimiento y toma de muestra ya que la consulta se cerró debido a la pandemia SARS-Cov2. Un paciente tuvo diagnóstico inicial erróneo y presentó posteriormente criterios diagnósticos de otro tipo de vasculitis, por lo que resultó una muestra final de 5 pacientes con visita de seguimiento a los 4 meses.

Las características demográficas de las cinco pacientes, porque todas fueron del sexo femenino, se muestran en la **Tabla 1**. Todas tuvieron antecedente de manifestaciones cutáneas, con un rango de edad de 6 a 17 años y una mediana de 8 años. El tiempo de diagnóstico de enfermedad previo al ingreso de estudio varió de 0 a 144 meses, mediana de 12.5 meses. De acuerdo a lo planteado inicialmente en el protocolo, tuvimos dos

pacientes con vasculitis activa, Grupo 1 (pacientes 1, 3 y 4), dos de las cuales tenían nefritis y dos sin vasculitis activa, Grupo 2 (pacientes 2 y 5), pero por el pequeño tamaño de la muestra no continuamos con el análisis comparando grupo 1 vs. Grupo 2.

El tratamiento previo recibido fue muy diverso dado que por tratarse de un hospital de tercer nivel se reciben pacientes que frecuentemente han sido atendidos en otras instituciones. Todas recibieron esteroide ya sea oral o tópico, este último probablemente por pensar en una reacción alérgica. De las pacientes ingresadas al estudio, dos de ellas con nefritis recibieron micofenolato de mofetilo, inhibidores de enzima convertasa y antagonistas de receptor de angiotensina II (Pacientes 1 y 3, **tabla 1**), la paciente 1 ya había recibido esquemas con azatioprina y ciclosporina sin éxito.

Los hallazgos en la biopsia renal percutánea de las dos pacientes con nefritis se describen en la **Tabla 2**.

En relación a la actividad de la vasculitis, utilizamos la escala PVAS (**Anexo 1**). Al momento del diagnóstico tuvieron una mediana de 6 puntos (rango 4 a 17), al ingreso al estudio mediana de 2 (rango 0 a 7) y a los 4 meses de seguimiento mediana de 2 (rango 0 a 8) (**Tabla 1**), la paciente 1 es quien tuvo el puntaje de PVAS más alto al diagnóstico y quien evolucionó a deterioro de la función renal.

Se obtuvieron dos muestras de sangre y orina de cada paciente separados por un periodo de al menos 4 meses; dichas muestras se utilizaron para realizar la medición de dos biomarcadores (MCP-1 y Vwf) para posteriormente realizar una comparación con la condición clínica del paciente al momento de la toma de los mismos. Los resultados obtenidos se muestran en la **Tabla 3**.

Respecto a la medición de MCP-1 en orina, se encontraron niveles elevados en las pacientes con diagnóstico de nefritis correspondiendo al grado mayor de actividad de la enfermedad evaluado mediante escala clínica (PVAS) al momento de la toma (tanto en la toma inicial como en la de seguimiento a 4 meses), mientras que las pacientes sin actividad presentaron valores normales en ambas tomas. Por otro lado, los valores de Vwf en sangre resultaron mayores en la paciente con actividad al ingreso al estudio y con menor periodo a partir del diagnóstico, es decir, más próxima al periodo agudo y que igualmente presentaba afección renal (**Tabla 3**). Desgraciadamente no contamos con muestra para Vwf en la paciente 1.

Los hallazgos de la evolución clínica de los pacientes que ingresaron al presente estudio durante su seguimiento se describen a continuación:

Paciente 1. Diagnosticada a los 6 años de edad manifestando lesiones cutáneas (criterio mayor) y artralgias con bolos de metilprednisolona como tratamiento inicial; presentó recaída a los 12 años con lesiones cutáneas y artralgias agregándose proteinuria y hematuria microscópica recibiendo tratamiento con esteroide oral durante mes y medio con lo que remitieron las manifestaciones articulares y cutáneas, sin embargo, persistieron

las manifestaciones renales por lo que se inició Azatioprina 5 meses después de dicha recaída; cumplió con criterios para realización de biopsia renal donde se documentó afectación a este nivel (**Tabla 2**), se agregó doble bloqueo del eje Renina Angiotensina Aldosterona (RAA). Inicialmente con función renal conservada, misma que tuvo un descenso leve (KDOQI II) a los 6 meses de la recaída a pesar de tratamiento con inmunosupresor (AZA); continuó con proteinuria a los 6 meses por lo que se modificó tratamiento con ciclosporina el cual recibió durante 2 años. Se mantuvo en remisión durante 4 años presentando nuevamente recaída por lo que recibió tratamiento con micofenolato de mofetilo con el cual se encontraba al momento de ingresar a este estudio. A su ingreso al mismo se encontraba con disminución de TFG (aunque permanecía KDOQI II) y continuaba con actividad de la enfermedad a nivel renal; al momento de su segunda visita de seguimiento (4 meses) presentó un descenso moderado de TFG (KDOQI III) traduciendo respuesta nula al tratamiento previo con múltiples inmunosupresores y esteroides. Finalmente, en visita de seguimiento a los 12 meses continuaba con KDOQI III perdiendo seguimiento en nuestra institución debido a que se le otorgó alta por mayoría de edad.

Paciente 2. Se diagnosticó a los 8 años de edad cumpliendo criterio mayor de lesiones cutáneas aunado a manifestaciones gastrointestinales, sin embargo, se realizó biopsia de piel por manifestaciones atípicas confirmando diagnóstico histopatológico (vasculitis leucocitoclástica) a las 3 semanas de evolución del cuadro agudo. Conservando función renal desde el ingreso al estudio, sin evidencia de manifestaciones a este nivel durante seguimiento de segunda visita (4 meses) e incluso en seguimiento a 12 meses se dio alta por permanecer en remisión de actividad de la enfermedad.

Paciente 3. Diagnosticada con vasculitis IgA a la edad de 13 años cumpliendo criterios de afección cutánea, articular, abdominal y renal iniciando tratamiento con esteroide oral en segundo nivel de atención; fue referida a nuestra institución por presentar manifestaciones renales (hematuria macroscópica) con conservación de la función renal, sin embargo, se agregó doble bloqueo de sistema RAA y se realizó biopsia documentando nefritis grado III (**Tabla 2**) por lo que se inició micofenolato de mofetilo un mes después del diagnóstico cuando ingresó al presente estudio. Durante su evolución hasta la visita de seguimiento (4 meses) permaneció con TFG dentro de parámetros normales para la edad, sin embargo, llama la atención la disminución en este mismo periodo de 132 a 95ml/min/1.73m²/h; desafortunadamente en este caso no se logró el seguimiento a 12 meses ya que se interrumpió la consulta por la pandemia actual.

Paciente 4. Cumplió criterios diagnósticos a los 5 años de edad con manifestaciones cutáneas, artralgias y afección gastrointestinal; paciente con antecedente de ser monoreno por lo que presentaba mayor riesgo para desarrollar afectación renal, aunque no fue el caso. En un inicio fue tratada con esteroide oral e incluso tópico, así como metotrexate por lo que a su ingreso en nuestro nivel de atención nos encontramos con una paciente multitratada. A su ingreso a este estudio (2 meses posteriores al cuadro agudo) se encontraba sin datos de nefritis, presentaba fenómeno de Raynaud y sin criterios para realización de biopsia. Esta paciente conservó la función renal desde el inicio y no se documentaron alteraciones de la

misma durante su seguimiento (4 meses) e incluso 6 meses posteriores al cuadro inicial. Aparentemente no presentó recaídas y su seguimiento fue interrumpido por la pandemia actual.

Paciente 5. Se trató de un caso que se autolimitó de manera precoz. Se realizó el diagnóstico a los 7 años de edad con presentación típica de lesiones cutáneas y artralgias aumentando progresivamente y agregándose afección gastrointestinal. En este caso se dio seguimiento presentando remisión completa del cuadro a las seis semanas posteriores al cuadro agudo. Únicamente recibió tratamiento esteroideo inicial y sintomático respondiendo de manera favorable con desaparición de lesiones cutáneas. Esta paciente no manifestó alteraciones renales ni recaídas en un lapso de 4 meses (visita de seguimiento) e incluso 6 meses (tiempo en el que se perdió seguimiento por cancelación de consulta externa debido a pandemia).

DISCUSIÓN

La vasculitis por IgA que afecta a los vasos pequeños es la vasculitis más frecuente en la edad pediátrica diagnosticada en el 90% de los casos en niños menores de 10 años y es resultado del depósito de IgA anormal en la pared de los vasos [3,8,14].

A pesar de ser una enfermedad autolimitada en el mayor de los casos, la nefritis por IgA resulta ser la principal causa de morbilidad y mortalidad en estos niños. Numerosos estudios demuestran que la afección renal en la fase aguda de esta vasculitis condiciona un peor pronóstico a largo plazo que quienes no la presentan [17,19]. En un estudio realizado por Medeiros y col. [34] se demostró el aumento de la proteína MCP-1 en pacientes con nefritis lúpica respecto de pacientes sanos en nuestra institución; de igual manera se ha demostrado que dicha proteína juega un papel importante en la producción de monocitos y por lo tanto mayor daño intersticial a nivel renal [38]. El factor de Von Willebrand (Vwf) se ha identificado elevado en múltiples vasculitis sistémicas [41-44] diferenciando incluso entre la presencia de actividad de la enfermedad y su ausencia [45-47]. Es por lo tanto de suma importancia conocer marcadores tempranos para predecir la afectación renal, y por tanto, el pronóstico de los pacientes pediátricos con vasculitis por IgA.

El presente estudio hace referencia a la medición de MCP-1 y factor de Von Willebrand en niños con diagnóstico de este tipo de vasculitis. Se encontró que el MCP-1 en orina fue mayor en las niñas que presentaron nefritis durante su evolución y dichos niveles se asociaron por tanto a una mayor actividad de la enfermedad al momento de su medición en las mismas pacientes siendo comparados con el puntaje de escala clínica de actividad (PVAS) lo que sugiere aumento de este biomarcador asociado a la actividad específicamente a nivel renal. Respecto al factor de Von Willebrand, su aumento se encontró relacionado con el menor tiempo desde la fase aguda hasta el momento de la medición sin mantener asociación directa con el puntaje clínico de actividad de la enfermedad durante la toma. Desafortunadamente por el escaso número de pacientes no fue posible realizar una prueba estadística.

Vale la pena resaltar que a pesar de la frecuencia de este tipo de vasculitis, existe aún gran controversia respecto del tratamiento. En este estudio se identificó el uso de esteroides en todas las pacientes durante la presentación del cuadro agudo; dicho manejo se empata con las recomendaciones hasta el momento descritas ya que el inicio de esteroides en esta fase resuelve con mayor rapidez las alteraciones gastrointestinales y cutáneas, sin embargo, se ha demostrado que no existe beneficio de esta terapia en la prevención del daño renal [49]. Por otro lado, en las pacientes con nefritis se utilizó micofenolato de mofetilo, inmunosupresor que se ha evidenciado superior en la terapia de nefritis disminuyendo el grado de proteinuria sin presentar importantes reacciones adversas a corto plazo [50], sin embargo, se requiere monitorización de niveles séricos para lograr el efecto terapéutico deseado. Esta medición no se realiza en todos los escenarios, tal es el caso del presente estudio donde no se contó con seguimiento de niveles al brindar dicho tratamiento.

En el presente estudio donde se incluyeron pacientes con diagnóstico de vasculitis por IgA en diferentes fases de la enfermedad se describieron las características clínicas y bioquímicas de los mismos. Además, se identificaron biomarcadores no invasivos que podrían ser utilizados para el diagnóstico temprano de nefritis de forma segura. Sin embargo, estos resultados requieren ser confirmados posteriormente con una muestra más significativa y con seguimiento prolongado debido a las limitaciones que en este caso se presentaron.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

- El tamaño de la muestra es pequeño y debido a la pandemia emergente se vio afectado el reclutamiento de pacientes que se realizaba en la consulta externa reduciendo las posibilidades de obtener una muestra significativa.
- El seguimiento de los pacientes se realizó en un periodo corto.
- No se contó con biopsia renal en todos los casos.
- De igual manera, el seguimiento de pacientes se limitó a una visita posterior (4 meses) al ingreso del paciente al estudio.

CONCLUSIONES

Los pacientes con nefritis por PHS tuvieron valores de MCP-1 en orina mayores que los pacientes sin nefritis. El factor de Vwf fue mayor en la paciente con nefritis activa que sin nefritis. Desafortunadamente el tamaño de la muestra es aún pequeño para poder realizar análisis estadístico.

Aún así los resultados en esta pequeña serie de casos muestran el potencial uso de estos biomarcadores en el abordaje y seguimiento de los pacientes con PHS.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

ACTIVIDADES	FECHA (mes/año)				
	06/19 03/20	06/19 03/21	06/20 04/21	04/21 05/21	05/21 06/21
Reclutamiento de pacientes	x				
Procesamiento de muestras		x			
Captura de datos			x		
Análisis de resultados				x	
Elaboración de tesis.					x

REFERENCIAS:

1. Barut K, Sahin S, Kasapcopur O. Pediatric vasculitis. *Curr Opin Rheumatol*. 2016; 28(1):29-38.
2. Singh-Grewal D, Durkan A.M. Pediatric Vasculitis. *Indian J Pediatr* 2016; 83: 156-162.
3. Eleftheriou D, Batu ED, Ozen S, Brogan PA. Vasculitis in Children. *Nephrol Dial Transplant* 2015; 30: 94-103.
4. Bloch DA, Michel BA, Hunder GG et al. The American College of Rheumatology 1990 criteria for the classification of vasculitis. Patients and methods. *Arthritis Rheum*, 1990; 33: 1068–1073.
5. Ozen S, Pistorio A, Iusan SM et al. EULAR/PRINTO/PRES criteria for Henoch-Schönlein purpura, childhood polyarteritis nodosa, childhood Wegener granulomatosis and childhood Takayasu arteritis: Ankara 2008. Part II: final classification criteria. *Ann Rheum Dis*, 2010; 69: 798–806.
6. Ozen S, Ruperto N, Dillon MJ et al. EULAR/PReS endorsed consensus criteria for the classification of childhood vasculitides. *Ann Rheum Dis*, 2006; 65: 936–941.
7. Batu ED, Bilginer Y. Classification of Vasculitis in Childhood. *Ann Pediatr Rheum*, 2016; 5 (1): 1-10.
8. Jennette JC, Falk RJ, Bacon PA et al. 2012 Revised international Chapel Hill consensus conference nomenclature of vasculitides. *Arthritis Rheum*, 2013; 65: 1–11.
9. Trnka P. Henoch-Schönlein purpura in children. *J Paediatr Child Health*. 2013;49(12):995-1003.
10. Suzuki H, Kiryluk K, Novak J, et al. The pathophysiology of IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22(10):1795-1803.

11. Novak J, Barratt J, Julian BA, Renfrow MB. Aberrant Glycosylation of the IgA1 Molecule in IgA Nephropathy. *Semin Nephrol*. 2018;38(5):461-476.
12. Cáceres-Mosquera J, Fuentes-Velasco Y, Romero-Navarro B, Valverde-Rosas S, García Roca P, et al. Púrpura de Henoch-Shönlein. Reporte de 105 pacientes pediátricos. *Bol Med Hosp Infant Mex*, 2006; 63: 314-321.
13. Piram M, Maldini C, Biscardi S, et al. Incidence of IgA vasculitis in children estimated by four-source capture-recapture analysis: a population-based study. *Rheumatology (Oxford)*. 2017;56(8):1358-1366.
14. Gardner-Medwin JM, Dolezalova P, Cummins C, Southwood TR. Incidence of Henoch-Schönlein purpura, Kawasaki disease, and rare vasculitides in children of different ethnic origins. *Lancet*. 2002; 360(9341):1197-1202.
15. Augestad L, Hammarström C, Flatø B, Bjerre A. Renal involvement in paediatric systemic vasculitis. Nyreaffeksjon ved systemisk vaskulitt hos barn. *Tidsskr Nor Laegeforen*. 2017; 137(19):10.
16. Pohl M. Henoch-Schönlein purpura nephritis. *Pediatr Nephrol*. 2015;30(2):245-252.
17. Huang, X., Wu, X., Le, W. et al. Renal Prognosis and Related Risk Factors for Henoch-Schönlein Purpura Nephritis: A Chinese Adult Patient Cohort. *Sci Rep*, 2018; 8.
18. González LM, Janniger CK, Schwartz RA. Pediatric Henoch-Schönlein purpura. *Int J Dermatol*. 2009;48(11):1157-1165.
19. Narchi H. Risk of long-term renal impairment and duration of follow up recommended for Henoch-Schönlein purpura with normal or minimal urinary findings: a systematic review. *Arch Dis Child*, 2005; 90(9): 916-920.
20. Wulffraat, N.M., Vastert, B. Time to share. *Pediatr Rheumatol*, 2013; 11; 5.
21. Biomarkers and Surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*, 2001; 69 (3): 89-95.
22. Endre ZH, Pickering JW, Walker RJ, et al. Improved performance of urinary biomarkers of acute kidney injury in the critically ill by stratification for injury duration and baseline renal function. *Kidney Int*. 2011;79(10):1119-1130.
23. Lane BR. Molecular markers of kidney injury. *Urol Oncol*. 2013;31(5):682-685.
24. Fadel F, A.R, Mohamed M. Plasma Neutrophil Gelatinase-associated lipocalin as an early biomarker for prediction of acute kidney injury after cardio-pulmonary bypass in pediatric cardiac surgery. *Archives of Medical Science*, 2011: 250-255.
25. Constantin JM, Futier E, Perbet S, et al. Plasma neutrophil gelatinase-associated lipocalin is an early marker of acute kidney injury in adult critically ill patients: a prospective study. *J Crit Care*. 2010; 25(1):176.
26. Fassett RG, Venuthurupalli SK, Gobe GC, Coombes JS, Cooper MA, Hoy WE. Biomarkers in chronic kidney disease: a review. *Kidney Int*. 2011;80(8):806-821.
27. Brunner HI, Mueller M, Rutherford C, et al. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of nephritis in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 2006;54(8):2577-2584.
28. Nishida M, Kawakatsu H, Okumura Y, Hamaoka K. Serum and urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels in children with chronic renal diseases. *Pediatr Int*, 2010;52(4):563-568.

29. Baggiolini M, Loetscher P. Chemokines in inflammation and immunity. *Immunol Today*, 2000;21(9):418-420.
30. Kim MJ, Tam FW. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 in renal disease. *Clin Chim Acta*. 2011;412(23-24):2022-2030.
31. Haller H, Bertram A, Nadrowitz F, Menne J. Monocyte chemoattractant protein-1 and the kidney. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2016;25(1):42-49.
32. Yadav A, Saini V, Arora S. MCP-1: chemoattractant with a role beyond immunity: a review. *Clin Chim Acta*. 2010;411(21-22):1570-1579.
33. Kulkarni O, Pawar RD, Purschke W, et al. Spiegelmer inhibition of CCL2/MCP-1 ameliorates lupus nephritis in MRL-(Fas)lpr mice. *J Am Soc Nephrol*. 2007;18(8):2350-2358.
34. Hermosillo G, Medeiros M. MCP-1 en suero y en orina en niños con lupus eritematoso sistémico y su correlación con actividad lúpica en nefrología pediátrica 2011, UNAM: Ciudad de México.
35. Wang J, Ying Q, Zhong S, et al. Elevated urinary monocyte chemoattractant protein-1 levels in children with Henoch-Schonlein purpura nephritis. *Pediatr Neonatol*. 2018;59(3):238-243.
36. Tam FW, Sanders JS, George A, et al. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) is a marker of active renal vasculitis. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19(11):2761-2768.
37. Wasilewska A, Zoch-Zwierz W, Taranta-Janusz K, Kołodziejczyk Z. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 excretion in children with glomerular proteinuria. *Scand J Urol Nephrol*. 2011;45(1):52-59.
38. Ghobrial EE, El Hamshary AA, Mohamed AG, Abd El Raheim YA, Talaat AA. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 as a biomarker of lupus nephritis activity in children. *Saudi J Kidney Dis Transpl*, 2015;26(3):507-515.
39. Fuentes Y, Hernández AM, García-Roca P, et al. Urinary MCP-1/creatinine in Henoch-Schönlein purpura and its relationship with nephritis. *Pediatr Nephrol*. 2014;29(6):1047-1052.
40. Cellucci T, Tyrrell PN, Pullenayegum E, Benseler SM. von Willebrand factor antigen-a possible biomarker of disease activity in childhood central nervous system vasculitis? *Rheumatology (Oxford)*, 2012;51(10):1838-1845.
41. Ateş E, Bakkaloğlu A, Saatçi U, Söylemezoğlu O. von Willebrand factor antigen compared with other factors in vasculitic syndromes. *Arch Dis Child*. 1994;70(1):40-43.
42. Del Vecchio GC, Penza R, Altomare M, Piacente L, Aceto G. Cytokine pattern and endothelium damage markers in Henoch-Schönlein purpura. *Immunopharmacol Immunotoxicol*, 2008;30(3):623-629.
43. Nash MC, Shah V and Dillon MJ. Soluble cell adhesion molecules and von Willebrand factor in children with Kawasaki disease. *Clin Exp Immunol*, 1995; 101 (1): 13-17.
44. Beyan E, Sadikoğlu B, Ertuğrul E, Beyan C. Von. Willebrand factor antigen levels in Behçet disease. *Am J Hematol*. 2005;79(1):70-72.

45. Rose PE, Struthers GS, Robertson M, Kavi J, Chant I, Taylor CM. Factor VIII von Willebrand protein in haemolytic uraemic syndrome and systemic vasculitides. *Lancet*. 1990;335(8688):500-502.
46. Falcini F, Generini S, Pignone A, et al. Are Angiotensin Converting Enzyme and von Willebrand factor circulating levels useful surrogate parameters to monitor disease activity in Kawasaki disease? *Endothelium*. 1999;6(3):209-215.
47. D'Cruz D, Direskeneli H, Khamashta M, Hughes GR. Lymphocyte activation markers and von Willebrand factor antigen in Wegener's granulomatosis: potential markers for disease activity. *J Rheumatol*. 1999;26(1):103-109.
48. Dolezalova P, Price-Kuehne FE, Özen S, et al. Disease activity assessment in childhood vasculitis: development and preliminary validation of the Paediatric Vasculitis Activity Score (PVAS). *Ann Rheum Dis*, 2013;72(10):1628-1633.
49. Tan J, Tang Y, Zhong Z, Yan S, Tan L, Tarun P, Qin W. The efficacy and safety of immunosuppressive agents plus steroids compared with steroids alone in the treatment of Henoch-Schönlein purpura nephritis: A meta-analysis. *Int Urol Nephrol*. 2019 Jun;51(6):975-985.
50. Lu Z, Song J, Mao J, Xia Y, Wang C. Evaluation of Mycophenolate Mofetil and Low-Dose Steroid Combined Therapy in Moderately Severe Henoch-Schönlein Purpura Nephritis. *Med Sci Monit*. 2017 May 18;23:2333-2339.

ANEXOS

ANEXO 1. Puntuación de Actividad de Vaculitis Pediátrica (PVAS)

Centre.....Assessor.....Date.....

Patient name.....Patient code.....PVAS 2008 Study

PAEDIATRIC VASCULITIS ACTIVITY SCORE 2008			
<input type="checkbox"/> Tick "Active" box only if abnormality due to active vasculitis is newly present or worse over the last 4 weeks or persists for less than 3 months. After that, if ALL items are persistent and represent smouldering/low grade/grumbling disease, and there are no new/worse features, please tick the box at the bottom right corner. At the very first assessment all active items are considered as active/worse. If there are no abnormalities in a system, please tick the "None" box. For items present longer than 3 months refer to the Vasculitis Damage Index to score damage.			
	None	Active	
1. General	<input type="radio"/>		6. Cardiovascular
Myalgia		<input type="radio"/>	Loss of pulses
Arthralgia or arthritis		<input type="radio"/>	Bruits over accessible arteries
Fever $\geq 38.0^{\circ}\text{C}$		<input type="radio"/>	Blood pressure discrepancy
Weight Loss $\geq 5\%$ body weight		<input type="radio"/>	Claudication of extremities
			Ischaemic cardiac pain
			Cardiomyopathy
2. Cutaneous	<input type="radio"/>		Congestive cardiac failure
Polymorphous exanthema		<input type="radio"/>	Valvular heart disease
Livedo		<input type="radio"/>	Pericarditis
Panniculitis		<input type="radio"/>	
Purpura		<input type="radio"/>	7. Abdominal
Skin nodules		<input type="radio"/>	Abdominal pain
Infarct (nail edge lesion, splinter haemorrhage)		<input type="radio"/>	Peritonitis
Ulcer (full-thickness necrosis)		<input type="radio"/>	Blood in stools or bloody diarrhoea
Gangrene (extensive necrosis)		<input type="radio"/>	Bowel ischaemia
Other skin vasculitis (specify below)		<input type="radio"/>	
			8. Renal
3. Mucous membranes/eyes	<input type="radio"/>		Hypertension $>95^{\text{th}}$ centile (for height)
Mouth ulcers/granulomata		<input type="radio"/>	Proteinuria $>0.3\text{ g}/24\text{h}$, $>20\text{mmol}/\text{mg}$ creatinin
Genital ulcers		<input type="radio"/>	Haematuria $\geq 2+$ or 5 rbc/hpf or red cell casts
Adnexal inflammation		<input type="radio"/>	GFR $50\text{-}80\text{ml}/\text{min}/1.73\text{ m}^2$
Significant proptosis		<input type="radio"/>	GFR $15\text{-}49\text{ ml}/\text{min}/1.73\text{ m}^2$
Red eye (Epi)scleritis		<input type="radio"/>	GFR $<15\text{ ml}/\text{min}/1.73\text{ m}^2$
Red eye conjunctivitis/ blepharitis/keratitis		<input type="radio"/>	Rise in creatinine $> 10\%$ or
Uveitis		<input type="radio"/>	Creatinine clearance (GFR) fall $> 25\%$
Blurred vision		<input type="radio"/>	
Sudden visual loss		<input type="radio"/>	9. Nervous system
Retinal vasculitis/retinal vessel thrombosis/retinal exudates/haemorrhages		<input type="radio"/>	Headache
			Meningitis/encephalitis
			Organic confusion/cognitive dysfunction
4. ENT	<input type="radio"/>		Seizures (not hypertensive)
Nasal discharge/crusts/ulcers/granuloma		<input type="radio"/>	Stroke
Paranasal sinus involvement		<input type="radio"/>	Cord lesion
Subglottic stenosis/ hoarseness /stridor		<input type="radio"/>	Cranial nerve palsy
Conductive hearing loss		<input type="radio"/>	Sensory peripheral neuropathy
Sensorineural hearing loss		<input type="radio"/>	Motor mononeuritis multiplex
5. Chest	<input type="radio"/>		10. OTHER
Wheeze or expiratory dyspnea		<input type="radio"/>	
Endobronchial/endotracheal involvement		<input type="radio"/>	
Nodules or cavities		<input type="radio"/>	
Pleural effusion/pleurisy		<input type="radio"/>	NO NEW/WORSE DISEASE :
Infiltrate		<input type="radio"/>	Tick here if there is no new/worse abnormality present in ANY of the systems above and active items represent low grade grumbling disease
Massive haemoptysis/Alveolar haemorrhage		<input type="radio"/>	
Respiratory failure		<input type="radio"/>	

ANEXO 2. CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Carta de consentimiento informado del protocolo “**Determinación MCP-1 y factor de Von Willebrand en niños con vasculitis por IgA (Púrpura de Henoch-Shönlein) con y sin afectación renal como probables marcadores de actividad de la enfermedad**”

Investigador Principal (Médico del estudio): Dra. Mara Medeiros Domingo

Institución: Hospital Infantil de México “Dr. Federico Gómez”

Domicilio: Dr. Márquez No. 162, Col. Doctores, C.P. 06720, Del. Cuauhtémoc, México Distrito Federal.

Teléfono: 52289917 Ext. 4410

Introducción

Deseamos invitarlo a participar en este estudio de investigación que se llevará cabo en el Hospital Infantil de México.

Su participación es voluntaria. Usted puede decidir no participar o puede retirarse del estudio en cualquier momento. En cualquier caso, no perderá ninguna forma de atención médica en el Hospital.

La investigación puede proporcionar información que ayude, en el futuro inmediato, a otros niños con la misma enfermedad que la de su hijo(a).

Antes de decidir participar, lea con cuidado el presente documento y tómese el tiempo que requiera para realizar cualquier pregunta o discutir este estudio con cualquier persona que participe en la investigación, con su familia o con cualquier otro profesional de la salud.

Finalidad del estudio

El propósito de este estudio es averiguar en los niños, más acerca de la enfermedad llamada “vasculitis por IgA”. Las vasculitis son un grupo de enfermedades en las que se inflaman la pared de los vasos sanguíneos, tanto venas como arterias. Estas enfermedades no son frecuentes y casi siempre se presentan en todo el cuerpo, por lo que es necesario dar un tratamiento a los niños enfermos para tratar de curar o controlar a la enfermedad y evitar las complicaciones.

La “vasculitis por IgA” es una enfermedad que puede abarcar a diferentes órganos del cuerpo, principalmente a los riñones. El daño a los riñones de su niño es una complicación frecuente en esta enfermedad. Algunas complicaciones pueden poner el riesgo la vida de su hijo.

En contraste a como sucede con los adultos, no existe información en los niños sobre la utilidad en la detección de algunas sustancias que se producen en el cuerpo como consecuencia de la enfermedad. Por lo tanto, a estas sustancias se les llama marcadores de la enfermedad. En muchos casos, éstas sustancias son proteínas que favorecen la inflamación de las arterias y de las venas y aparecen en la sangre y en la orina. Como estas sustancias llamadas marcadores se producen en grandes cantidades en la enfermedad de vasculitis por IgA, podemos medir su presencia en la sangre y en la orina y así se puede determinar cuánto daño han sufrido los riñones. Los marcadores que vamos a medir en la sangre y en la orina de su niño tienen nombres muy raros, se llaman MCP-1 y factor de von Willebrand. Los resultados de la medición nos van a señalar cuánta actividad tiene la enfermedad en el cuerpo y en los riñones de su hijo. En un futuro cercano, la información que tengamos de ésta investigación nos ayudará a curar a otros niños enfermos de “vasculitis por IgA”.

Procedimiento del estudio

Si usted acepta que su hijo participe en este estudio se tomará una muestra de sangre y una muestra de orina en dos ocasiones. En algunos casos, se tomará la muestra en tres ocasiones.

Riesgos y molestias

Las muestras de sangre se toman picando una vena con una aguja para sacar la sangre, generalmente del brazo o de la mano. A éste procedimiento se le llama punción venosa. Su hijo podrá tener dolor o molestia en el sitio de la punción de la vena; el dolor desaparece después de algunos minutos. A veces se forma en el sitio de la punción un moretón en la piel, que los médicos llamamos hematoma, a consecuencia del piquete, pero desaparece en los días siguientes.

Beneficios

El beneficio que el niño tendrá de este protocolo de investigación es que la medición de estas sustancias en sangre y en orina podrían ayudar a los médicos a predecir la gravedad de la enfermedad y cómo va a evolucionar con el tiempo.

Procedimientos alternativos y costos

Los análisis de los marcadores en sangre y en orina no tendrán costo para los padres o tutores del paciente.

Accesibilidad de los investigadores y confidencialidad

Los médicos que atienden a su hijo estarán en todo momento dispuestos a responder a todas sus preguntas e inquietudes respecto a cómo se hará el estudio de investigación y a los resultados del estudio que se realizarán a su hijo.

En todo momento se mantendrá la confidencialidad de los resultados de los exámenes practicados en la muestra de sangre de su hijo. Esto quiere decir que solamente usted y los médicos conocerán el resultado del estudio.

Durante el estudio usted recibirá información de los resultados que se vayan obteniendo.

Normas acerca de las lesiones relacionadas con la investigación

Problemas o preguntas

Si surgiera algún problema o tuviese usted una pregunta con respecto a este estudio, a sus derechos como participante en la investigación o cualquier situación relacionada con la misma, debe comunicarse con los médicos que participan en este estudio, que son la Dra. Mara Medeiros Domingo y la Biol. Ana María Hernández Sánchez en el Laboratorio de Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo del cuarto piso del Edificio de Hematología-Oncología e Investigación, del Hospital Infantil de México Federico Gómez, con dirección en calle Dr. Márquez # 162, Colonia Doctores, Delegación Cuauhtémoc, México DF, CP 06720.

Documento de consentimiento

Usted puede decidir no participar en el estudio, o bien decidir retirarse del estudio. En cualquier caso, no perderá ninguna prestación a la que tenga derecho. Le sugerimos que conserve copia de este documento para consultarlo posteriormente.

Lea con calma éste documento, haga las preguntas que desee, puede consultar otras opiniones y cuando esté convencido de que quiere que su hijo participe, firme la siguiente DECLARACIÓN:

He leído las explicaciones acerca de este estudio y se me ha dado la oportunidad de discutir las y de hacer preguntas. Por este medio otorgo mi consentimiento para que mi hijo participe en este estudio de investigación.

Nombre del paciente _____

Registro _____ Fecha de firma _____

Nombre y firma del padre, madre o tutor responsable del niño

Teléfono _____

Testigo: Nombre, dirección y relación con el niño; firma.

Testigo: Nombre, dirección y relación con el niño; firma.

Médico responsable: Nombre, posición en el Hospital, teléfono, firma.

ANEXO 3. CARTA DE ASENTIMIENTO

Carta de asentimiento del protocolo **“Determinación de MCP-1 y factor de Von Willebrand en niños con vasculitis por IgA (Púrpura de Henoch-Shönlein) con y sin afectación renal como probables marcadores de actividad de la enfermedad”**

Investigador Principal (Médico del estudio): Dra. Mara Medeiros Domingo

Institución: Hospital Infantil de México “Dr. Federico Gómez”

Domicilio: Dr. Márquez No. 162, Col. Doctores, C.P. 06720, Del. Cuauhtémoc, México Distrito Federal.

Teléfono: 52289917 Ext. 4410

Introducción

Deseamos invitarte a participar en este estudio de investigación que se llevará cabo en el Laboratorio de Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo, del Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Tu participación es voluntaria, no tienes que participar a fuerza en este estudio. Tú puedes decidir no participar o puedes retirarte del estudio en cualquier momento. En cualquier caso, no perderás ninguna forma de atención médica en el Hospital.

La investigación puede proporcionar información que ayude, en el futuro inmediato, a otros niños con la misma enfermedad que la tuya.

Antes de decidir participar, lee con cuidado el documento y tómate el tiempo para preguntar o discutir este estudio con tus papás y con tus médicos.

Finalidad del estudio

El propósito de este estudio es averiguar más acerca de la enfermedad llamada “vasculitis por IgA” en los niños. Las vasculitis son un grupo de enfermedades poco frecuentes que hacen que se inflamen algunas venas y arterias del cuerpo. Es necesario recibir un tratamiento para tratar de aliviar la enfermedad y evitar las complicaciones. Son enfermedades que pueden hacer daño a los riñones, principalmente. El daño de tu riñón es una complicación frecuente en esta enfermedad.

No existe información en los niños sobre la utilidad de la detección de marcadores en la sangre y en la orina para determinar si existe daño a los riñones y de su gravedad. Los marcadores que se determinarán en la orina y en la sangre son unas proteínas que se llaman

MCP-1 y factor de von Willebrand, con el objeto de ver la actividad de la vasculitis y de la actividad de tu enfermedad en tu riñón.

Procedimiento del estudio

Si decides aceptar en este estudio te tomaremos una muestra de sangre y una muestra de orina. La cantidad de sangre que se tomará será de más o menos lo que cabe en una cucharada sopera.

Riesgos y molestias

Las muestras de sangre se toman por punción en una de las venas de tu brazo, podrás tener un poco de dolor en el momento de la punción de la vena pero se quita después de unos minutos.

Beneficios

El beneficio que obtendrás es que a los médicos que te tratamos nos dirá si mediante la medición de estas sustancias en sangre y en orina podemos predecir qué es lo que va a pasar con de tu enfermedad y de cuándo la vasculitis afecta tu riñón.

Procedimientos alternativos y costos

Los análisis de los marcadores en sangre y en orina no tendrán costo para ti o tu familia.

Accesibilidad de los investigadores y confidencialidad

Los médicos que te atienden estarán en todo momento, dispuestos a responder a todas tus preguntas e inquietudes respecto a los resultados del estudio que se te realizarán.

A nadie se le va a informar sobre los resultados de los exámenes que se te practicaron. Solamente tus papás, tú y los médicos conocerán el resultado del estudio.

Durante el estudio recibirás información de los resultados que se vayan obteniendo. Siempre estarás bien informado y vas a tener la libertad de hacer las preguntas que desees.

Normas acerca de las lesiones relacionadas con la investigación

Problemas o preguntas

Si surgiera algún problema o tuvieses alguna pregunta con respecto a este estudio, o en relación a tus a sus derechos como participante en la investigación o a cualquier situación relacionada con la misma, deberás de comunicarse con los médicos que participan en este estudio; que son la Dra. Mara Medeiros o la Biol. Ana María Hernández Sánchez en el Laboratorio de Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo.

Documento de asentimiento

Tú puedes decidir no participar en el estudio, o bien decidir retirarte del estudio en cualquier momento. De cualquier manera, no perderás ninguna prestación a la que tengas derecho y en el hospital se te seguirá atendiendo de la misma manera. Te sugerimos que conserves una copia de este documento para consultarlo en el futuro.

DECLARACIÓN: He leído las explicaciones acerca de este estudio y se me ha dado la oportunidad de discutir las y de hacer preguntas. Por este medio otorgo mi ASENTIMIENTO para participar en este estudio.

Nombre y firma del paciente _____

Registro _____ Fecha de firma _____

Nombre y firma del padre, madre o tutor responsable del niño

Testigo: Nombre, dirección y relación con el niño; firma.

Testigo: Nombre, dirección y relación con el niño; firma.

Médico responsable: Nombre, posición en el Hospital, teléfono, firma.

ANEXO 4. FIGURAS Y TABLAS

Figura 1. Selección de pacientes

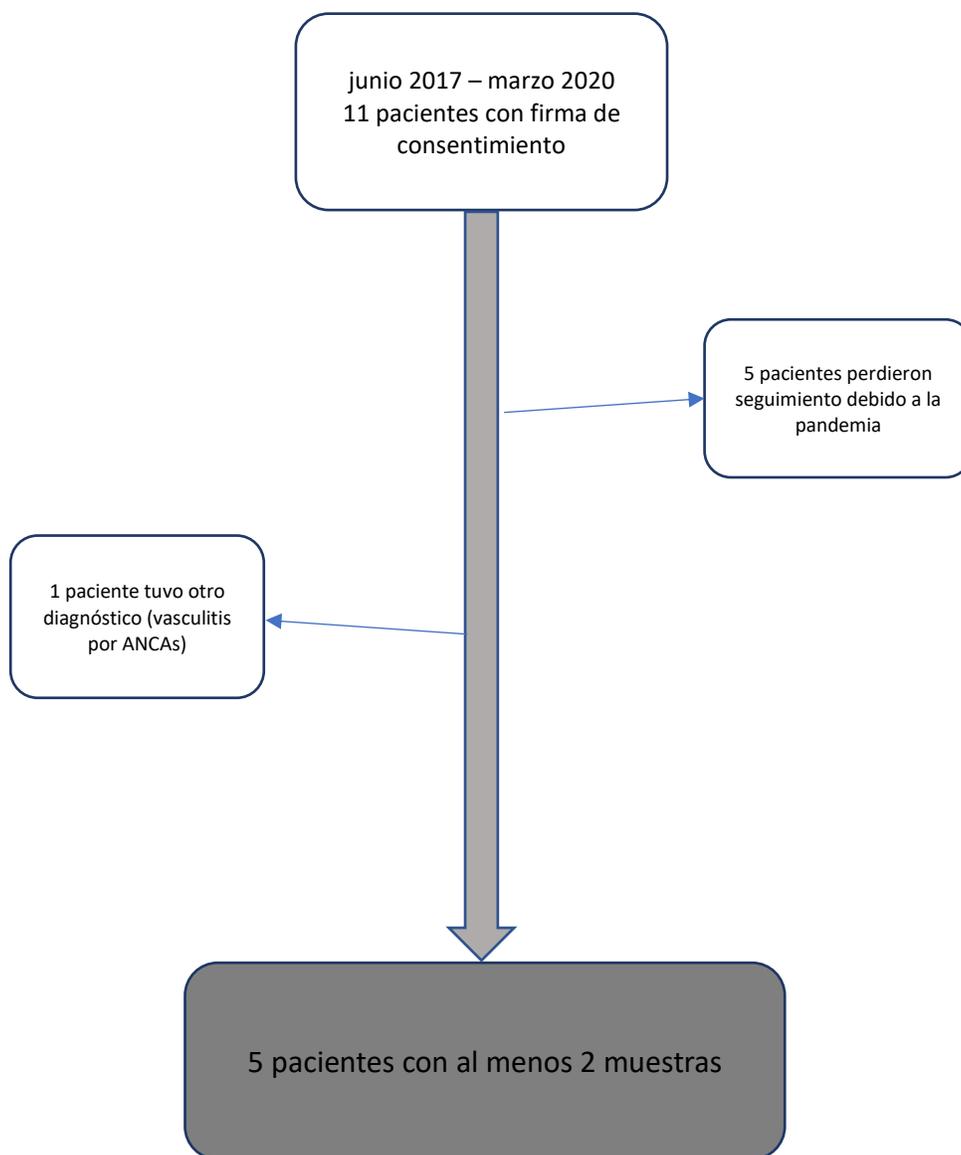


Tabla 1. Descripción demográfica de pacientes

Paciente	Edad (meses)	Tiempo de Dx (meses)	Manifestaciones al ingreso								
			Renales	Cutáneas	TFG (ml/min/1.73m ²)	PVAS Al Dx	PVAS al ingreso	Tratamiento previo	Tratamiento ingreso	TFG visita 2	PVAS visita 2
1	196	144	Sí	No	63	17	4	MPDN PDN 45días AZA 1 año CsA 2 años	MMF Captopril Losartán	58	8
2	105	4	No	Sí	118	5	2	MPDN	Ninguno	122	0
3	158	2	Sí	No	132	7	7	PDN	Hidrocortisona MMF	95	0
4	83	21	No	Sí	122	4	0	Betametasona MPDN PDN Metrotexate	PDN	144	0
5	91	0	No	No	124	6	0	Hidrocortisona tópica Loratadina	Ninguno	136	0

Tabla 2. Hallazgos de biopsia renal en casos con nefritis

	Hallazgos	Inmunofluorescencia	ISKDC*	Progresión a ERC
Paciente 1	Glomerulonefritis proliferativa difusa endocapilar y extracapilar, glomeruloesclerosis global y daño tubular intersticial (10%).	Negativa	IIIB	Sí
Paciente 3	Glomerulonefritis proliferativa difusa endocapilar y extracapilar.	Positiva (IgA +++ con patrón granular mesangial)	IIIB	No

*ISKDC (The International Study of Kidney Disease in Children) Clasificación histopatológica:

GI: cambios mínimos; GII: proliferación mesangial; GIII: medias lunas en <50% de glomérulos (A: focal, B: difusa); GIV: medias lunas en 50-75% de glomérulos (A:focal,B: difusa); GV: medias lunas en >75% de glomérulos; GVI: glomerulonefritis membranoproliferativa.

Tabla 3. Evaluación bioquímica

		Paciente 1		Paciente 2		Paciente 3		Paciente 4		Paciente 5	
	# Toma	1º	2º								
Orina	Creatinina (mg/dL)	105	100	50	100	50	200	10	100	100	200
	Albúmina (mg/L)	310	270	10	10	150	30	10	10	10	10
	Alb/Cr (mg/g)	295	270	20	10	300	15	100	10	10	5
	MCP-1 (pg/ml)	208	217	64	137	253	625	0	135	82	131
Sangre	Vwf (%)	70	/	89	70	293	102	96	81	67	88

Alb/Cr: relación albumina/creatinina en orina; MCP-1:proteína quimioatrayente de monocitos 1 , Vwf: factor de Von Willebrand