



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

Utilidad clínica de biomarcadores de severidad y pronóstico de la nefropatía IgA en el adulto

Tesis doctoral

Autor

Clara Carnicer Cáceres

Directores

Dr. Alfons Segarra Medrano

Dr. Vicent Fonollosa Pla

Departamento de Medicina. Facultad de Medicina

Programa de doctorado en Medicina

Universitat Autònoma de Barcelona

Junio 2017

A mis padres.
A Miquel.
A Gara y a Gael.

Agradecimientos

Esta tesis no hubiera podido llevarse a cabo sin la participación directa e indirecta de mucha gente a la que agradezco a continuación.

En primer lugar quiero agradecer sinceramente a mi supervisor, Alfons Segarra, el tiempo, conocimientos y experiencia que me ha dedicado durante estos años para llevar a cabo esta tesis, y sin los cuales no hubiera podido realizar este trabajo. Su persistencia, su paciencia y su capacidad para transmitir la motivación, me han aportado mucho tanto en el terreno profesional como en el personal.

Quiero dar las gracias también a mucha gente del Hospital Universitario Vall d'Hebrón que ha participado directamente en este trabajo, tanto en el reclutamiento de pacientes, la extracción y gestión de las muestras, como en el análisis bioquímico e histológico de las mismas. Entre esta gente, agradezco especialmente la participación de Elena Ostos, Naiara Valtierra, Maite Salcedo, Marta Vidal y Natalia Ramos. Sin ellos este trabajo tampoco se hubiera podido realizar.

También aprecio enormemente la generosidad y predisposición de los responsables del grupo de Enfermedades Neurovasculares del Institut de Recerca Vall d'Hebron (VHIR), Joan Montaner y Anna Rosell, y de todo su equipo, que han prestado desinteresadamente espacios, equipos y reactivos para poder llevar a cabo el análisis de inmunoensayos. De este grupo quiero mencionar especialmente a Anna Penalba, Cristina Boada y Dolors Giralt que, además de contribuir en lo anteriormente escrito, me han asesorado en aspectos técnicos y en el análisis de datos de los ensayos realizados en su laboratorio. Gracias a todos ellos también por su hospitalidad, que ha hecho que me sintiera como si formara parte de su equipo, y por haber hecho agradables y amenas las horas que hemos compartido.

Además quiero mencionar la contribución del equipo técnico y facultativo de los Laboratorios Clínicos Vall d' Hebrón donde trabajo. En concreto agradezco mucho a Carme Perich su asesoramiento y participación en los estudios relacionados con el control de calidad y la variación biológica, y también aprecio mucho la aportación indirecta del personal del área automatizada de Bioquímica del turno de mañana y especialmente al del turno de tarde, en la determinación de algunas de las pruebas bioquímicas. Finalmente agradezco el apoyo de mucha otra gente del Área de Bioquímica, entre los cuales destaco a mi compañero de laboratorio José Antonio Arranz, por hacer que las horas que compartimos en el laboratorio sean agradables y estimulantes, y por la empatía que ha tenido en esta última etapa del trabajo. Además mi gratitud y aprecio hacia mis superiores Ernesto Casis y Dolors Pelegrí, que me han dado soporte en este proceso y que me han alentado a finalizarlo. La contribución de todos ellos ha facilitado la finalización de esta tesis.

Por último quiero nombrar a mi familia. A mis padres, que han sentado las bases de todos mis logros, y a mis hermanos Adela, Elena y Jesús por sentirlos siempre cerca. Finalmente, doy infinitas gracias a mi esposo Miquel, por su paciencia y generosidad, por respaldarme y alentarme en todo momento, y por su inestimable ayuda especialmente en la tediosa última etapa del trabajo, y sin la cual esta tesis no se hubiera podido finalizar. Y a mis hijos Gara y Gael, que son el motor y mi fuente de inspiración en todo momento.

Resumen

Los niveles urinarios de moléculas relacionadas con la activación del complemento y con el entorno inflamatorio local que inducen lesión renal han sido ampliamente estudiados como potenciales marcadores predictivos de severidad y pronóstico en la nefropatía IgA (NIgA). Sin embargo, el papel de estas moléculas como potenciales biomarcadores permanece poco definido por varias razones. Por un lado, la asociación entre los niveles de excreción urinaria de algunas de estas moléculas y sus respectivos depósitos mesangiales no ha sido analizada adecuadamente, y se desconoce la contribución de las moléculas implicadas en la vía de las lectinas a la activación del complemento en las células tubulares. Tampoco hay estudios que comparen la capacidad predictiva de la fibrosis intersticial entre varios marcadores urinarios de progresión de la lesión renal. Además, los datos disponibles se basan en medidas obtenidas en muestras de orina puntual, y no se ha analizado la exactitud de dichas medidas para estimar la excreción de orina de 24h. Por último, no se han estimado las fuentes de variación sujetas a dichas medidas, necesarias para interpretar correctamente los resultados y definir las especificaciones metodológicas.

Esta tesis proporciona nuevos datos a la literatura existente sobre estas moléculas, a través de cuatro estudios observacionales realizados en cohortes de pacientes con NIgA. Los estudios se centraron en las medidas de lectina de unión a manosa (MBL), C4d, C5b-9, properdina, interleucina 6 (IL-6), factor de crecimiento epidérmico (EGF), proteína quimioattractante de monocitos 1 (MCP-1) y factor de crecimiento transformante β 1 (TGF β - 1). Se evaluó la capacidad de los niveles urinarios de proteínas relacionadas con el complemento para identificar las vías locales del complemento activadas en las biopsias renales, así como la capacidad de los niveles urinarios de citoquinas y factores de crecimiento para predecir la extensión de fibrosis intersticial. También se analizó la exactitud de las medidas de EGF en orina puntual para predecir la excreción diaria de EGF. Finalmente, se estimaron las fuentes de variación sujetas a las medidas de EGF urinario.

Esta tesis concluye que la MBL urinaria contribuye a la activación del complemento por la vía de las lectinas en las células tubulares, y se asocia a la gravedad de la lesión tubulointersticial, por lo que podría considerarse como un potencial biomarcador de la severidad de la lesión renal en pacientes con NIgA. Además, los niveles urinarios de MBL y C4d podrían aplicarse en la práctica clínica como biomarcadores sensibles y específicos de la presencia de sus respectivos depósitos mesangiales. Los niveles urinarios de EGF, MCP-1 e IL-6 mejoran la capacidad predictiva de modelos que incluyen la el filtrado glomerular (FG) y la edad para estimar la fibrosis intersticial. La combinación de los niveles de MCP-1 y EGF, o de los niveles de MCP-1 e IL-6, proporcionan un poder predictivo similar y parecen ser los más apropiados para ser aplicados a la práctica clínica. Además, la exactitud de la ratio EGF/creatinina para predecir la excreción de 24 h depende del FG y del grado de fibrosis intersticial resultante. La excreción diaria de EGF se correlaciona más fuertemente con la fibrosis que la ratio EGF/creatinina y su determinación debería emplearse en estudios dirigidos a evaluar la excreción de EGF como un biomarcador pronóstico precoz en individuos con FG elevados, o en estudios diseñados para estimar la masa tubular en pacientes con enfermedad renal crónica avanzada. Por último, los resultados indican que en las medidas de la ratio EGF/creatinina debe aplicarse el valor de referencia del cambio (VRC) para evaluar un cambio clínico significativo en los pacientes. Además, deben emplearse distintos VRCs en función del grado de fibrosis intersticial y/o GFR.

Summary

Urinary levels of molecules related to the activation of complement and to the local inflammatory environment inducing renal injury have been widely studied as potential predictive markers of disease severity and prognosis in IgA nephropathy (IgAN). However, the role of these molecules as potential biomarkers remains poorly defined for several reasons. On one hand, the association between the urinary levels of some of these molecules and their respective mesangial deposits has not been adequately analyzed, and the contribution of molecules involved in the lectin pathway to complement activation in tubular cells is unknown. There are also no studies comparing the predictive ability of interstitial fibrosis among several urinary markers of renal injury progression. In addition, the data available are based on measurements obtained in spot-urine samples, and the accuracy of such measurements to estimate the 24h urine excretion has not been analyzed. Finally, the sources of variation subject to these measures have not been estimated, which are necessary to correctly interpret the results and define the methodological specifications.

This thesis provides new data to the existing literature on these molecules through four observational studies performed in cohorts of patients with IgAN. The studies were focused on measurements of mannose binding lectin (MBL), C4d, C5b-9, properdin, interleukin 6 (IL-6), epidermal growth factor (EGF), monocyte chemoattractant protein 1 (MCP-1) and transforming growth factor β 1 (TGF β -1). The ability of urinary levels of complement related proteins to identify the local complement pathways activated in kidney biopsies was assessed, as well as the ability of urinary levels of cytokines and growth factors to predict the amount of interstitial fibrosis. The accuracy of spot-urine EGF measurements to predict the daily EGF excretion was also analyzed. Finally, sources of variation subject to urinary EGF measurements were estimated.

This thesis concludes that urinary MBL contributes to the activation of complement by the lectin pathway in tubular cells and is associated with the severity of tubulointerstitial injury, and therefore could be considered as a potential marker of the severity of kidney injury in patients with IgAN. Urinary levels of MBL and C4d might be used in clinical practice as sensitive and specific biomarkers of the presence of their respective mesangial deposits. Results also show that urinary levels of EGF, MCP-1 and IL-6 improve the predictive ability of models including glomerular filtration rate (GFR) and age to estimate kidney interstitial fibrosis. The combination of MCP-1 and EGF levels, or MCP-1 and IL-6 levels, provide similar predictive power and appear to be the most appropriate to be applied in clinical practice. In addition, the spot EGF/creatinine ratio do not provide an adequate prediction of 24h excretion of EGF. In addition, the accuracy of the EGF/creatinine ratio to predict the 24h excretion depends on GFR and on the ensuing degree of interstitial fibrosis. Daily EGF excretion correlates more strongly with fibrosis than EGF/creatinine ratio, and its use is preferred both in studies that aim to analyze the value of EGF excretion as an early prognostic biomarker in individuals with high GFR values, as well as in those designed to estimate the tubular mass from urinary levels of EGF in patients with advanced chronic renal disease. Finally, the results show that in the EGF/creatinine ratio measurements the reference change value (RCV) should be applied to assess a clinically significant change in patients. In addition, different RCVs should be used depending on the degree of interstitial fibrosis and/or GFR.

Índice

Agradecimientos	1
Resumen	3
Índice	7
Lista de abreviaturas	11
Lista de Tablas	13
Lista de Figuras	14
Introducción	17
1. Conceptos generales: molécula IgA	17
1.1. Síntesis y estructura de la molécula IgA.....	17
1.2. Distribución de la IgA.....	19
1.3. Funciones de la IgA.....	20
1.4. Receptores de la IgA.....	21
2. Nefropatía IgA	23
2.1. Definición.....	23
2.2. Características demográficas.....	23

2.3. Epidemiología.....	23
2.4. Curso clínico.....	24
2.5. Patogenia.....	25
2.5.1. Alteración de la estructura molecular de la IgA1.....	26
2.5.2. Formación de inmunocomplejos circulantes que contienen IgA1 alterada.....	29
2.5.3. Depósito mesangial de los inmunocomplejos circulantes.....	31
2.5.4. Activación de la célula mesangial.....	32
2.5.5. Progresión de la lesión mesangial hacia insuficiencia renal crónica.....	35
2.6. Formas de presentación clínica.....	39
2.7. Características anatomopatológicas.....	41
2.8. Diagnóstico.....	44
2.9. Tratamiento.....	47
2.10. Factores pronósticos.....	50
2.10.1. Factores pronósticos demográficos.....	50
2.10.2. Factores pronósticos clínicos.....	50
2.10.3. Factores pronósticos histológicos.....	52
2.11. Limitaciones de los factores pronósticos. Justificación de la búsqueda de nuevos biomarcadores predictivos en la NIgA.....	55
2.12. Nuevos biomarcadores predictivos en la NIgA.....	55
2.12.1. Biomarcadores relacionados con IgA1 alterada.....	56
2.12.2. Biomarcadores relacionados con la activación del complemento.....	58
2.12.3. Biomarcadores relacionados con la progresión de la lesión renal.....	60
2.12.4. Otros biomarcadores.....	63
2.13. Aplicación de los biomarcadores urinarios predictivos en la NIgA a la práctica clínica: Utilidad clínica de los niveles urinarios medidos en orina puntual y en orina de 24h, y aplicaciones de la estimación de la variación biológica.....	65
3. Hipótesis.....	68
Desarrollo.....	71
4. Objetivos.....	71
4.1. Primer objetivo.....	71
4.2. Segundo objetivo.....	71
4.3. Tercer objetivo.....	72
4.4. Cuarto objetivo.....	73

5. Metodología	74
5.1. Metodología empleada para el análisis del primer objetivo.....	74
5.1.1. Pacientes y diseño del estudio.....	74
5.1.2. Determinaciones bioquímicas.....	75
5.1.3. Estudio anatomopatológico de las biopsias renales.....	75
5.1.4. Análisis estadístico.....	76
5.2. Metodología empleada para el análisis del segundo objetivo.....	76
5.2.1. Pacientes y diseño del estudio.....	76
5.2.2. Determinaciones bioquímicas.....	77
5.2.3. Estudio anatomopatológico de las biopsias renales.....	78
5.2.4. Análisis estadístico.....	78
5.3. Metodología empleada para el análisis del tercer objetivo.....	79
5.3.1. Pacientes y diseño del estudio.....	79
5.3.2. Determinaciones bioquímicas.....	79
5.3.3. Estudio anatomopatológico de las biopsias renales.....	80
5.3.4. Análisis estadístico.....	80
5.4. Metodología empleada para el análisis del cuarto objetivo.....	81
5.4.1. Pacientes y diseño del estudio.....	81
5.4.2. Determinaciones bioquímicas.....	82
5.4.3. Estudio anatomopatológico de las biopsias renales.....	83
5.4.4. Análisis estadístico.....	83
 Resultados, discusión y conclusiones	 85
 6. Resultados	 85
6.1. Resultados referentes al primer objetivo.....	85
6.2. Resultados referentes al segundo objetivo.....	93
6.3. Resultados referentes al tercer objetivo.....	99
6.4. Resultados referentes al cuarto objetivo.....	104
 7. Discusión	 107
 8. Conclusiones	 118
8.1. Conclusiones del primer objetivo.....	118

8.2. Conclusiones del segundo objetivo.....	119
8.3. Conclusiones del tercer objetivo.....	120
8.4. Conclusiones del cuarto objetivo.....	121
8.5. Conclusiones finales.....	121
Referencias	124
Certificado de dirección	147

Lista de Abreviaturas

ASGPR: Receptor de asialoglicoproteína

CD71: Receptor de transferrina

C1GalT1: β -1,3-galactosiltransferasa

EGF: Factor de crecimiento epidérmico

ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay): Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas

Fc α RI: Receptor para el fragmento Fc de la IgA

FG: Filtrado glomerular

FGe: Filtrado glomerular estimado

HSPN: Púrpura de Schönlein-Henoch

IC: Inmunocomplejos

IgA_{galdef}: IgA hipogalactosilada o deficiente en galactosa

II: Índice de individualidad

MBL: Lectina de unión a manosa

MCP-1: Proteína quimioattractante de monocitos 1

MEC: Matriz extracelular

NIgA: Nefropatía IgA

pIgA: IgA polimérica

pIgR: Receptor de pIgA

SC: Componente secretor

SCR: Receptor del componente secretor

sIgA: IgA secretora

ST6GALNAC2: α -2,6-sialiltransferasa-II

TG: Transglutaminasa

TGF β -1: Factor de crecimiento transformante β 1

VB: Variación biológica

VRC: Valor de referencia del cambio

VRP: Valor de referencia poblacional

Lista de Tablas

Tabla 2.1. Datos clínicos de la NIgA.....	41
Tabla 2.2. Elementos recomendados para el estudio anatomopatológico de la biopsia renal.....	44
Tabla 2.3. Enfermedades asociadas a depósito mesangial IgA	46
Tabla 2.4. Recomendaciones y sugerencias para el tratamiento de la NIgA	49
Tabla 2.5. Factores pronósticos en la NIgA.....	54
Tabla 6.1.1. Características clínicas, bioquímicas y anatomopatológicas de los pacientes con NIgA dependiendo de la presencia o ausencia de depósitos mesangiales de C4d o MBL en las biopsias renales, y del grupo control.....	86
Tabla 6.1.2. Matriz de correlaciones entre variables clínicas, bioquímicas e histopatológicas.....	88
Tabla 6.1.3. Predictores independientes de los cocientes properdina/creatinina C4d/creatinina, MBL/creatinina y C5b9/creatinina en orina mediante análisis de regresión múltiple.....	89
Tabla 6.2.1. Características clínicas, bioquímicas e histopatológicas de los enfermos con NIgA.....	93
Tabla 6.2.2. Matriz de correlaciones entre variables clínicas, bioquímicas e histopatológicas.....	94
Tabla 6.2.3. Niveles urinarios de IL-6, MCP-1, TGF β -1 y EGF en los enfermos con NIgA, clasificados según los criterios de Oxford.....	95
Tabla 6.2.4. Predictores independientes de los concentraciones de IL-6, MCP-1, TGF β -1 y EGF en orina en los modelos de regresión múltiple	96
Tabla 6.2.5. Modelos predictivos de la extensión de la lesiones de fibrosis intersticial mediante análisis de regresión múltiple	97
Tabla 6.2.6. Modelo de regresión logística para estimar la probabilidad de presentar fibrosis grado T1-T2 de Oxford en la biopsia renal.....	98
Tabla 6.2.7. Calibración del modelo logístico por categorías de riesgo, mediante la prueba de Hosmer-Lemeshow.....	98
Tabla 6.3.1. Características clínicas, bioquímicas e histopatológicas de los pacientes con NIgA.....	99

Tabla 6.3.2. Variables asociadas con las diferencias entre la ratio EGF/creatinina y la excreción de EGF de 24h en el análisis de regresión simple (a) y múltiple (b)	102
Tabla 6.3.3. Precisión, sesgo y exactitud de la ratio EGF/creatinina en la predicción de la excreción de EGF de 24 h en el conjunto total de la población y después de clasificar a los pacientes de acuerdo con los terciles de FG	103
Tabla 6.4.1. Características clínicas, bioquímicas e histopatológicas de los pacientes con NlgA al inicio del estudio	104
Tabla 6.4.2. Componentes de la variación total y parámetros derivados obtenidos de la excreción urinaria de EGF	104
Tabla 6.4.3. Predictores independientes de la excreción urinaria de EGF en el análisis de regresión múltiple	105
Tabla 6.4.4. Efecto del FG (a) y FIB (b) sobre la excreción de EGF y sobre los componentes de la variación	106

Lista de Figuras

Figura 1.1. Diferentes O-glicofomas existentes en la región bisagra de la IgA1	18
Figura 1.2. IgA1 dimérica plasmática	19
Figura 2.1. Progresión de la lesión mesangial hacia la lesión tubulointersticial	38
Figura 2.2. Imágenes características de biopsias de enfermos afectados de nefropatía IgA	43
Figura 2.3. Mecanismo patogénico de la NlgA y su relación con algunos de los potenciales biomarcadores predictivos de la actividad y/o pronóstico de la enfermedad	56
Figura 6.1.1. Imágenes de tinciones inmunohistoquímicas representativas de la presencia de depósitos mesangiales de MBL, C4d, properdina, C3 y C5b-9	87
Figura 6.1.2. Diagramas de dispersión entre el cociente proteinuria/creatinina y los niveles urinarios de MBL, D4d, C5b-9 y properdina	90
Figura 6.1.3. Análisis capacidad predictiva de los niveles de C4d en orina para la identificación de la presencia de depósitos mesangiales de C4d mediante curva ROC	91
Figura 6.1.4. Análisis capacidad predictiva de los niveles de MBL en orina para la identificación de la presencia de depósitos mesangiales de MBL mediante curva ROC	92

Figura 6.3.1. Recta de regresión de Passing-Bablok entre las medidas de la ratio EGF/creatinina y las medidas de EGF de 24h 100

Figura 6.3.2. Gráfico de Bland-Altman. Análisis de la concordancia entre las medidas de la ratio EGF/creatinina y las medidas de EGF de 24h 101

Introducción

1. Conceptos generales: molécula IgA

1.1. Síntesis y estructura de la molécula IgA

La molécula de IgA humana se secreta en las células B durante la semana 11 después del nacimiento, en contraposición a las células secretoras de moléculas IgG e IgM, que son de aparición más temprana. Los niveles séricos de IgA son normalmente indetectables en el nacimiento y los niveles del adulto se alcanzan aproximadamente en la pubertad. La IgA se divide en 2 subclases: IgA1 y IgA2. La diferencia principal entre ambas subclases reside en que la IgA1 contiene una región bisagra constituida por una secuencia de 13 aminoácidos entre los dos dominios constantes de las cadenas pesadas, de la cual carece la IgA2. La subclase IgA1 además presenta cadenas de carbohidratos en la región bisagra unidas, mediante enlaces de O, a los aminoácidos de Thr o Ser (Woof and Kerr, 2006). Esta diferencia en la estructura de la IgA1 respecto a la de IgA2 explica la resistencia de IgA2 a la acción de proteasas bacterianas y su predominio en las secreciones mucosas. Ambas subclases, IgA1 e IgA2, presentan cadenas de carbohidratos unidos, mediante enlaces de N, a aminoácidos de Asn.

La síntesis de O-glicanos en la región bisagra de la IgA1 tiene lugar por la acción de varias glicosiltransferasas que actúan de forma secuencial. En primer lugar la enzima UDPGalNAc:polipéptido transferasa une un residuo GalNAc mediante enlace O-glicosídico a los aminoácidos Ser o Thr situados en la región bisagra de la molécula IgA1 (Iwasaki et al., 2003), aunque recientemente se ha descubierto que otras transferasas también pueden iniciar la O-glicosilación a partir de GalNAc (Horynova et al., 2013). En el siguiente paso la enzima β -1,3-galactosiltransferasa (C1GalT1), dependiente de la chaperona Cosmc, une una Gal con enlace β -1,3 al residuo GalNAc terminal (Ju et al., 2002; Ju and Cummings,

2002). Finalmente, la enzima α -2,3-sialiltransferasa puede actuar, o no, uniendo ácido siálico a la galactosa terminal (Novak et al., 2015; Monteiro, 2005). También se puede unir una unidad de ácido siálico al residuo GalNac mediante enlace α -2,6, por la acción de la α -2,6-sialiltransferasa-II (ST6GALNAC2) (Novak et al., 2015).

Se ha demostrado que existe heterogeneidad de la O-glicosilación de la IgA1 (Novak et al., 2000; Tarelli et al., 2004) y que las distintas glicofomas existentes de IgA1 circulante son producidas por el número de sitios que ocupan los O-glicanos (hasta 6 sitios) y por la composición de carbohidratos que constituye cada O-glicano unido a Ser/Thr (Figura 1.1).

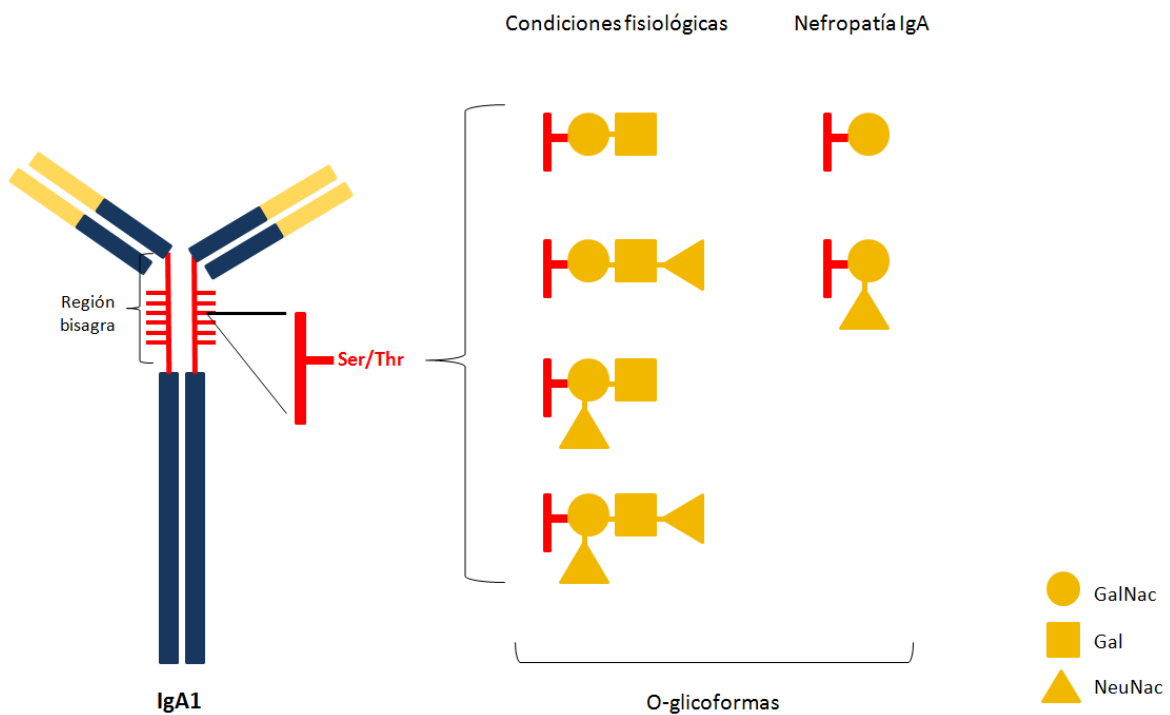


Figura 1.1. Diferentes O-glicofomas existentes en la región bisagra de la IgA1

1.2. Distribución de la IgA

La IgA se distribuye en el organismo en dos compartimentos diferenciados. El plasma y las mucosas.

La IgA sintetizada en secreciones mucosas (sIgA) está constituida por la cadena J y es polimérica, mayoritariamente dimérica. En este compartimento pueden encontrarse las subclases IgA1 o IgA2, dependiendo de la localización del tejido mucoso: en el tracto respiratorio y gastrointestinal la IgA se encuentra mayoritariamente IgA1, mientras que en el intestino delgado y tracto genital femenino prevalece la subclase IgA2. El resto de secreciones mucosas (saliva, lagrimas o leche materna) contiene aproximadamente la misma proporción de IgA1 que de IgA2 (Mestecky et al., 2005).

La IgA dimérica que contiene la cadena J se secreta en la lamina propia. Ésta se une de forma covalente en el polo basal de la célula epitelial a un receptor específico para la IgA polimérica (pIgR) formando un complejo dímero de IgA/RR, que se internaliza y transporta hacia el polo luminal, donde el complejo se rompe por la acción de proteasas, de forma que sIgA está constituida por el dímero de IgA unido a un fragmento del receptor llamado componente secretor (CS) (Monteiro and Van De Winkel, 2003).

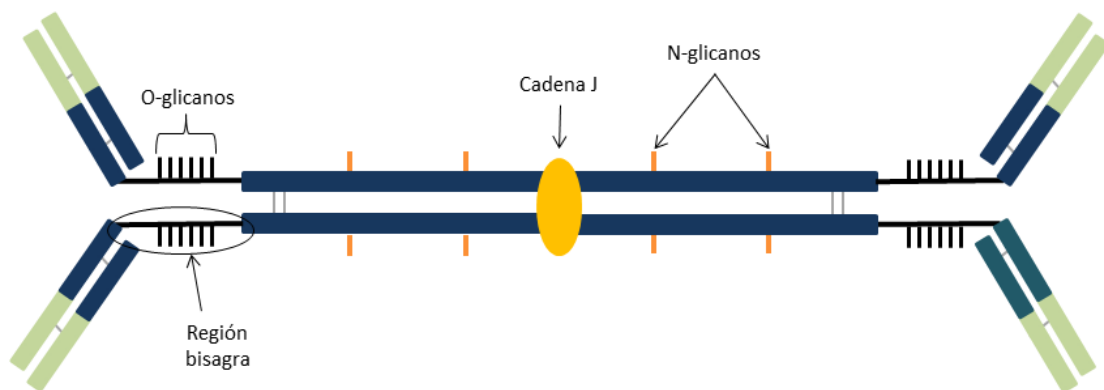


Figura 1.2. IgA1 dimérica plasmática

La IgA plasmática se genera principalmente en las células B en la médula ósea y algunos órganos linfoides periféricos (Kutteh et al., 1982; Crago et al., 1984). La IgA plasmática constituye una quinta parte de la cantidad total de inmunoglobulinas, debido a su catabolismo rápido. En individuos sanos, la subclase predominante en suero es IgA1 en forma monomérica (90%), existiendo un porcentaje menor de IgA polimérica (pIgA), normalmente formando dímeros (Kutteh et al., 1982) (figura 1.2).

1.3. Funciones de la IgA

La sIgA juega un papel principal en la inmunidad innata protegiendo las superficies mucosas (respiratoria, gastrointestinal, genitourinaria) de la invasión de distintos patógenos. Actúa por varios mecanismos distintos. El mecanismo principal de acción de la sIgA es la exclusión inmune, que previene la adhesión de patógenos a las células huésped de forma que la sIgA liberada en el lumen interacciona con los antígenos y evita su diseminación. Otro posible mecanismo es la neutralización, por parte de pIgA, de antígenos que han penetrado en la lamina propia, y su excreción a través de la barrera epitelial por transcitosis vía pIgR en forma de inmunocomplejos (IC), minimizando de esta forma la carga de los mismos en la circulación. Además pIgA puede neutralizar antígenos intracelulares durante el transporte transepitelial mediado por pIgR, y excretarlos en forma de IC a la superficie mucosa. Otros mecanismos posibles son la neutralización intracelular del lipopolisacárido de las bacterias gram negativas vía pIgA, bloqueando la respuesta inflamatoria mediada por NF- κ B; o la neutralización de antígenos y quimioquinas proinflamatorias en la superficie mucosa y lamina propia por parte de los carbohidratos del componente SC o de la sIgA (Monteiro and Van De Winkel, 2003; Corthésy, 2010; Woof and Kerr, 2006). La sIgA se considera una molécula relativamente antiinflamatoria ya que no fija ni activa el complemento eficientemente, contribuyendo a la preservación de la integridad de las superficies mucosas (Monteiro and Van De Winkel, 2003).

La IgA monomérica plasmática tiene actividad antiinflamatoria, ya que es capaz de inhibir funciones como la fagocitosis mediada por IgG, la actividad bactericida, estrés oxidativo o liberación de citoquinas (Kerr, 1990). Un argumento a favor de las propiedades antiinflamatorias de la IgA plasmática es que la deficiencia de IgA está relacionada con alergia y autoinmunidad (Jacob et al., 2008). No obstante, dependiendo del tipo y de la

estructura, la IgA, también puede actuar como molécula pro-inflamatoria en procesos patogénicos (Pabst, 2012).

1.4. Receptores de la IgA

La IgA se puede unir a distintos tipos de receptores que pueden ser expresados en distintos tipos de células. Los receptores descritos en la actualidad para la molécula IgA1 son Fc α RI (CD89), Fc α / μ R, receptor de transferrina (CD71 o TfR), receptor específico del SC (SCR), receptor de asialoglicoproteína (ASGPR) y receptor específico para la IgA polimérica (pIgR).

El receptor para el fragmento Fc de la IgA humano (Fc α RI) se halla expresado en neutrófilos, eosinófilos, algunos monocitos y macrófagos, células dendríticas intersticiales y células de Kupffer. En sangre, la mayoría de células que expresan Fc α RI son neutrófilos, mientras que en la mucosa intestinal y genitourinaria los macrófagos no expresan Fc α RI (Woof and Kerr, 2006; Monteiro and Van De Winkel, 2003). La estructura de Fc α RI es una cadena alfa de constituida por dos dominios extracelulares, una región transmembrana y una cola citoplasmática corta, carente de patrones de señalización. El sitio de unión está localizado en el dominio extracelular distal a la membrana (EC1) del receptor donde se une a la interfase de los dominios Ca2 y Ca3 de IgAFc (Woof and Kerr, 2006; Monteiro and Van De Winkel, 2003). Fc α RI presenta poca afinidad por la IgA monomérica y se une más eficientemente a IgA polimérica. También se une débilmente, aunque específicamente, a sIgA. Fc α RI puede ir o no asociado a FcR γ en el lado citoplasmático. FcR γ contiene el patrón de señalización ITAM (immunoreceptor tyrosine-based activation motif), el cual está constituido por dos secuencias Tyr-X-X-Leu separadas por 7 aminoácidos. Cuando Fc α RI se asocia con la subunidad FcR- γ se forma el trímero Fc α RI α / γ γ y se inicia la fosforilación de FcR γ -ITAM's. Esto produce el reclutamiento de una serie de tirosin quinasas, desencadenando una cascada de señalización que culmina en el ensamblaje de un complejo adaptador multimolecular capaz de regular la señalización (Woof and Kerr, 2006; Monteiro and Van De Winkel, 2003). Cuando Fc α RI no se asocia a FcR γ , actúa reciclando mIgA. Cuando se asocia, puede producir respuesta inhibitoria o activadora, dependiendo del tipo de ligando al que se une. Estos dos tipos de funciones contrapuestas están mediadas por ITAM. De esta forma, ITAM induce la inhibición celular en respuesta a la unión a de mIgA a Fc α RI, mientras que cuando pIgA se une a Fc α RI, ITAM induce activación celular, dando lugar a un amplio abanico de respuestas biológicas, que incluyen citotoxicidad celular

dependiente de anticuerpos (ADCC), fagocitosis, liberación de citoquinas, generación de superóxidos, movilización del Ca, degranulación, y presentación de antígeno (Woof and Kerr, 2006). Es decir Fc α RI tiene una función dual, dependiendo del ligando al que se le una.

Otro receptor descrito es Fc α / μ R, el cual se expresa en la mayoría de linfocitos B y macrófagos en ratón, y ha sido identificado también en humano. Se expresa en órganos linfoides secundarios, por lo que participa en la inmunidad sistémica y mucosa. El receptor Fc α / μ R puede unirse a IgA e IgM (Monteiro and Van De Winkel, 2003). Se ha descrito que Fc α / μ R murino media la endocitosis de bacterias opsonizadas con IgM por parte de las células B. De la misma forma el receptor podría desencadenar la captación microorganismos opsonizados con IgA (Woof and Kerr, 2006). Se han identificado transcritos Fc α / μ R en células mesangiales humanas, expresados por la acción de citoquinas proinflamatorias como IL-1, sugiriendo que dicho receptor juega un papel regulador durante a inflamación (Monteiro and Van De Winkel, 2003).

El receptor de transferrina (CD71) también se ha descrito como receptor de IgA, concretamente de IgA1 polimérica. Este receptor puede expresarse en las células mesangiales. En concreto, se halla hiperexpresado en enfermos afectados de nefropatía IgA, y se ha sugerido que este receptor puede estar asociado con los depósitos renales de IgA (Woof and Kerr, 2006).

El receptor específico del SC (SCR) une SC y sIgA pero no IgA plasmática. Desencadena degranulación y producción de superóxido en los eosinófilos (Woof and Kerr, 2006; Monteiro and Van De Winkel, 2003).

El receptor asialoglicoproteína (ASGPR) se expresa en hepatocitos y reconoce residuos terminales de Gal en glicoproteínas séricas, incluyendo IgA, donde se une para internalizarla y degradarla. Este mecanismo de degradación representa la ruta mayoritaria de aclaramiento de IgA plasmática (Monteiro and Van De Winkel, 2003).

Finalmente, pIgR transporta pIgA (dimérica) hacia las secreciones mucosas y participa en varios mecanismos de transporte de antígenos localizados en la lamina propia o intracelulares para ser excretados a la mucosa (Woof and Kerr, 2006).

2. Nefropatía IgA

2.1. Definición

La nefropatía IgA (NIgA) es una enfermedad glomerular caracterizada por depósitos mesangiales de IgA con morfología granular asociada a proliferación de células y matriz mesangial, y clínicamente caracterizada por presencia de hematuria microscópica, asociada o no a proteinuria, y a episodios de hematuria macroscópica (Berger and Hinglais, 1968).

2.2. Características demográficas

Las manifestaciones clínicas se inician mayoritariamente en la segunda y tercera década de la vida (D'Amico, 2004) con una mayor proporción de hombres que de mujeres (Geddes et al., 2003) y mayor proporción en raza blanca y asiática que en raza negra (Jennette et al., 1985; Seedat et al., 1988).

En España, la NIgA se diagnostica mayoritariamente entre los 20 y 60 años de edad y el 75% de los pacientes son varones (Registro español de glomerulonefritis, 2014).

2.3. Epidemiología

La NIgA es la glomerulonefritis primaria más frecuente en casi todo el mundo. Existen diferencias en la prevalencia de la enfermedad según el área geográfica estudiada. En términos de prevalencia (expresada en porcentaje de casos respecto al total de glomerulonefritis primarias o porcentaje de casos respecto al total de biopsias renales), la prevalencia global estimada en Asia, Australia y Europa occidental corresponde a alrededor del 35%, 20%, y 25%, respectivamente, a excepción del Reino Unido y Holanda donde se sitúa alrededor del 10% y 5% respectivamente. Las prevalencias menores registradas se encuentran en el norte de EEUU (alrededor del 5%, exceptuando la prevalencia registrada en los indios americanos de Nuevo México del 38%) y en Canadá (alrededor del 10%) (D'Amico, 1987; Julian et al., 1988; Smith and Tung, 1985). En términos de incidencia, la

incidencia estimada en Europa (Francia, Holanda, Alemania e Italia) es de 15 a 40 nuevos casos por millón de población por año. En EEUU, la incidencia estimada es de 12 casos por millón de población por año (Donadio and Grande, 2002).

En España, un 16% de las biopsias renales que se realizan son diagnosticadas como NIgA, siendo la causa más frecuente de enfermedad renal biopsiada en adultos (Registro español de glomerulonefritis, 2014).

2.4. Curso clínico

La NIgA es una enfermedad muy heterogénea, en cuanto a los hallazgos histopatológicos encontrados, la presentación clínica, progresión clínica, pronóstico y respuesta al tratamiento.

El curso clínico es muy variable, observándose desde presentaciones completamente benignas con buen pronóstico a largo plazo (Gutiérrez et al., 2012) hasta enfermos que desarrollan insuficiencia renal terminal (Donadio and Grande, 2002; Le et al., 2012a). La mayoría de pacientes mantienen la función renal estable presentando lesiones renales mínimas durante décadas, e incluso algunos llegan a remitir parcial o completamente. En algunos casos la remisión es espontánea (Hotta et al., 2002; D'Amico, 2004). No obstante, en un porcentaje significativo de pacientes se observa una progresión lenta a insuficiencia renal, caracterizada morfológicamente por la expansión y proliferación mesangial gradual en el tiempo hacia esclerosis mesangial. En algunos casos los pacientes progresan rápidamente con creatinina sérica elevada, glomerulosclerosis y fibrosis intersticial en la biopsia (D'Amico, 2004). En el momento del diagnóstico muchos pacientes ya presentan un grado avanzado de la enfermedad, con hipertensión, proteinuria y/o función renal disminuida. El curso clínico en la infancia se suele seguir desde la etapa temprana de la enfermedad, y en estos casos las lesiones observadas en la biopsia renal no suelen ser severas. El porcentaje de remisión espontánea en la población pediátrica es variable dependiendo de las variables clínicas, histológicas y demográficas en el momento del diagnóstico (Shima et al., 2013; Coppo et al., 2017).

La supervivencia renal a los 10 años en la mayoría de los estudios realizados en Europa, Asia y Australia es del 81-87% (D'Amico, 2004). Estudios previos en población

pediátrica han dado estimaciones de supervivencia del 95% a los 10 años del diagnóstico (a edades inferiores a 15 años) (Kusumoto et al., 1987) y del 87% a los 10 años del diagnóstico (a edades inferiores a 18 años) (Wyatt et al., 1995). No obstante, un estudio reciente indica que a edades inferiores a 18 años la supervivencia estimada a los 15 años después del diagnóstico es del 94% (Coppo et al., 2017). Existe una variabilidad en la supervivencia dependiendo de la zona geográfica de estudio. En las regiones con políticas de detección precoz de la enfermedad se suelen reclutar enfermos con progresión más lenta (Geddes et al., 2003).

En adultos, la presencia de insuficiencia renal en el momento del diagnóstico, la hipertensión arterial, la proteinuria persistentemente superior a 1 g/24h y lesiones de esclerosis glomerular y/o intersticial en la biopsia, han sido identificados como predictores independientes fuertemente asociados a la evolución a insuficiencia renal terminal.

2.5. Patogenia

A pesar de los avances recientes en el conocimiento de la NIgA, hasta la fecha no se ha encontrado mecanismo patológico común que explique el desarrollo de la enfermedad, lo que indica que probablemente no debe haber un solo tipo de NIgA, sino varias entidades con mecanismo patogénico, curso clínico y respuesta al tratamiento distintos, y que tienen en común el depósito mesangial de IgA.

La NIgA se caracteriza por la presencia de depósitos mesangiales de IgA1. Existen evidencias que sugieren que el origen de la patogenia se encuentra en las alteraciones estructurales de la molécula IgA1 que producen cambios en las propiedades fisicoquímicas de la molécula que favorecen el depósito mesangial: por un lado, el hecho de que algunos enfermos con NIgA trasplantados vuelvan a tener depósitos de IgA1 mesangiales (Odum et al., 1994), y de que en algunos individuos trasplantados con riñones de donante con NIgA subclínica desaparezcan los depósitos de IgA1 (Silva et al., 1982), hace pensar que los depósitos mesangiales de IgA1 tienen un origen extra-renal. Por otro lado, hasta la fecha, no se ha encontrado ningún antígeno específico por el que la IgA1 se deposite en el glomérulo. La hipótesis actual más establecida indica que el desarrollo de la NIgA se puede dividir en cinco etapas principales (figura 2.3):

- 2.5.1. Alteración de la estructura molecular de la IgA1
- 2.5.2. Formación de inmunocomplejos circulantes que contienen IgA1 alterada
- 2.5.3. Depósito mesangial de los inmunocomplejos circulantes
- 2.5.4. Activación de la célula mesangial
- 2.5.5. Progresión de la lesión mesangial hacia insuficiencia renal crónica

2.5.1. Alteración de la estructura molecular de la IgA1

El hecho de que los depósitos de IgA en los enfermos con NIgA sean mayoritariamente de la subclase IgA1 y no de la IgA2, ha producido que la mayor parte de los análisis dirigidos a elucidar la estructura molecular de IgA en dichos enfermos se haya centrado en la región bisagra de la IgA1.

No obstante, no se ha encontrado un método ideal para purificar la IgA1 en pacientes con NIgA. Muchos estudios sobre la O-glicosilación de la IgA1 purifican la IgA1 con columna de Jacalina unida a agarosa. La Jacalina es una lectina específica de Gal-1,3-GalNAc. Esto introduce un sesgo de antemano ya que al querer purificar IgA1 de pacientes con NIgA, la Jacalina aislará fundamentalmente la IgA1 que contenga dichos residuos terminales, por lo que gran cantidad de IgA1 aberrantemente glicosilada (existe un porcentaje mayor de IgA hipogalactosilada en enfermos con NIgA) no queda retenida en la columna y no puede aislarse adecuadamente para su posterior estudio. La cromatografía de afinidad con anticuerpos anti IgA no es un método adecuado para purificar la IgA1, ya que para eluir la IgA se requiere un eluyente ácido, que degrada los residuos carbohidratos de la IgA1. Un método alternativo consiste en separar distintas fracciones mediante distintas columnas de afinidad que tengan inmovilizadas lectinas específicas para distintos residuos (Amore et al., 2001). No obstante, los métodos basados en lectinas también tienen sus limitaciones, tanto para aislar fracciones como para caracterizar las O-glicofomas de la IgA1. Se ha observado que algunas lectinas no son específicas y no sólo se unen a IgA1 sino que también lo hacen a IgA2 e IgG. Además se han observado diferencias en la capacidad de unión de una misma lectina dependiendo del fabricante y del método utilizado para el análisis (western blot o ELISA) (Moore et al., 2007).

A pesar de las limitaciones técnicas existentes para aislar la IgA en dichos enfermos, varios estudios, basados en distintas técnicas de análisis, han analizado la estructura de los

O-glicanos en la molécula IgA1 en pacientes con NIgA, llegando a la misma conclusión, que la región bisagra de la molécula IgA1 tiene un patrón de glicosilación alterado en comparación con los controles, concretamente se halla hipogalactosilada y/o desializada, tanto en suero (Allen et al., 1995; Moldoveanu et al., 2007; Allen et al., 1999; Hiki et al., 1998; Barrat et al., 2007) como en los depósitos glomerulares de IgA1 (Hiki et al., 2001; Allen et al., 2001; Giannakakis et al., 2007; Novak et al., 2007). En dichos enfermos, la alteración de O-glicosilación se restringe a la IgA1 y no se ha encontrado en otras proteínas séricas. Además, existe heterogeneidad de las O-glicofomas de la molécula IgA1.

Existen dos hipótesis principales acerca del origen de la alteración estructural de IgA1 sérica hallada en pacientes con NIgA:

Por un lado, se ha demostrado que las células B plasmáticas de pacientes con NIgA secretan principalmente IgA polimérica deficiente en galactosa (IgA_{galdef}) (Suzuki et al., 2008), y varios estudios apuntan hacia una disfunción postranscripcional, es decir una disfunción de las galactosiltransferasas que intervienen en la O-glicosilación de la molécula IgA1. En este sentido, se ha encontrado que la expresión mRNA y/o la actividad de C1GalT1, o la expresión de Cosmc está disminuida (Allen et al., 1997; Qin et al., 2005; Suzuki et al., 2008), mientras que la expresión y la actividad de α -2,6-sialiltransferasa (ST6GALNAC2) está aumentada en pacientes con NIgA (Suzuki et al., 2008). Recientemente se ha demostrado que el miARN-148b y el miARN Let-7b pueden estar asociados a una disminución de la expresión de C1GalT1 y de UDPGalNAc:polipéptido transferasa (Serino et al., 2012). Estos resultados justificarían la producción de IgA1 hipogalactosilada por déficit de actividad O-galactosilación y/o por hipersialización prematura. Otros estudios presentan distintos resultados relacionados con la regulación de las glicosiltransferasas. Por un lado se ha descrito que la expresión de mRNA de ST6GALNAC2 en linfocitos B está disminuida en pacientes con NIgA y se asocia con la disminución de ácido siálico de la IgA1 sérica en los pacientes (Ding JX et al., 2008). Otros estudios han identificado polimorfismos en los genes de la C1GALT1 asociadas a la susceptibilidad de NIgA (Li et al., 2007a; Pirulli et al., 2009). También se ha descrito que el haplotipo ADG en la región promotora de ST6GALNAC2 presenta una frecuencia aumentada en pacientes con NIgA (Li et al., 2007b), y que existe asociación entre dos haplotipos de genes que codifican ambas glicosiltransferasas (C1GALT1/ST6GALNAC2) y predisposición a NIgA (Zhu et al., 2009). Se ha sugerido que algunas citoquinas podrían contribuir, a través de la desregulación de las enzimas β -1,3-galactosiltransferas y la α -2,3-

sialiltransferasa, a la disminución de la galactosilación de la molécula IgA1 (Yamada et al., 2010; Suzuki et al., 2014).

Por otro lado, el hecho de que algunos pacientes tengan episodios de hematuria macroscópica después de una infección de vías altas sugiere que la IgA1 anómala podría provenir de mucosas, puesto que la IgA del tracto gastrointestinal respiratorio superior es polimérica y de la subclase IgA1. Los resultados obtenidos en algunos estudios coinciden con esta hipótesis. En primer lugar, hay estudios que demuestran que algunos pacientes con NIgA presentan depósitos de sIgA en el mesangio (Oortwijn et al., 2007). Además, se ha encontrado que tanto en pacientes con NIgA como en controles hay un incremento de IgA hipoglicosilada circulante cuando ésta se expone a antígeno de mucosas en comparación a cuando se expone a antígeno sistémico, sugiriendo que se producen distintas glicoformas dependiendo del lugar de exposición del antígeno, y que el hecho de encontrar una proporción significativa incrementada de IgA1 hipoglicosilada en suero de pacientes con NIgA indica un desplazamiento de las células B del compartimento de mucosas al compartimento sistémico (Smith et al., 2006). Otros datos que apoyan esta hipótesis indican que la IgA1 anómala circulante de enfermos afectados de NIgA puede provenir de mucosas porque dicha molécula comparte algunas características de IgA1 de mucosas, como la estructura polimérica (Barratt et al., 1999; Layward et al., 1993; Leinikki et al., 1987; Ots et al., 1999), el hecho de que está constituida por cadena J (Tomana et al., 1999), y es de baja afinidad (Layward et al., 1994). Esta hipótesis se refuerza con datos de algunos estudios, los cuales no han encontrado diferencias en la actividad C1GalT1/Cosmc o en la expresión de mRNA en estos pacientes (Buck et al., 2008), que han descrito que la expresión de mRNA de ST6GALNAC2 en linf B está disminuida en pacientes con NIgA (Ding JX et al., 2008), o que no han encontrado polimorfismos en el gen C1GALT1C1 asociados a la susceptibilidad de NIgA (Li et al., 2009). Los resultados obtenidos en este conjunto de estudios podrían sugerir que en la NIgA existen otros factores, distintos de las glicosiltransferasas, que intervienen en la distinta O-glicosilación de la IgA1, y que la IgA1 anormalmente glicosilada no es debida a un defecto en la capacidad de O-glicosilación de la molécula sino que es un reflejo de la situación inmunológica en la que es producida.

En enfermos con NIgA, la alteración en la estructura de la IgA1 y la prevalencia de las distintas O-glicoformas circulantes existentes pueden influir en la formación de IC y agregados circulantes patológicos, y consecuentemente en el grado de deposición mesangial y la posterior activación celular e inflamación glomerular. Asimismo las distintas

O-glicofomas podrían influir tanto en la presentación como en la progresión de la enfermedad en cada caso individual. Se desconoce si el patrón de glicosilación es constante o cambia con el tiempo (Barrat et al., 2007).

2.5.2. Formación de inmunocomplejos circulantes que contienen IgA1 alterada

Varios estudios han demostrado que, en enfermos con NIgA, la IgA1 sérica estructuralmente alterada puede formar IC por varios mecanismos inmunológicos y no inmunológicos:

Por un lado, la alteración estructural provoca cambios fisicoquímicos que pueden inestabilizar la molécula y formar complejos por autoagregación (Kokubo et al., 1998; Kokubo et al., 1997).

También se han propuesto otros mecanismos inmunológicos de formación de IC, por reconocimiento del epítipo GalNac de la IgA1 hipogalactosilada por parte de IgG o IgA1 circulante (Tomana et al., 1999; Suzuki et al., 2009; Hiki et al., 1996; Novak et al., 2007). En este sentido se ha identificado una mutación de sustitución de alanina por serina en la región Fab de los anticuerpos IgG de enfermos afectados de NIgA, la cual incrementa la afinidad de IgG por la IgA1 hipogalactosilada respecto la IgG de controles que no presentan la mutación (Suzuki et al., 2009). No obstante, también se han detectado anticuerpos IgG contra IgA1 en individuos sanos, probablemente producidos en respuesta a la exposición de residuos GalNac en la superficie de algunos virus y bacterias durante procesos infecciosos (Cisar et al., 1995), aunque se desconoce si estos anticuerpos tienen la misma especificidad que las IgG específicas contra la IgA1 hipogalactosilada hallada en el suero de estos enfermos (Jackson et al., 1987; Jackson, 1988). El origen de estos anticuerpos específicos contra IgA1 estructuralmente alterada es desconocido, aunque se especula que podrían originarse por mutación somática durante la respuesta inmune, o ser producidos en respuesta a virus o bacterias que expresan GalNac en su superficie. No obstante, en una cantidad significativa de enfermos con NIgA no se encuentran depósitos de IgG en las biopsias renales (Nasri, 2013).

Otros estudios han encontrado anticuerpos contra lectinas de origen alimentario en pacientes con NIgA, sugiriendo que estas lectinas podrían formar complejos circulantes con IgA1 (Coppo et al., 1989; Rostoker et al., 1989). En concreto un estudio experimental indicó

que la gliadina era capaz de unirse directamente a los complejos circulantes IgA1-sFcαRI, amplificando su tamaño (Smeurd et al., 2009). Otros estudios han demostrado que en enfermos con NlgA se forman complejos circulantes de IgA con proteínas de matriz extracelular (MEC) (van der Wall Bake et al., 1992; Davin et al., 1991).

Finalmente, se ha evidenciado que FcαRI también está implicado en la formación y/o amplificación de los complejos circulantes de IgA1. La IgA polimérica interacciona con el receptor de membrana linfomonocitario FcαRI, y desprende el dominio extracelular del receptor, generándose un complejo circulante pIgA1-FcαRI (Monteiro et al., 2002). En enfermos con NlgA se han observado niveles aumentados de FcαRI soluble formando parte de los complejos circulantes, y niveles de expresión disminuidos de FcαRI libre de subunidad y en la membrana de las células circulantes (Grossetête et al., 1998; Launay et al., 2000). El hecho de que en enfermos con NlgA se hayan detectado depósitos mesangiales de pIgA1-FcαRI podría explicar por qué, en pacientes con NlgA progresiva, los niveles circulantes de pIgA1-FcαRI son superiores a los pacientes con NlgA no progresiva (Robert et al., 2015). Algunos estudios experimentales han corroborado el papel de FcαRI en la patogénesis de la NlgA (Launay et al., 2000). Se ha desarrollado un modelo de ratón doble transgénico, que expresa IgA1 y FcαRI humanas, el cual desarrolla espontáneamente fenotipo de IgAN, con niveles circulantes y depósitos mesangiales de IgA1-FcαRI, inflamación, hematuria y proteinuria. Estos resultados indican que los complejos IgA1-FcαRI son nefritogénicos (Berthelot et al., 2012). FcαRI también está implicado en la progresión de la lesión renal hacia insuficiencia renal crónica, ya que juega un papel importante como mediador de la infiltración leucocitaria intersticial.

La presencia de IgA hipoglicosilada formando parte de complejos circulantes no puede explicar por sí sola la aparición de NlgA, debido a que familiares directos de enfermos con NlgA presentan niveles elevados de IgA1 hipogalactosilada y no desarrollan dicha enfermedad (Gharavi et al., 2008), y debido a que en aproximadamente un 20% de los enfermos con NlgA no se detectan niveles de IgA1 hipogalactosilada. En estos casos, los mecanismos que causan el depósito renal de IgA no son conocidos.

2.5.3. Depósito mesangial de los inmunocomplejos circulantes

El siguiente paso en la vía patogénica del desarrollo de la NIgA es la deposición mesangial de IC circulantes y su interacción con las células mesangiales.

Las macromoléculas circulantes formadas que contienen IgA1 galactosiladas persisten en la circulación porque no pueden ser fácilmente degradadas por el hígado, bien debido a que el gran tamaño de los complejos formados imposibilita el acceso al receptor ASGPR a través del endotelio fenestrado, o bien porque el receptor no puede reconocer los residuos de la molécula IgA1 porque el acceso está impedido por la unión de IgG (Novak et al., 2002). Los complejos circulantes acaban accediendo al área mesangial ya que el endotelio fenestrado de los capilares glomerulares es mayor, permitiendo la entrada y deposición de los mismos al mesangio renal. Una gran parte de las IgA depositada en el mesangio es del tipo IgA1 y se presenta en forma de varios IC (Novak et al., 2007; Launay et al., 2000; Kokubo et al., 1998).

Se ha demostrado experimentalmente que los IC circulantes presentan más afinidad por las células mesangiales en los pacientes con NIgA en comparación a los controles (Wang Y et al., 2004; Novak et al., 2002). Sin embargo, hasta la fecha no se ha encontrado ningún antígeno específico por el que la IgA1 se deposite en el glomérulo, por lo que hay estudios que se han centrado en investigar posibles interacciones fisicoquímicas de IgA1 con el mesangio. El depósito mesangial de IC que contienen IgA1 hipogalactosilada resulta favorecido por la afinidad de los mismos por los componentes de matriz mesangial como fibronectina, laminina o colágeno (Kokubo et al., 1998; Coppo et al., 1993), o por la interacción con receptores mesangiales específicos (Robert et al., 2015; Novak et al., 2015). Respecto a la interacción con receptores mesangiales específicos de complejos que contienen IgA hipogalactosilada, estudios *in vitro* han demostrado que las células mesangiales unen e internalizan los IC circulantes que contienen IgA hipoglicosilada de pacientes con NIgA con más afinidad que los IC circulantes de controles sanos, IgA hipogalactosilada libre o IgA normal (Duque et al., 1997) y se ha sugerido que la unión de estos IC a las células mesangiales se produce a través receptores específicos de IgA1 (Novak et al., 2002; Monteiro, 2005). FcαRI y/o ASGPR han sido propuestos como receptores específicos de IgA1, pero hasta la fecha no se ha podido demostrar ninguno de los dos (Gómez-Guerrero et al., 1993; Gómez-Guerrero et al., 1998; Bagheri et al., 1997; Kashem et al., 1997; Diven et al., 1998; Westerhuis et al., 1999; Leung et al., 2000; Barrat et

al., 2000; Novak et al., 2002). CD71 ha sido identificado en células mesangiales como receptor específico de IgA, responsable del depósito de IgA1 mesangial. Su expresión se ha encontrado incrementada en enfermos de NIgA en comparación a controles, colocaliza con los depósitos mesangiales de IgA1 (Moura et al., 2001) y presenta mayor afinidad por pIgA1 hipogalactosilada de pacientes con NIgA (Moura et al., 2004). No obstante, otros estudios han encontrado sobreexpresión de CD71 en glomérulo de enfermos con otras glomerulopatías que presentan depósitos de IgA, de lo que se deduce que la expresión elevada de CD71 en el glomérulo no es específica de la NIgA (Haddad et al., 2003). También se ha demostrado experimentalmente, con un modelo de doble transgénico de ratón que expresa IgA1 y Fc α RI humanos, que CD71 interacciona con los complejos circulantes IgA1-Fc α RI mediante la unión específica con Fc α RI, induciendo la sobreexpresión de CD71 y de transglutaminasa (TG) en la superficie de la célula mesangial. La sobreexpresión de TG a su vez produce la sobreexpresión de CD71 (Berthelot et al., 2012). Los datos de este estudio concuerdan con estudios previos en los que se ha encontrado que la TG se encuentra sobreexpresada en el mesangio de pacientes con NIgA, y que además se relaciona con el desarrollo de la fibrosis intersticial y que su nivel de expresión correlaciona con la severidad de la enfermedad (Shweke et al., 2008; Ikee et al., 2007). Otro receptor específico candidato del depósito de IC que contienen IgA en la NIgA es Fc α / μ R. Estudios in vitro han demostrado que Fc α / μ R se expresa en células mesangiales humanas, se une a IgA y IgM, y se sobreexpresa por la acción de IL-1 producida por monocitos infiltrados o por células locales glomerulares (McDonald et al., 2002). No obstante el papel de dicho receptor en la unión de complejos circulantes en enfermos afectados de NIgA permanece desconocida.

Por otro lado, se ha descrito que alrededor del 15% de los pacientes con NIgA se observan depósitos de sIgA, y éstos colocalizan con depósitos de MBL y C4d (Oortwijn et al., 2007). El mecanismo de depósito de la sIgA en el mesangio renal permanece desconocido.

2.5.4. Activación de la célula mesangial

Varios estudios han encontrado, mediante distintos experimentos con glicofomas aberrantes de IgA1 sintetizadas o aisladas de enfermos con NIgA, que los IC depositados activan las células mesangiales produciendo la proliferación de las mismas (Novak et al.,

2005; Wang Y et al., 2004; Novak et al., 2007). Otros estudios contradicen estos resultados indicando que la IgA1 procedente de pacientes con NlgA provoca una disminución de la proliferación de las células mesangiales e incrementa la apoptosis (Amore et al., 2001). Estos distintos resultados podrían explicarse si se tiene en cuenta que características como la composición o el tamaño de los IC circulantes pueden afectar de forma distinta a la activación de las células mesangiales (Novak et al., 2005). También hay que tener en cuenta que las glicoformas aberrantes de IgA1 utilizadas en estos estudios para analizar la activación de las células mesangiales, se obtienen de formas distintas y tienen tamaño y estructura distinta, pudiendo afectar los resultados obtenidos y dificultar la comparación entre estudios. Además los IC depositados pueden inducir en las células mesangiales la expresión de citoquinas como el factor de crecimiento transformante β 1 (TGF β -1) (Wang Y et al., 2004), interleucina 6 (IL-6) (van den Dobbelsteen et al., 1994a), interleucina 1 (IL-1), factor de necrosis tumoral α (TNF- α), (Haddad et al., 2003; Amore et al., 1993) o inhibidor de la migración de macrófagos (MIF) (Leung et al, 2003); factores de crecimiento como el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) (Gesualdo et al., 1994; Boor et al., 2014) quimioattractantes como la proteína quimioattractante de monocitos (MCP-1), interleucina 8 (IL-8) o proteína inflamatoria de macrófagos 1 (MIP-1) (Duque et al., 1997); factores vasoactivos como prostaglandinas, tromboxanos, leucotrienos, endotelina, PAF o NO; así como disminuir la expresión del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF) (Amore et al., 2000), aumentar la secreción de componentes de MEC (Wang Y et al., 2004), modular la expresión de integrinas (Peruzzi et al., 2000), o activar el sistema del complemento, jugando un papel como mediadores en el proceso del desarrollo y la progresión de la enfermedad.

Los mecanismos inductores principales propuestos de la activación de la célula mesangial a partir del depósito de IgA son la interacción de IgA1 polimérica con receptores mesangiales específicos y la activación del complemento a través de la vía alternativa o de las lectinas.

Activación a través de receptores mesangiales específicos

Como se ha comentado previamente, algunos estudios indican que, en enfermos con NlgA, la plgA induce la sobreexpresión de CD71, la liberación de citoquinas y la proliferación celular (Moura et al., 2005; Tamouza et al., 2012). En concreto, un estudio experimental ha demostrado que Fc α RI, aislado o formando parte de complejos que contienen IgA1, es

capaz de unirse directamente a CD71 e induce la sobreexpresión de CD71 mesangial, así como la proliferación de células mesangiales, secreción de citoquinas proinflamatorias, aumento de infiltración leucocitaria y activación del complemento. Se ha identificado la enzima TG como mediadora en este proceso, formando parte de un loop de amplificación de respuesta patogénica. Concretamente, TG se sobreexpresa secundariamente tras la interacción de los complejos IgA1-Fc α RI con CD71. TG a su vez induce la sobreexpresión de CD71 y estabiliza la interacción de los complejos IgA1-Fc α RI con el receptor CD71. TG colocaliza con la IgA depositada y, en ausencia de TG, se reducen significativamente los depósitos de IgA1, disminuye la expresión de CD71 y no se desarrolla la disfunción renal (Berthelot et al., 2012).

Activación del sistema del complemento

La activación del complemento en la NIgA puede originarse localmente en el glomérulo tras la deposición mesangial de los IC. En los pacientes con NIgA, los depósitos mesangiales de IgA1 se asocian frecuentemente a depósitos mesangiales de factores del complemento de la vía alternativa, C3 (>90%), factor H (30-90%) y properdina (75-100%), así como con depósitos mesangiales de factores del complemento de la vía de las lectinas, MBL (17-25%), MASP-1 y MASP-2 y C4d (Maillard et al., 2015). Varios estudios han demostrado que las células mesangiales activadas producen un aumento de los componentes de la vía alternativa C3 y factor H (van den Dobbelen et al., 1994b; Wan et al., 2007; Tomino et al., 1981). Otro estudio indica que los productos de activación de la vía alternativa, C3a y C5a, en las células mesangiales pueden inducir la síntesis de DAF (Cosio et al., 1994; Abe et al., 1998). Por otro lado, la vía de las lectinas también puede estar implicada en la NIgA. Varios estudios indican que algunos pacientes con NIgA presentan depósitos de MBL asociados a IgA, que codepositan con L-ficolin, MASP y/o C4d (Roos et al., 2006; Endo et al., 1998), en ausencia de C1q. Aunque se ha demostrado que MBL se puede unir a IgA polimérica circulante (Roos et al., 2006; Roos et al., 2001) activando C3 y C4 (Roos et al., 2001) e indicando que al menos una parte del depósito de MBL y L-ficolin podría provenir de los niveles circulantes de complejos ya preformados con MASP, no se puede excluir que puede haber una producción local de moléculas derivadas de la activación de la vía de las lectinas en el mesangio, por la interacción directa de MBL con el glomérulo lesionado. Todos estos datos sugieren que, en enfermos afectados de NIgA, el complemento se activa localmente través de la vía alternativa o la vía de las lectinas, que estas dos vías no son mutuamente

excluyentes, y que el complemento juega un papel importante en la patogénesis y desarrollo de la NIgA.

No obstante, existen evidencias de que el complemento también puede activarse a través de los IC circulantes por la vía alternativa. En primer lugar, se han encontrado niveles séricos aumentados de fragmentos derivados de la fragmentación de C3 en pacientes con NIgA (Wyatt et al., 1987; Zwirner et al., 1997). En segundo lugar, mediante análisis proteómico de IC circulantes en enfermos con NIgA y generados *in vitro*, se han detectado los productos derivados de la fragmentación de C3b i C3bBb (iC3b, C3c, C3dg y C3d) en fracciones de elevada masa molecular, indicando que los IC tienen una superficie activadora en la que se une C3bBb (Maillard et al., 2013).

2.5.5. Progresión de la lesión mesangial hacia insuficiencia renal crónica

La hipótesis predominante sobre el mecanismo de progresión de lesión renal en la NIgA establece que las células mesangiales activadas por el depósito de IgA estructuralmente alterada, liberan mediadores de inflamación que alteran la barrera de filtración glomerular e inducen la lesión podocitaria (Lai et al., 2009), permitiendo su paso al túbulo y activando las células epiteliales tubulares proximales (Lai et al., 2005). La proteinuria producida por la pérdida de integridad de la barrera de filtración glomerular también juega un papel importante en la progresión de la lesión tubulointersticial. Cuando la proteinuria es masiva, la gran carga filtrada al lumen tubular es captada por los lisosomas de las células epiteliales tubulares, los cuales liberan agentes tóxicos (Remuzzi, 1999). Además, entre las proteínas que pasan a la luz tubular, se encuentran moléculas capaces de activar la cascada del complemento en el polo luminal de las células tubulares. En concreto, la properdina, componente activador de la vía alternativa del complemento, se produce en enfermos afectados de NIgA por la activación de la vía alternativa en la célula mesangial activada, y pasa a la luz tubular, activando la vía alternativa en las células tubulares, y contribuyendo a la inducción de la lesión tubulointersticial (Gaarkeuken et al., 2008; Zaferani et al., 2011). Las células epiteliales tubulares activadas a su vez también liberan mediadores de inflamación y mediadores quimiotácticos produciendo infiltración y amplificando la respuesta inflamatoria (Ong and Fine, 1994a; Fine et al., 1993; Ong and Fine, 1994b; Abboud, 1993; Gesualdo et al., 1995). La infiltración leucocitaria y la inflamación inducen el aumento de síntesis de MEC, que en última instancia produce la fibrosis intersticial. La lesión

tubulointersticial juega un papel principal en la progresión de la enfermedad renal a insuficiencia renal terminal, y es un proceso común e independiente de la causa inicial de nefropatía (figura 2.1).

Entre los mediadores potencialmente implicados en la progresión de la lesión de la NIgA, se pueden destacar la IL-6, MCP-1 y el TGF β -1. El factor de crecimiento epidérmico (EGF), específico de las células tubulares, también ha sido ampliamente estudiado. Estas moléculas han cobrado mucho interés en este campo en los últimos años.

El TGF β -1 es una citoquina multifuncional perteneciente a la familia TGF, y es la isoforma predominante en humanos. Es secretada por varios tipos celulares entre los que destacan macrófagos, linfocitos plaquetas o células endoteliales. TGF β -1 está implicado en varios procesos, dependiendo del contexto fisiológico en el que se encuentra, como la proliferación celular, diferenciación, apoptosis, respuesta inmune y remodelación de la MEC (Roberts and Sporn, 1993; Lawrence, 1995). TGF β -1 está implicado en el desarrollo de la fibrosis renal progresiva. Induce la síntesis de MEC e inhibe la degradación de la misma, activa los miofibroblastos e induce la liberación de colágeno a la MEC (Goumenos et al., 2001; Meng et al., 2013). También juega un papel importante en la regulación de la inflamación renal, a través de la inducción de MCP-1, y está implicado en la apoptosis de las células epiteliales tubulares, células endoteliales, podocitos, así como en la proliferación de fibroblastos renales (Meng et al., 2013). En enfermos afectados de NIgA, la expresión de TGF β -1 está incrementada en células mesangiales y endoteliales, células epiteliales tubulares y células del infiltrado intersticial (Taniguchi et al., 1999a).

La MCP-1 pertenece a la familia de las citoquinas quimiotácticas CC y se localiza mayoritariamente en células endoteliales, fibroblastos y células mononucleares. Su expresión aumenta por la acción de varias citoquinas (IFN- α/β , IL-1 β , IFN- γ , TNF- α , IL-4, M-CSF, GM-CSF, PDGF, TGF β -1), IC o componentes exógenos. Su función principal más conocida es el reclutamiento de monocitos mediante adhesión y extravasación a través del endotelio vascular, aunque también participa en otros procesos como la memoria inmunológica, la inducción de la liberación de diversas enzimas e histamina, o la inducción de la expresión de moléculas de adhesión (Kim and Tam, 2011). En enfermos afectados de NIgA, es una de las moléculas directamente implicadas en el reclutamiento de leucocitos al intersticio renal y se encuentra sobreexpresada en células parietales glomerulares, células

tubulares corticales y células mononucleares infiltradas (Yokoyama et al., 1998; Sun et al., 2009; Kim and Tam, 2011; Grandaliano et al., 1996)

La IL-6 es una citoquina multifuncional que puede ser secretada por monocitos, células T, fibroblastos, células epiteliales, células endoteliales y células mesangiales (Ruef et al., 1990; Bauer et al., 1988; Kirnbauer et al., 1989; Sironi et al., 1989; Van Snick et al., 1986; Weissenbach et al., 1980), y que puede actuar sobre varios tipos celulares aumentando la proliferación celular (Ruef et al., 1990; Koike et al., 1988; Hodgkin et al., 1988; Aarden et al., 1987), regulando la respuesta de fase aguda en el hígado (Gauldie et al., 1987) o mediando la diferenciación de células B en células secretoras de anticuerpos (Muraguchi et al., 1988). La expresión renal de IL-6 en la NIgA está aumentada en células mesangiales, en células del túbulo proximal y células del infiltrado intersticial (Taniguchi et al., 1999b; Tomino et al., 1991; Ruef et al., 1990).

La EGF se secreta en el Asa ascendente de Henle y en el túbulo contorneado distal. Actúa como factor trófico de las células epiteliales tubulares renales, regenerando el tejido tras una lesión tubular (Humes et al., 1989; Yen et al., 2015). En pacientes con lesiones tubulointersticiales, incluida la NIgA, la expresión de EGF se encuentra disminuida en el Asa de Henle y el túbulo contorneado distal (Gesualdo et al., 1996; Ranieri et al., 1996).

Paralelamente, el receptor Fc α RI linfomonocitario juega un papel principal en la progresión de la lesión hacia insuficiencia renal crónica. Fc α RI no solo está implicado en el depósito mesangial de complejos nefritogénicos en la NIgA, sino que, a través de los IC y otros complejos circulantes, también es un mediador de la progresión de la enfermedad a través de la activación e infiltración de leucocitos hacia el intersticio. Como se ha comentado previamente, mientras que la interacción de Fc α RI con mIgA induce inhibición celular, la interacción con pIgA1 induce activación celular de los leucocitos. De esta forma, en enfermos con NIgA, la pIgA circulante se une a Fc α RI de membrana y, a través de la subunidad FcR γ que contiene ITAM se produce una respuesta proinflamatoria, provocando la activación de células mononucleares de la sangre periférica, las cuales migran hacia el mesangio renal guiadas a su vez por los quimioattractantes liberados por las células mesangiales activadas (Kanamaru et al., 2007). La infiltración leucocitaria es la inductora de la lesión intersticial y juega un papel principal en la progresión y cronificación de la lesión hacia fibrosis.

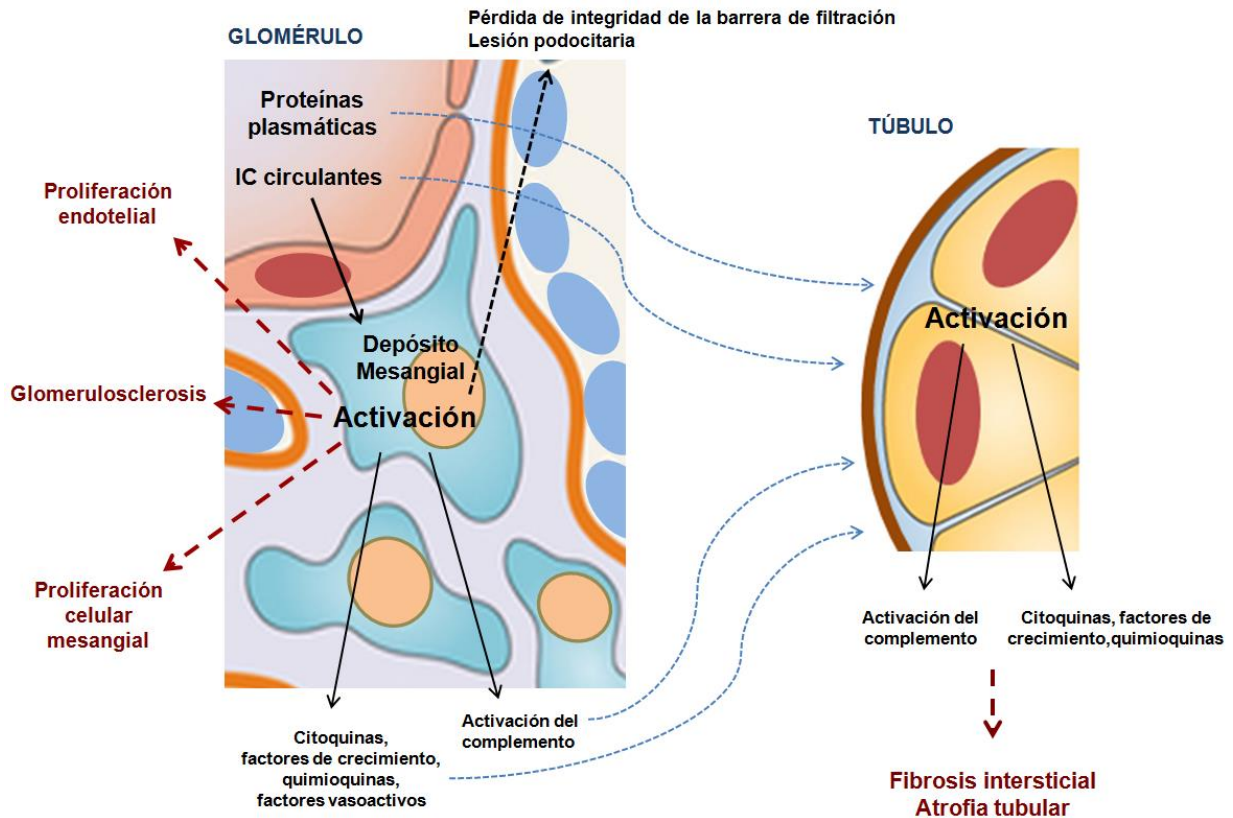


Figura 2.1. Progresión de la lesión mesangial hacia la lesión tubulointersticial. El depósito de IC circulantes que contienen IgA estructuralmente alterada activa las células mesangiales, las cuales liberan mediadores de inflamación, factores de crecimiento o quimioquinas que alteran la barrera de filtración glomerular e inducen la lesión podocitaria. Los mediadores producidos tras la activación de la célula mesangial, que incluye así como las proteínas plasmáticas pasan a la luz tubular por la pérdida de integridad de la barrera de filtración glomerular. Entre las proteínas que pasan a la luz tubular, también se pueden encontrar moléculas del sistema del complemento producidas tras la activación de la célula mesangial, o los propios IC circulantes. Los distintos componentes que constituyen la proteinuria generada por estos mecanismos activan las células tubulares, las cuales a su vez también liberan mediadores de inflamación, factores de crecimiento, activan el sistema del complemento, y liberan mediadores quimiotácticos, produciendo infiltración y amplificando la respuesta inflamatoria, induciendo el aumento de síntesis de MEC que en última instancia produce la fibrosis intersticial.

2.6. Formas de presentación clínica

Previamente se ha comentado que existe una gran variabilidad en la presentación clínica de la enfermedad. Datos concretos indican que los enfermos afectados de NIgA presentan niveles elevados de creatinina entre el 2 y 59% de los casos, hipertensión entre el 6 y el 49% de los casos, proteinuria rango nefrótico entre el 1 y el 33% de los casos, y episodios de hematuria macroscópica entre el 20 y el 78% de los casos (D'Amico, 2004). La presentación clínica más común en adultos es la hematuria microscópica asociada o no a proteinuria superior a 1g/24h. Ocasionalmente se pueden producir episodios de hematuria macroscópica intermitente y recurrente, que coinciden con infecciones del tracto respiratorio superior o gastroenteritis. En pacientes adultos la proteinuria raramente se encuentra en el rango de síndrome nefrótico (>3.5g/24h). La insuficiencia renal aguda es poco frecuente, se desarrolla esporádicamente en casos de lesión inflamatoria severa con formación de semilunas, o asociada a episodios de hematuria macroscópica (Coppo and D'Amico, 2005). En población pediátrica, las formas de presentación clínica y las lesiones histológicas suelen ser menos severas que las encontradas en los adultos. Las formas de presentación clínica más comunes son la hematuria microscópica o los episodios recurrentes de hematuria macroscópica. Raramente presentan hipertensión (D'Amico, 2004; Hisano and Hueda, 1989).

En España (Registro español de glomerulonefritis, 2014), las formas de presentación clínica más comunes son las siguientes (tabla 2.1):

Alteraciones urinarias asintomáticas

La mayoría de los pacientes adultos cursan con alteraciones urinarias asintomáticas (39.9%), es decir, microhematuria asociada a proteinuria no nefrótica. Las alteraciones urinarias suelen detectarse en controles clínicos sistemáticos, son persistentes y en algunos casos se asocian con algún episodio de hematuria macroscópica a lo largo de su evolución.

Hematuria macroscópica

Alrededor de un 9.4% de los pacientes adultos presentan un cuadro de hematuria macroscópica que aparece después de una infección de vías respiratorias superiores o tras una gastroenteritis. En algunos pacientes, la amigdalectomía, el ejercicio físico, las extracciones dentales y las vacunaciones son factores precipitantes. Puede haber dolor lumbar por distensión de la cápsula renal, mialgias, astenia, febrícula y disuria. No suele

asociarse a oliguria, edemas, hipertensión ni deterioro de la función renal. Todo el cuadro clínico remite espontáneamente en menos de una semana. En los intervalos asintomáticos persiste la microhematuria, la proteinuria moderada o ambas.

Síndrome nefrótico

El síndrome nefrótico se observa en el 12.7% de los casos y puede aparecer sin hipertensión ni deterioro de la función renal y sustrato morfológico de riñón ópticamente normal, posiblemente, como una variante del síndrome nefrótico idiopático, o asociado a insuficiencia renal crónica e hipertensión arterial, en el contexto de lesiones glomerulares evolucionadas.

Insuficiencia renal aguda

Un 11.5% de los enfermos debutan con un cuadro de insuficiencia renal aguda. Esta situación puede deberse a una proliferación extracapilar en más del 50% de los ovillos, como ocurre en las glomerulonefritis rápidamente progresivas. En otras ocasiones coincide con un brote de hematuria macroscópica típico de esta enfermedad, con lesiones predominantemente tubulares (necrosis, cilindros hemáticos ocluyendo la luz) y glomérulos poco alterados. En estos casos, a pesar de la aparente gravedad del cuadro suele haber recuperación espontánea de la función renal, ya que las lesiones son debidas al efecto tóxico reversible de la hemoglobina u otros productos liberados por los hematíes sobre las células del epitelio tubular.

El resto de los pacientes se diagnostican al estudiar la causa de una insuficiencia renal crónica o bien tras presentar un síndrome nefrótico agudo. Aunque la presión arterial es normal en la mayoría de los enfermos en el momento del diagnóstico, la prevalencia de hipertensión es más elevada comparada con los sujetos normales de igual edad y sexo. Un porcentaje muy bajo de enfermos debutan con hipertensión arterial acelerada-maligna, similar a las de origen esencial.

Algunos pacientes con NIgA pueden desarrollar al cabo de cierto tiempo un cuadro sistémico de HSNP. Estas dos entidades tienen las mismas alteraciones histológicas e inmunohistoquímicas y una patogenia similar.

En resumen, en España la presentación clínica más frecuente en adultos es la hematuria microscópica, mientras que en mayores de 65 años la presentación clínica más común es la insuficiencia renal aguda, seguido del síndrome nefrótico.

Tabla 2.1. Datos clínicos de la NIgA. Registro español de glomerulonefritis. Período 1994-2013

Características clínicas	Población total n = 2919	15-65 años	> 65 años
Sexo (% H)	75.1		
Hipertensión arterial (%)	52.8		
Edad (años)	41.0±17.6	40.1±13.1	72.9±5.2
Creatinina sérica (mg/dl, mediana)	2.1±2.2	2.0±1.9	3.4±3.0
Proteinuria (g/24h, mediana)	2.5±2.6	2.5±2.5	2.9±2.8
MDRD4	60.2±45.2	55.8±32.1	29.3±21.0
Síndromes más frecuentes			
Alteraciones urinarias asintomáticas (%)	37.7	39.9	18.9
Hematuria macroscópica (macroscópica/microscópica)	11.8	9.4	0.3
Síndrome nefrótico (%)	13.2	12.7	17.9
Insuficiencia renal aguda (%)	11.5	9.8	34.7
Insuficiencia renal crónica (%)	16.7	18.2	16.5
Síndrome nefrítico (%)	6.9	6.9	8.4

2.7. Características anatomopatológicas

El estudio anatomopatológico de la biopsia renal incluye la descripción de los patrones histológicos observados mediante inmunofluorescencia, inmunohistoquímica, microscopía electrónica y microscopía óptica. El estudio debe realizarse en un mínimo número de glomérulos para minimizar los falsos negativos y maximizar la fiabilidad de los resultados.

El diagnóstico de la NIgA se realiza con la detección por inmunofluorescencia de depósitos mesangiales de IgA, que son patognomónicos y se distribuyen difusamente, con patrón granular, en los ejes mesangiales en todos los glomérulos, y en menor proporción en las paredes capilares glomerulares (Berger and Hinglais, 1968; Wyatt and Julian, 2013). El

depósito de IgA puede ir o no acompañado de depósitos de IgG o IgM mesangiales (Haas M, 2007; Berthoux et al., 2012). También se observan depósitos de factores del complemento. Los depósitos de C3 y properdina se observan prácticamente en todos los casos (Wyatt, 1993; Miyazaki et al., 1984; Rauterberg et al., 1987), y también es frecuente encontrar depósitos de MBL, C4, C4d (Endo et al., 1998; Roos et al., 2006; Maeng et al., 2013; Espinosa et al., 2014), habitualmente en ausencia de C1q.

La microscopía electrónica confirma la presencia de los depósitos en los ejes mesangiales, así como en los espacios subendoteliales y subepiteliales (Biondo et al. 1995; Danilewics and Wagrowska-Danilewicz, 1996; Haas M, 2007).

La clasificación de la lesión histopatológica se realiza mediante microscopía óptica. Los cambios histológicos observados pueden ser variables tanto según el paciente estudiado, como dentro de una misma muestra biopsiada. Además, el estudio de los cambios histológicos con los sistemas de clasificación existentes, previos a la introducción del consenso internacional Oxford en 2009 (Roberts et al., 2009; Cattran et al., 2009), ha sido dificultoso. Estos sistemas en general utilizan distintos criterios de selección de variables histológicas, definiciones imprecisas, y sin previa evaluación de la reproducibilidad de las variables histológicas evaluadas. Todo ello hace que la evaluación de la lesión renal sea difícil de aplicar y poco reproducible. A raíz de estas dificultades, se desarrolló un consenso internacional de clasificación de las variables histológicas observadas en la NIgA (sistema de clasificación Oxford), que seleccionó aquellas variables con una definición más precisa, más reproducibles y más fáciles de identificar en la práctica clínica, con el fin de estandarizar la clasificación y el grado de severidad de los patrones histológicos observados.

Los cambios histopatológicos glomerulares más comunes hallados en pacientes con NIgA son el incremento de MEC mesangial y la hiper celularidad mesangial. Otras lesiones que se pueden observar son la esclerosis segmentaria debido al aumento de la MEC, afectando a una parte del glomérulo; las adhesiones (área de continuidad entre el ovillo glomerular y la cápsula de Bowman) que suelen incluirse como lesiones de esclerosis glomerular; la hiper celularidad endocapilar; y la necrosis glomerular, la cual es poco común y su observación es poco reproducible al microscopio óptico. Por otro lado también puede observarse proliferación extracapilar celular o fibrocelular, en función de si la lesión incluye o no MEC: La presencia de semilunas es poco frecuente (proliferación extracapilar que afecta mínimo al 25% de la circunferencia glomerular) y se asocia a NIgA rápidamente progresiva. A nivel tubular, las lesiones observadas más comunes son la fibrosis intersticial y la atrofia

tubular, que indican el aumento de la MEC intertubular y el porcentaje de túbulos que presentan disminución del diámetro de la luz tubular. La inflamación intersticial indica la infiltración de células inflamatorias en el córtex intersticial. Estas últimas lesiones tubulares son más características de enfermedad renal crónica avanzada. Otras lesiones tubulares poco frecuentes, observadas en los pacientes con hematuria macroscópica e insuficiencia renal aguda secundaria son la necrosis tubular con necrosis de células epiteliales y cilindros celulares que obstruyen la luz tubular. En estos pacientes no suelen observarse apenas lesiones glomerulares. Finalmente, en los vasos puede aparecer hialinosis arteriolar, aunque es una lesión muy poco común en estos enfermos.

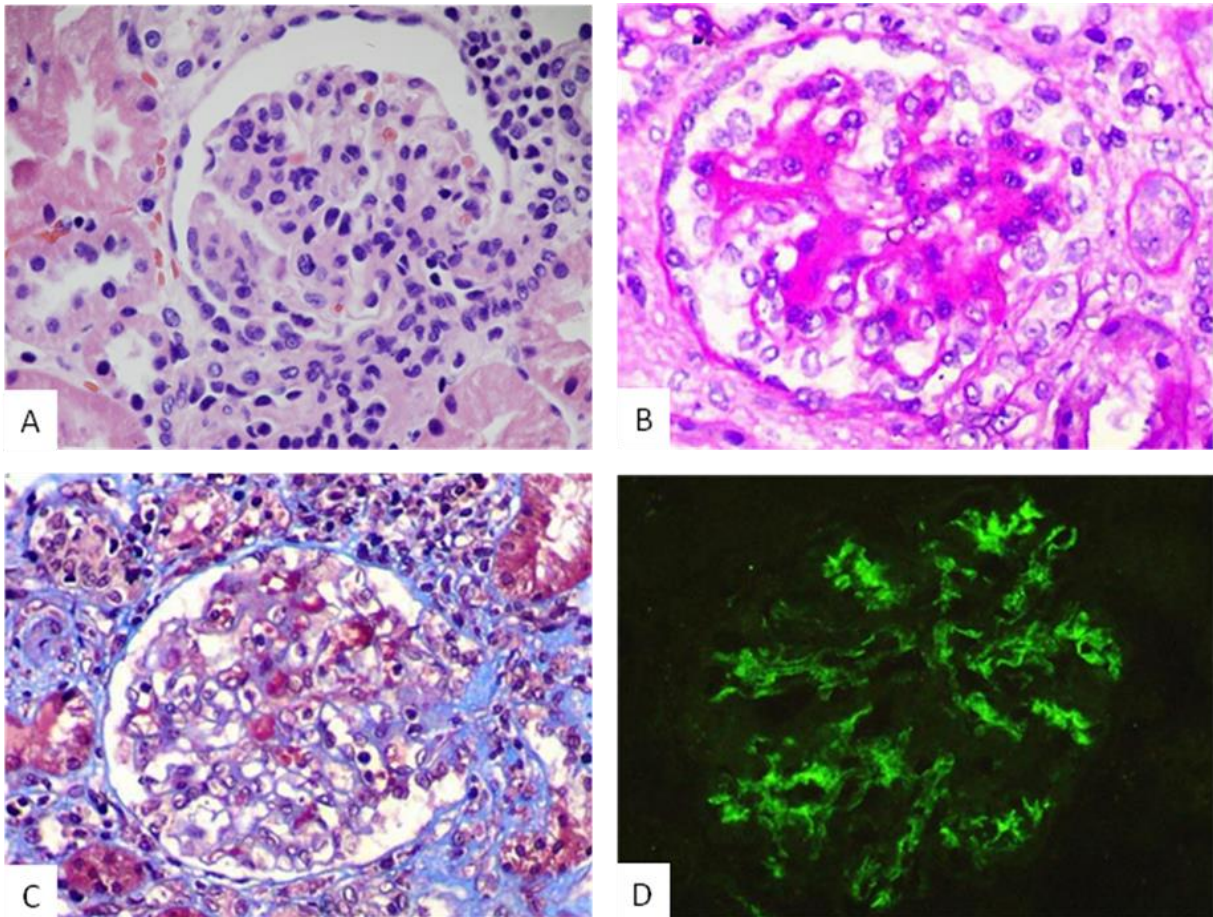


Figura 2.2. Imágenes características de biopsias de enfermos afectados de nefropatía IgA. Tinción con hematoxilina-eosina en la que se aprecia proliferación de células mesangiales y aumento de matriz mesangial de distribución segmentaria (A), tinción de PAS que demuestra incremento difuso en la matriz mesangial (B) y lesiones de esclerosis segmentaria asociadas a proliferación de matriz mesangial (C), y tinción de inmunofluorescencia en la que se evidencian depósitos mesangiales de IgA (D). x 400.

La tabla 2.2 resume la información requerida para el estudio anatomopatológico de la biopsia renal según las recomendaciones del consenso internacional Oxford 2009.

Tabla 2.2. Elementos recomendados para el estudio anatomopatológico de la biopsia renal según el consenso internacional Oxford 2009			
Metodología utilizada	VARIABLES HISTOPATOLÓGICAS BÁSICAS	OTROS CAMBIOS HISTOPATOLÓGICOS	NÚMERO GLOMÉRULOS
- Microscopía óptica	- Hiper celularidad mesangial (Índice M0/M1)	- Necrosis glomerular	- Mínimo 8
- Inmunohistoquímica	- Glomerulosclerosis segmentaria Índice S0/S1	- Presencia de semilunas	
- Microscopía electrónica	- Hiper celularidad endocapilar Índice E0/E1	- Lesiones vasculares	
	- Atrofia tubular/fibrosis intersticial Índice T0/T1/T2	- Infiltración leucocitaria	
		- Cilindros celulares	

2.8. Diagnóstico

La NIgA puede sospecharse ante una presentación clínica similar a la descrita previamente, pero ésta no es patognomónica, por lo que la NIgA solamente se confirma con la presencia de depósitos mesangiales de IgA.

En los casos de presentación de brotes recurrentes de hematuria macroscópica hay que hacer el diagnóstico diferencial con la glomerulonefritis aguda postinfecciosa, y con infecciones del tracto urinario o urolitiasis. La glomerulonefritis aguda postinfecciosa se distingue de la NIgA porque presenta síndrome nefrítico con hipocomplementemia y un intervalo de tiempo más amplio, de dos a tres semanas, entre la infección respiratoria y la afectación glomerular. En el caso de las infecciones del tracto urinario y urolitiasis, la presencia de hematíes dismórficos en el sedimento urinario orienta que la hematuria es de causa glomerular y no infecciosa (Kincaid-Smith and Fairley, 2005).

También puede observarse una presentación y curso clínico similar a la NIgA en el caso de la nefropatía de membrana basal fina, el síndrome de Alport (nefritis hereditaria) y la glomerulonefritis membranoproliferativa (D'Amico, 1987), pero el estudio de la biopsia renal por microscopía óptica, inmunofluorescencia y microscopía electrónica ayudan a diferenciar estas entidades de la NIgA. Además, los antecedentes familiares de nefritis y la presencia de sordera orientan hacia el diagnóstico de síndrome de Alport. El diagnóstico de la glomerulonefritis membranoproliferativa también se orienta por la detección de niveles séricos disminuidos de factores del complemento (Glassock, 2008).

Las variables histopatológicas halladas por microscopía óptica en la NIgA no son específicas de la NIgA. La hiper celularidad mesangial e incremento de matriz mesangial, hallazgos patológicos más comunes en enfermos afectados de NIgA, también pueden observarse en otras enfermedades renales como la nefropatía diabética, glomerulosclerosis focal y segmentaria, o enfermedades sistémicas con afectación glomerular. Por otro lado, algunas enfermedades presentan depósitos mesangiales de IgA, aunque no todas presentan disfunción o lesión glomerular. La tabla 2.3 contiene la lista de las enfermedades asociadas al depósito mesangial de IgA. Entre dichas enfermedades cabe destacar la púrpura de Schönlein-Henoch (HSPN) como causa primaria de depósito de IgA que presenta patrones histológicos muy similares a los de la NIgA. En la HSPN también se observan niveles séricos elevados de IC que contienen IgA1 hipogalactosilada, así como autoanticuerpos contra la IgA1 hipogalactosilada y activación del sistema del complemento, pero se distingue de la NIgA en que la HSPN es una enfermedad sistémica que afecta mayoritariamente a pequeños vasos de la piel, tracto gastrointestinal, riñones y articulaciones (Davin, 2011; Davin and Coppo, 2014; Wyatt and Julian, 2013).

Tabla 2.3. Enfermedades asociadas a depósito mesangial IgA (Donadio and Grande, 2002)

Primarias	Secundarias
<p>Sin manifestaciones sistémicas Nefropatía IgA idiopática</p> <p>Con manifestaciones sistémicas Púrpura de Schönlein-Henoch</p>	<p>Enfermedades autoinmunes Nefropatía membranosa Espondilitis anquilopoyética Enfermedad de Reiter Artritis psoriásica Artritis reumatoide Enteropatía por gluten Dermatitis herpetiforme Enfermedad de Crohn Granulomatosis de Wegener Crioglobulinemia mixta Inmunotrombocitopenia familiar Uveítis Episcleritis Lupus eritematoso</p> <p>Neoplasias Carcinoma de pulmón, laringe, faringe, páncreas Gammapatía monoclonal IgA Carcinoma secretor de mucina Micosis fungoide Linfoma no-Hodkin Mieloma</p> <p>Infecciones VIH Tuberculosis Toxoplasmosis Osteomielitis Brucelosis Virus de Epstein-Barr Citomegalovirus</p> <p>Otras Hepatopatías crónicas (especialmente alcohólicas) <i>Shunts</i> portosistémicos Hemosiderosis pulmonar Enfermedades broncopulmonares (incluida la Hemorragia alveolar Mastitis recurrente Eritema nodoso</p>

2.9. Tratamiento

A pesar de los avances realizados en el conocimiento de la patogenia de la NIgA, actualmente no existe ningún tratamiento específico dirigido contra la enfermedad. La aplicación del tratamiento en pacientes con NIgA se centra principalmente en la disminución o el control de los factores de riesgo de insuficiencia renal terminal en dichos pacientes, es decir, el control de la presión arterial y la disminución de la proteinuria. Un grupo de expertos internacional ha publicado las guías KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes), que se centran en el tratamiento de las distintas enfermedades glomerulares, y en concreto de la NIgA (KDIGO clinical practice guideline for glomerulonephritis, 2012).

Los objetivos terapéuticos en los pacientes con NIgA propuestos por las guías KDIGO (Tabla 2.4) son la disminución de la proteinuria por debajo de 1g/24h, y la disminución de la presión arterial por debajo de 130/80 mmHg. Los enfermos con cifras normales de presión arterial, FG y valores de ratio proteína/creatinina urinaria persistentemente inferiores a 0,2 no requieren ser tratados, aunque dichas variables clínicas y bioquímicas deben ser monitorizadas en controles clínicos periódicos.

En pacientes con proteinuria superior a 1g/24h y con cifras de presión arterial superiores a 130/80 mmHg, se recomienda el uso de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina II (ACE-I) y bloqueantes de receptores de angiotensina II (ARB), pudiéndose aumentar la dosis de dichos fármacos en caso de hipertensión. En el caso de los enfermos con proteinuria persistentemente superior a 1g/24h, que no disminuye a pesar del tratamiento con ACE-I o ARB ni con el control de la presión arterial, y que presenten cifras de FG superiores a 50ml/min/1.73m², se sugiere el uso de corticosteroides y de aceite de pescado.

El tratamiento combinado de inmunosupresores (ciclofosfamida o azatioprina) con corticosteroides se reserva para enfermos con NIgA rápidamente progresiva (presencia de semilunas en más del 50% de glomérulos y disminución rápida de la función renal). Se sugiere no tratar con inmunosupresores a pacientes con cifras de FG inferiores a 30ml/min/1.73m², excepto en pacientes con NIgA rápidamente progresiva.

Se sugiere no utilizar mofetil micofenolato ni fármacos antiplaquetarios para el tratamiento de pacientes con NIgA.

Los pacientes con FG persistentemente inferior a 30ml/min/1.73m² pueden ser tratados con ACE-I o ARB como medida de soporte para enlentecer el progreso de la enfermedad. El trasplante renal es el tratamiento de elección para los enfermos que requieren tratamiento de reemplazo renal.

Existen varias formas atípicas de NIgA. En pacientes con enfermedad de cambios mínimos que presentan depósitos de IgA, se recomienda el tratamiento para la enfermedad de cambios mínimos. En pacientes afectados de NIgA que presentan insuficiencia renal aguda (IRA) asociada a hematuria macroscópica, necrosis tubular aguda y cilindros eritrocitarios, y que no remiten, se sugiere realizar una segunda biopsia durante el brote de hematuria, para detectar la causa de la lesión tubular, y aplicar medidas de soporte para la IRA.

En la actualidad, no hay ningún tratamiento eficaz que pueda evitar la progresión a enfermedad renal crónica en enfermos de mal pronóstico.

Tabla 2.4. Recomendaciones y sugerencias para el tratamiento de la NIgA. Guías KDIGO

Tratamiento antiproteinúrico y antihipertensivo

Recomendación	Sugerencia
. Tratar con ACE-I o ARB cuando proteinuria es >1 g/24h, considerando el aumento de dosis dependiendo de las cifras de presión arterial	. Tratar con ACE-I o ARB si la proteinuria se mantiene entre 0.5 y 1 g/24h, en adultos. . Considerar el aumento de dosis de ACE-I o ARB hasta niveles tolerables para alcanzar cifras de proteinuria < 1 g/24h.

Corticosteroides

Recomendación	Sugerencia
-	. Tratar con corticosteroides los pacientes con proteinuria persistentemente > 1g/24h, que no disminuya a pesar del tratamiento durante 3-6 meses con ACE-I o ARB ni con el control de la presión arterial, y que presentan cifras de FG > 50ml/min/1.73m ²

Inmunosupresores (ciclofosfamida, azatioprina, mofetil micofenolato, ciclosporina)

Recomendación	Sugerencia
-	. No tratar con corticosteroides combinados con ciclofosfamida o azatioprina los pacientes con NIgA (excepto en pacientes con NIgA crecésntica con deterioro rápido de la función renal) . No tratar con inmunosupresores los pacientes con FG <30 ml/min/1.73m ² (excepto en pacientes con NIgA crecésntica con deterioro rápido de la función renal) . No tratar con mofetil micofenolato

Otros tratamientos

Recomendación	Sugerencia
-	. Tratar con aceite de pescado los pacientes con proteinuria persistentemente > 1 g/24h, que no disminuya a pesar del tratamiento durante 3-6 meses con ACE-I o ARB ni con el control de la presión arterial. . No tratar con agentes antiplaquetarios. . No realizar amigdalectomía.

Formas atípicas

Recomendación	Sugerencia
. Pacientes con enfermedad de cambios mínimos con depósitos de IgA: se recomienda el tratamiento para la enfermedad de cambios mínimos.	. Pacientes con IRA asociada a hematuria macroscópica, necrosis tubular aguda y cilindros eritrocitarios, que no remiten: aplicar medidas de soporte para la IRA . Pacientes con NIgA crecésntica con deterioro rápido de la función renal: tratar con corticosteroides y ciclofosfamida

2.10. Factores pronósticos

En enfermos afectados de NIgA, los factores pronósticos de evolución a insuficiencia renal crónica que existen actualmente son principalmente demográficos, clínicos e histopatológicos.

Los numerosos estudios existentes de análisis de factores pronósticos incluyen diferentes diseños (con inclusión de distinto número de enfermos, grados distintos de severidad de la enfermedad en el momento de la inclusión, distintos tiempos de seguimiento, diferencias en el tipo de tratamiento y en el número de enfermos tratados), y emplean distintas variables de desenlace, distintos sistemas de clasificación de la lesión histopatológica o distintos tratamientos estadísticos de datos. Todo ello hace que los resultados obtenidos sean difíciles de comparar e interpretar. No obstante, en muchos de los estudios independientes realizados, se han identificado consistentemente varios factores pronósticos. En adultos, la presencia de insuficiencia renal en el momento del diagnóstico, la hipertensión arterial, la proteinuria persistentemente superior a 1 g/24h y la presencia de esclerosis glomerular o intersticial en la biopsia, han sido identificados como predictores independientes de la evolución a insuficiencia renal crónica, tanto en análisis univariante como en multivariante (Alamartine et al., 1991; D'Amico, 2004; Feehally, 2001; Coppo and D'Amico, 2005). La tabla 2.5 resume los factores pronósticos establecidos en la NIgA. Los factores pronósticos identificados en estos estudios explican una parte de la variación en la progresión de la enfermedad. Los factores genéticos y los factores ambientales podrían explicar otra parte de la variabilidad.

2.10.1. Factores pronósticos demográficos

Los estudios que evalúan la edad y el sexo como marcadores pronósticos no han mostrado resultados consistentes (D'Amico, 2004).

2.10.2. Factores pronósticos clínicos

En adultos, la presencia de insuficiencia renal en el momento del diagnóstico, la hipertensión arterial y la proteinuria persistentemente superior a 1 g/24h han sido identificadas como variables clínicas predictoras independientes de la evolución a insuficiencia renal terminal,

tanto en análisis univariante como en multivariante (D'Amico, 2004; Coppo and D'Amico, 2005).

No obstante, algunos estudios no consideran el FG como factor de riesgo, y utilizan dicha variable como criterio de selección de la población de estudio. De esta forma, en un estudio se identificó la hipertensión, la proteinuria superior a 1g/24h, y la severidad de la lesión histológica como predictores independientes de progresión hacia insuficiencia renal terminal, en pacientes en tratamiento y con FG normal al inicio del estudio (Berthoux et al., 2011). Otro estudio identificó como predictores independientes de progresión el número de eritrocitos en orina, la hipertensión y la lesión glomerular y arteriosclerosis en la biopsia, en pacientes con función renal normal al inicio del estudio (Rauta et al., 2002). Por otro lado, algunos estudios indican que las variables que se obtienen durante el seguimiento demuestran ser predictores más potentes que las que se obtienen al inicio del estudio (Bartosik et al., 2001; Kobayashi et al., 1997; Donadio et al., 2002). Entre ellos, un estudio identificó la hipertensión y la proteinuria durante el seguimiento como predictores independientes fuertemente asociados a la velocidad de descenso de la función renal, y el modelo realizado con estas dos variables ofrecía un mejor ajuste conforme aumentaba el tiempo de seguimiento (Bartosik et al., 2001). Otro estudio identificó la proteinuria y la creatinina sérica al año de seguimiento, como predictores independientes de progresión a insuficiencia renal terminal (Donadio et al., 2002).

Tanto la hematuria microscópica como la hematuria macroscópica no parecen ser factores pronósticos consistentes, ya que no todos los estudios las identifican como tal y, en muchos de los estudios en los que dichas variables son identificadas mediante análisis univariante, las asociaciones dejan de ser estadísticamente significativas cuando estas variables se introducen en análisis multivariante (Coppo and D'Amico, 2005). La composición de la proteinuria como variable pronóstica negativa en enfermos con NIgA también muestra resultados discordantes (Nagy et al., 1987; Woo et al., 1991; Peters et al., 2009).

En población pediátrica hay menos estudios, probablemente debido a que el porcentaje de pacientes que progresa a insuficiencia renal terminal es bajo y las pruebas estadísticas aplicadas tienen poca potencia. No obstante, los factores de riesgo clínicos hallados de insuficiencia renal terminal coinciden con los de los adultos (D'Amico, 2004).

2.10.3. Factores pronósticos histológicos

Los estudios realizados hasta la fecha para identificar factores pronósticos histológicos han empleado distintos sistemas de clasificación de la lesión histopatológica. Antes de la introducción en el 2009 del sistema internacional de clasificación Oxford (Roberts et al., 2009), el estudio de marcadores pronósticos histológicos con los sistemas de clasificación existentes ha sido dificultoso. Estos sistemas en general utilizan distintos criterios de selección de variables histológicas, definiciones imprecisas, y sin previa evaluación de la reproducibilidad de las variables evaluadas (Lee et al., 1982; Haas, 1997; Alamartine et al., 1990; Katafuchi et al., 1998; Wakai et al., 2006; Manno et al., 2007). Todo ello hace que la evaluación de la lesión renal sea poco reproducible y difícil de aplicar en la práctica clínica. A pesar de ello, muchos de los estudios relevantes basados en estos sistemas de clasificación previos al sistema Oxford, han identificado distintas lesiones histopatológicas en el momento del diagnóstico como variables pronósticas de progresión a insuficiencia renal terminal, y muchos de estos estudios coinciden en que las lesiones glomerulares activas, como la proliferación mesangial, endocapilar o extracapilar, y necrosis han sido identificadas como los predictores más potentes que explican la pérdida de función renal o de respuesta al tratamiento. Por otro lado, las lesiones avanzadas y crónicas, como la glomerulosclerosis, la atrofia tubular o la fibrosis intersticial han sido identificadas como los predictores más potentes de insuficiencia renal terminal (D'Amico, 2004; Roberts et al., 2009).

Según la clasificación Oxford de la lesión histopatológica en enfermos afectados de NIgA, la glomerulosclerosis, la hiper celularidad mesangial, la proliferación endocapilar y la fibrosis intersticial/atrofia tubular se identifican como variables predictoras independientes de desenlace, independientemente del FG inicial, y de la proteinuria y la hipertensión tanto al inicio como durante el seguimiento (Cattran et al., 2009). Algunas de las asociaciones identificadas con el sistema de clasificación Oxford coinciden con las encontradas con los sistemas previos de clasificación.

En población pediátrica, las variables histopatológicas identificadas como predictores independientes de progresión hacia insuficiencia renal terminal son la fibrosis intersticial/atrofia tubular (Le et al., 2012b). No obstante, un estudio reciente ha analizado el poder predictivo de distintas variables clínicas e histológicas mediante modelo estadístico de árboles de regresión y clasificación, identificando la hiper celularidad mesangial y la

proteinuria superior a $0,4\text{g}/24\text{h}/1.73\text{m}^2$ como variables predictivas de mal pronóstico en pacientes con edad inferior a 23 años. En pacientes con edad inferior a 16 años, la ausencia de hiper celularidad mesangial y el FGe superior a $90\text{ml}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ se asocia a remisión de la proteinuria (Coppo et al., 2017).

Hay que tener en cuenta que el tratamiento con glucocorticoides e inmunosupresores reduce el valor predictivo de las variables pronósticas identificadas según la clasificación Oxford (Coppo et al., 2014).

Los factores pronósticos inmunohistoquímicos que se han asociado a mal pronóstico no han sido considerados por el sistema de clasificación Oxford. Algunas de estas variables se detallan en la sección 1.2.12 (Nuevos biomarcadores predictivos en la NIgA).

Tabla 2.5. Factores pronósticos en la NIgA

Factores pronósticos identificados en la mayoría de estudios independientes relevantes	Factores pronósticos no consistentes en la mayoría de estudios independientes relevantes
Demográficos	
	<ul style="list-style-type: none"> . Edad . Sexo
Clínicos	
<ul style="list-style-type: none"> . Filtrado glomerular reducido . Proteinuria > 1g/24h al inicio y durante el seguimiento . Hipertensión arterial al inicio y durante el seguimiento 	<ul style="list-style-type: none"> . Hematuria macroscópica . Hematuria microscópica . Composición de la proteinuria
Histológicos	
Previos a la clasificación Oxford	
<ul style="list-style-type: none"> - Predictores de pérdida de función renal o de respuesta al tratamiento: <ul style="list-style-type: none"> . Proliferación mesangial . Proliferación endocapilar . Proliferación extracapilar . Necrosis - Predictores de insuficiencia renal terminal: <ul style="list-style-type: none"> Glomerulosclerosis <ul style="list-style-type: none"> . Atrofia tubular . Fibrosis intersticial 	
Clasificación Oxford	
<p>Predictores independientes (independientemente del FG inicial, y de la proteinuria y la hipertensión tanto al inicio como durante el seguimiento):</p> <ul style="list-style-type: none"> . Glomerulosclerosis . Hiper celularidad mesangial . Proliferación endocapilar . Fibrosis intersticial/atrofia tubular 	

2.11. Limitaciones de los factores pronósticos. Justificación de la búsqueda de nuevos biomarcadores predictivos en la NIgA

Existen varios inconvenientes para el uso de los factores pronósticos establecidos en la práctica clínica habitual. En primer lugar los factores de riesgo establecidos no predicen el riesgo individual de desenlace ya que el curso de la NIgA es muy variable. Además, algunos de estos factores pronósticos identifican una lesión predominantemente avanzada, crónica e irreversible. Por otro lado, el momento del diagnóstico (biopsia) no suele coincidir con el momento de inicio de la enfermedad, por lo que muchos pacientes se presentan en etapas avanzadas de la enfermedad en el momento del diagnóstico. En estos casos el valor que aportan estos marcadores como factores pronósticos es escaso. Finalmente, los factores pronósticos histológicos establecidos requieren la práctica de una biopsia renal que, a parte de los riesgos asociados que conlleva al ser un método invasivo, puede dar lugar a falsos negativos debido al carácter segmentario y focal de las lesiones.

Todo ello justifica la necesidad de identificar biomarcadores precoces no invasivos, antes de que aparezcan lesiones de fibrosis renal irreversible, que reflejen la severidad y/o sean marcadores pronósticos de NIgA.

2.12. Nuevos biomarcadores predictivos en la NIgA

Varias moléculas han sido estudiadas en los últimos años, y son consideradas como potenciales biomarcadores que predicen la severidad y el pronóstico de la NIgA. A continuación se describen algunos de los marcadores más destacados, clasificados en tres grupos (figura 2.3):

- 2.12.1. Biomarcadores relacionados con la IgA1 estructuralmente alterada
- 2.12.2. Biomarcadores relacionados con la activación del complemento
- 2.12.3. Biomarcadores relacionados con la progresión de la lesión renal

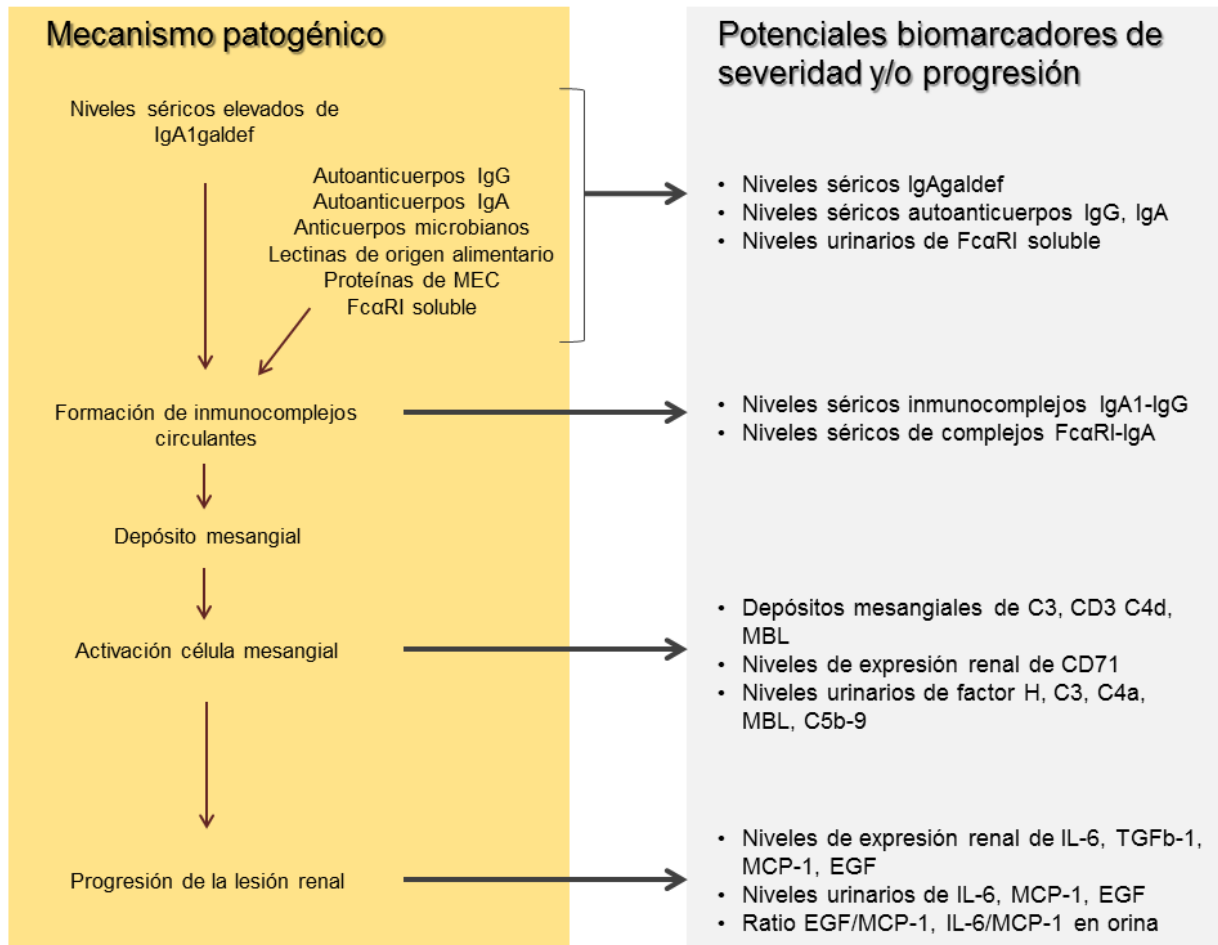


Figura 2.3. Mecanismo patogénico de la NfIgA y su relación con algunos de los potenciales biomarcadores predictivos de la actividad y/o pronóstico de la enfermedad

2.12.1. Biomarcadores relacionados con IgA1 alterada

Como se ha descrito previamente, se considera que el origen de la NfIgA radica en la IgA1 circulante estructuralmente alterada, la cual forma IC circulantes formados en gran parte por la unión de autoantígenos específicos contra la región bisagra de la IgA1. Varios estudios se han centrado en analizar los niveles séricos de IgA1 hipogalactosilada (IgA1galdef), así como de autoanticuerpos IgA y/o IgG dirigidos contra dicha molécula y los IC circulantes formados por la unión IgA1galdef-IgA o IgA1galdef-IgG como posibles marcadores de la NfIgA. De esta forma, se han detectado niveles séricos significativamente elevados de IgA1 hipogalactosilada y de autoanticuerpos en pacientes con NfIgA respecto a controles sanos y controles con otras nefropatías (Moldoveanu et al., 2007; Yanagawa et al., 2014; Suzuki

et al., 2009), así como niveles urinarios significativamente elevados de IC IgA1-IgG de alto peso molecular en enfermos con NlgA respecto a controles sanos y controles con otras nefropatías (Matousovic et al., 2006). No obstante, ni la IgA hipogalactosilada ni los autoanticuerpos son marcadores específicos de la NlgA, ya que se han detectado niveles elevados de IgA hipogalactosilada en algunos familiares de pacientes que no desarrollan la enfermedad (Gharavi et al., 2008) y de autoanticuerpos en otras glomerulopatías de origen inmune (Zhang J et al., 2009). Los niveles circulantes de IgA hipogalactosilada muchas veces tampoco corresponden con los niveles de autoanticuerpos, ni hay una correlación consistente entre autoanticuerpos IgG contra IgA hipogalactosilada y la deposición glomerular de los mismos.

A pesar de lo mencionado en el párrafo anterior, se ha demostrado que los niveles séricos de IgA hipogalactosilada se asocian con los factores pronósticos clásicos de la enfermedad y con la progresión de la enfermedad independientemente de los factores pronósticos clásicos (Zhao et al., 2012). Otro estudio independiente ha demostrado que los niveles séricos de IgA hipogalactosilada, juntamente con niveles séricos de marcadores de estrés oxidativo (advanced oxidation protein products, AOPPs), se asocian al descenso de FG (Camilla et al., 2011). Estos datos indican que dichos niveles podrían considerarse marcadores de severidad y de progresión de la NlgA. Los niveles séricos de autoanticuerpos IgG también correlacionan con algunos marcadores de actividad de la enfermedad como la proteinuria y/o la severidad de la lesión histológica (Yanagawa et al., 2014; Berthoux et al., 2012; Suzuki et al., 2009), indicando que dichos niveles podrían ser útiles como marcadores de severidad de la enfermedad. También se ha demostrado que hay asociación entre los niveles de autoanticuerpos en el momento de la biopsia y la progresión de la enfermedad (Berthoux et al., 2012), aunque estos datos requieren ser validados con estudios de seguimiento más largos que den resultados con mayor potencia estadística.

Por el momento, los métodos de análisis de IgA hipogalactosilada y compuestos relacionados no pueden ser estandarizados y aplicados a la práctica clínica, ya que hay que tener en cuenta que existen limitaciones relacionadas con la metodología empleada para la cuantificación de dichos compuestos. Muchos de estos estudios cuantifican los marcadores con métodos basados en lectinas, los cuales tienen limitaciones de sensibilidad, especificidad y reproducibilidad debido a la especificidad variable de las lectinas empleadas para el análisis (Moore et al., 2007), y debido a que los autoanticuerpos pueden ser polireactivos y la molécula de IgA1 presenta heterogeneidad de O-glicosilación.

Otras moléculas que contribuyen a la formación de complejos y/o unión con IgA1, y que se han descrito como potenciales marcadores en la NIgA son FcαRI y CD71. Se ha demostrado que los niveles séricos de los complejos de FcαRI-IgA se asocian a la severidad de la NIgA (Vuong et al., 2010). Un estudio reciente ha demostrado que los niveles urinarios de FcαRI soluble y TG están significativamente disminuidos en pacientes con NIgA con proteinuria frente a pacientes en remisión y dichas moléculas urinarias podrían ser un potencial marcador que discrimine, en función de la proteinuria, enfermedad renal activa frente inactiva, así como podrían ser de utilidad para el seguimiento de estos pacientes (Moresco et al., 2016). Por otro lado, dado que la lesión histológica renal está establecida como un marcador pronóstico de la NIgA, el hecho de encontrar una asociación entre incremento de expresión de receptor CD71 y grado de proliferación celular hace que CD71 se pueda considerar un marcador candidato de pronóstico de NIgA (Haddad et al., 2003).

2.12.2. Biomarcadores relacionados con la activación del complemento

Se han publicado varios estudios que indican que los niveles séricos, urinarios y/o depósitos glomerulares de algunos factores del complemento, tanto de la vía alternativa como de la vía de las lectinas, pueden ser potenciales marcadores de severidad y pronóstico de la enfermedad.

Biomarcadores de la vía alternativa en biopsia renal

Se han detectado depósitos de varias proteínas de la vía alternativa del complemento en biopsia renal. Los depósitos mesangiales de C3 se han asociado con aumento de los niveles de creatinina sérica, grado de severidad histológica (Nasri et al., 2013), y con progresión hacia insuficiencia renal terminal (Kim et al., 2012). Otro estudio reciente ha demostrado que la combinación de los depósitos glomerulares de C4d y CD3 son predictores independientes de insuficiencia renal terminal (Faria et al., 2015).

Biomarcadores de la vía de las lectinas en biopsia renal

Algunos estudios indican que en enfermos con NIgA la activación de la vía de las lectinas se asocia a la severidad y progresión de la enfermedad. En concreto, se ha demostrado que los depósitos de MBL asociados a depósitos de L-ficolin, MASP-2 y C4d, se asocian con la proteinuria y con la severidad de la lesión histológica (proliferación mesangial, proliferación extracapilar, glomerulosclerosis, infiltración intersticial) (Roos et al., 2006). Otros estudios

han confirman este hallazgo, detectando depósitos de MBL que se asocian a la severidad clínica e histológica de la enfermedad (Matsuda et al., 1998; Liu et al., 2013) y a la progresión de la enfermedad (Liu et al., 2013). Por otro lado se ha descrito que los depósitos mesangiales de C4d hallados en enfermos con NIgA se asocian con la hipertensión, FGe, proteinuria, glomerulosclerosis y fibrosis intersticial/atrofia tubular (Nasri et al., 2015; Espinosa et al., 2014; Sahin et al., 2014), y recientemente C4d se ha identificado como predictor independiente de progresión a insuficiencia renal terminal independientemente de FGe y la proteinuria (Espinosa et al., 2014; Faria et al., 2015). Tras el descubrimiento de los depósitos de C4d como marcadores de rechazo humoral en el trasplante renal (Watschinger and Pascual, 2002), la tinción C4d es actualmente una técnica histológica implantada en la práctica clínica rutinaria y por lo tanto podría ser implantada en el análisis rutinario de los enfermos afectados de NIgA dado su potencial valor como marcador pronóstico.

Biomarcadores séricos de la vía alternativa

Varios estudios han detectado niveles séricos alterados de moléculas relacionadas con la vía alternativa del complemento en enfermos afectados de NIgA. Algunos de ellos indican que la ratio IgA/C3 se encuentra aumentada en dichos pacientes y se asocia a progresión de la enfermedad (Komatsu et al., 2004; Zhang J et al., 2013). También se han detectado en algunos enfermos niveles séricos disminuidos de C3 que se asocian a la progresión hacia insuficiencia renal terminal (Kim et al., 2012), y niveles séricos elevados de productos derivados de la fragmentación de C3 (Zwirner et al., 1997; Wyatt et al., 1987) que se asocian con algunas variables de severidad y con la progresión de la enfermedad (Zwirner et al., 1997). Los estudios realizados sobre los niveles plasmáticos de factor H muestran resultados inconsistentes (Edey et al, 2009; Onda et al, 2007). También se han detectado niveles séricos aumentados de factor I, factor B y properdina en pacientes con NIgA (Onda et al., 2007).

Biomarcadores urinarios de la vía alternativa

En cuanto a los marcadores urinarios relacionados con la activación de la vía alternativa del complemento, se han encontrado niveles urinarios elevados de factor H en pacientes con NIgA que correlacionan con los niveles de expresión renal, con la proteinuria y la disminución de la función renal, y con el grado de severidad histológica glomerular y tubulointersticial (Zhang JJ et al., 2009; Onda et al., 2011).

Biomarcadores urinarios de la vía de las lectinas

En enfermos con NIgA, también se han detectado algunos marcadores urinarios relacionados con la activación de la vía de las lectinas. En concreto se han detectado niveles urinarios incrementados de C3 y C4a (Mucha et al., 2014), y de MBL en dichos enfermos, que se asocian a la severidad de la lesión histológica y a la proteinuria (Liu et al., 2012).

En relación a los niveles urinarios de factores del complemento de la vía alternativa y de las lectinas, también se ha observado que otras nefropatías asociadas a proteinuria cursan con excreción urinaria de C5b-9 y otros factores del complemento (Schulze et al., 1991; Ogradowski et al., 1991; Morita et al., 2000), las cuales se asocian a severidad clínica e histológica de la enfermedad (Onda et al., 2011). Los datos obtenidos hasta el momento sugieren que se produce una activación del complemento en las células epiteliales tubulares proximales, y que la properdina filtrada a la luz tubular juega un papel principal como inductora de la activación de la vía alternativa en dichas células (Gaarkeuken et al., 2008; Zaferani et al., 2011). Un estudio confirma estos datos, en el cual se observó una elevada excreción urinaria de properdina en algunos enfermos con distintas glomerulopatías que cursan con proteinuria, y que su presencia se asociaba a una mayor excreción de C5b-9, independientemente de la proteinuria y de la función renal (Siezenga et al., 2010). No se conoce en qué medida contribuyen a los niveles de excreción urinaria de los distintos factores del complemento, la proteinuria inespecífica filtrada a la luz tubular, la activación del complemento local glomerular o la activación del complemento intratubular. No obstante, el hecho de que se haya relacionado la activación del complemento tubular con la inducción de la fibrosis tubular (Abe et al., 2004; Tang et al., 2009), sugiere que los niveles urinarios de varios factores del complemento en la NIgA también podrían servir como marcadores de progresión de la lesión tubulointersticial hacia insuficiencia renal crónica.

2.12.3. Biomarcadores relacionados con la progresión de la lesión renal

Varias proteínas implicadas en la lesión tubulointersticial han sido evaluadas como marcadores de progresión a insuficiencia renal terminal en pacientes con enfermedad renal. Algunas de las más estudiadas son NGAL, β -2-microglobulina, NAG, LFABP, o KIM-1 (Bolognani et al., 2009; Kamijo et al., 2004; Kamijo et al., 2005; Nielsen et al., 2010; Waanders et al., 2009; Bosomworth et al., 1999). Algunos de estos marcadores también han

sido estudiados en pacientes con NIgA. En concreto, se ha demostrado que la β 2-microglobulina se asocia a la progresión de la enfermedad en análisis univariante, aunque no proporciona un valor pronóstico superior al de los marcadores clásicos como la proteinuria en el análisis multivariante (Peters et al., 2009). En cuanto a la NGAL, se han detectado niveles urinarios elevados en enfermos afectados de NIgA, que correlacionan con la proliferación mesangial y la lesión tubulointersticial (Ding H et al., 2007), y niveles de expresión renal que se asocian a la progresión a insuficiencia renal terminal (Yavas et al., 2013). Por otro lado, se ha demostrado que los niveles de expresión renal de KIM-1 en pacientes con NIgA son predictores independientes de insuficiencia renal terminal (Kwon et al., 2013), y que los niveles urinarios se encuentran elevados en dichos pacientes, se asocian con el grado de severidad clínica e histológica de la enfermedad (Peters et al., 2011; Xu et al., 2011) y son predictores independientes de insuficiencia renal terminal (Peters et al., 2011). Sin embargo estos marcadores están más relacionados con las consecuencias de la lesión renal que con los mecanismos patogénicos del desarrollo de la lesión en la NIgA.

Varias moléculas implicadas en estos mecanismos han sido estudiadas como posibles marcadores de severidad y pronóstico de la NIgA. Varios estudios han detectado en dichos pacientes aumentos de expresión renal de IL-6, MCP-1 y TGF β -1 (Tomino et al., 1991; Taniguchi et al., 1999b; Ranieri et al., 1996; Taniguchi et al., 1999a; Yokoyama et al., 1998; Sun et al., 2009; Kim and Tam, 2011; Grandaliano et al., 1996) y disminución de la expresión renal de EGF (Ranieri et al., 1996) respecto a controles sanos, así como asociaciones significativas entre los niveles de expresión renal de EGF y MCP-1 con sus respectivos niveles urinarios (Ju et al., 2015; Kim and Tam, 2011). También se ha encontrado asociación de los niveles de expresión renal de dichas moléculas con el grado de severidad histológica. En concreto los niveles de expresión de IL-6 en el área mesangial y en células tubulares proximales de pacientes con NIgA se asocian con la severidad de glomerulosclerosis y la severidad de la lesión tubulointersticial (Tomino et al., 1991; Ranieri et al., 1996); los niveles de expresión de TGF β -1 mesangiales, endoteliales y células epiteliales tubulares se asocian con el grado de severidad de la lesión glomerular y tubulointersticial (Taniguchi et al., 1999b; Goumenos 2002; Meng et al., 2013), los niveles de expresión de MCP-1 en células epiteliales tubulares correlacionan con la severidad de la lesión tubulointersticial e infiltrado monocitario (Grandaliano et al., 1996); los niveles de expresión de EGF en células epiteliales tubulares correlacionan con la severidad de la lesión tubulointersticial (Ranieri et al., 1996). Además también se ha descrito que la expresión renal

de IL-6 correlaciona con el pronóstico de la enfermedad (Taniguchi et al., 1999b). Por otro lado, se ha descrito correlación entre niveles urinarios de IL-6 y MCP-1 y la severidad clínica de la enfermedad (Tomino et al., 1991; Saitoh et al., 1998), así como correlación entre niveles urinarios de MCP-1, IL-6, EGF y el grado de severidad histológica. Respecto a las correlaciones de los niveles urinarios con el grado de severidad histológica, se ha demostrado que existe una correlación positiva entre niveles urinarios de MCP-1 con la severidad de la fibrosis intersticial y el grado de infiltración leucocitaria (Grandaliano et al., 1996; Saitoh et al., 1998; Morii et al., 2003; Stangou et al., 2009; Yokoyama et al., 1998), correlación de niveles urinarios de IL-6 con el grado de esclerosis glomerular y fibrosis intersticial, y correlación negativa entre niveles urinarios de EGF y el grado de severidad de lesión tubulointersticial (Stangou et al., 2009).

Además algunos estudios han evaluado las ratios entre algunas de las citoquinas mencionadas como posibles marcadores de severidad clínica, histológica y/o como posibles marcadores pronósticos. En concreto, se ha demostrado que la ratio EGF/MCP-1 urinaria determinada en el momento de la biopsia correlaciona con varios factores de riesgo clásicos (grado de severidad histológica, hipertensión y FG), y tiene una buena sensibilidad y especificidad para predecir la progresión de la enfermedad independientemente del resto de factores de riesgo, con una capacidad predictiva superior a la proporcionada por EGF y MCP-1 aisladas y superior a la de los factores de riesgo clínicos e histológicos individuales (Torres et al., 2008). Otro estudio muestra que la ratio IL-6/MCP-1 en orina también se asocia al grado de severidad histológica y podría considerarse como potencial marcador de progresión de la NIgA (Ranieri et al., 1996).

Por último, también se ha demostrado que, de entre varias citoquinas estudiadas, únicamente los niveles urinarios de EGF se asocian fuertemente con el grado de deterioro de la función renal y pueden ser empleados como marcador predictivo de la progresión de la función renal (Stangou et al., 2009), y otro estudio reciente ha identificado EGF urinario como predictor independiente de progresión de la insuficiencia renal crónica, más potente que la albuminuria y el FGe (Ju et al., 2015). Los datos mostrados en estos estudios sugieren que la excreción urinaria de EGF podría ser un potencial marcador subrogado del grado de fibrosis intersticial así como potencial predictor independiente de la progresión de la NIgA hacia insuficiencia renal terminal.

2.12.4. Otros biomarcadores

Un estudio reciente identificó mediante análisis proteómico un perfil de 13 proteínas de bajo peso molecular que clasificaba a los pacientes con NIgA de forma consistente a la clasificación Oxford, y permitía discriminar pacientes en estadios avanzados la enfermedad de pacientes en estadios precoces. Las proteínas identificadas estaban implicadas en la activación del sistema del complemento, la coagulación y las interacciones receptor-MEC, y correlacionaban con la severidad de la enfermedad (Kalantari et al., 2013).

Por otro lado, el desarrollo de un índice de riesgo que refleje los efectos acumulativos de los predictores independientes individuales puede ser útil para identificar los individuos con más riesgo de progresar a insuficiencia renal terminal. Además estos índices podrían ser aplicados a la práctica clínica ya que las variables que los componen son fácilmente medibles en el laboratorio, y pueden irse actualizando con nuevas variables a medida que surjan potenciales marcadores que puedan ser validados, con el fin de mejorar su poder predictivo. Varios estudios han desarrollado índices de riesgo que reflejan los efectos acumulativos de distintas variables predictoras individuales (Goto et al., 2009; Berthoux et al., 2011; Xie et al., 2012). Berthoux et al (Berthoux et al., 2011) calcularon un índice de riesgo en pacientes con tratamiento y con FG normal o ligeramente disminuida. El índice estaba constituido por la hipertensión, proteinuria y lesiones histopatológicas globales severas (clasificadas según el índice global óptico) como variables predictoras independientes. Goto et al (Goto et al., 2009) también desarrollaron un índice constituido por 8 variables independientemente asociadas a insuficiencia renal terminal: sexo, edad, presión arterial sistólica, proteinuria, microhematuria, albúmina sérica, FG y severidad de las lesiones renales clasificadas según criterios nacionales. No obstante no se ha tenido en cuenta la influencia del tratamiento, ya que los pacientes que son tratados y respondedores probablemente producen infraestimaciones del índice. El índice calculado por Xie (Xie et al., 2012) incluye el FG, la albúmina sérica, la hipertensión y la hemoglobina como predictores independientes. No se observaron variables histopatológicas como predictoras independientes, por lo que no se incorporaron en el índice. El índice tiene un mayor poder discriminante en comparación a los predictores individuales. El FG y la hipertensión es una variable común a los tres índices mencionados (exceptuando el FG en el índice de Berthoux, en el que no se incluye esta variable en el modelo de regresión múltiple). También incorporan la proteinuria y/o o la albúmina sérica. El resto de variables difiere. El índice con mayor poder predictivo es el calculado por Xie (Xie et al., 2012). Uno de los componentes

del índice de Jingyuan es la hemoglobina, que se identificó como predictor independiente de insuficiencia renal terminal, y es la variable con más peso en la ecuación después del FG. Considerando el hecho de que en este estudio la anemia mostraba asociación en el análisis univariante, este hallazgo podría estar relacionado con evidencias previas de que la anemia es un factor de riesgo independiente de progresión de enfermedad renal (Mohanram et al., 2004; Staples et al., 2010). No obstante, el resto de variables que constituyen dichos índices son distintas, lo que dificulta la comparación entre ellos. Además, el cálculo de los índices está realizado con variables histológicas clasificadas con distintos criterios. Podrían recalcularse los índices considerando la clasificación de las variables histopatológicas según el sistema Oxford (Cattran et al., 2009), para poder hacer más comparables los índices. Además, los índices pronósticos requieren ser validados con cohortes independientes.

Además se han detectado niveles alterados de microARN (miRNA), tanto en tejido, células y orina, relacionados con la patogénesis y progresión de la NIgA (Szeto and Li, 2014). En concreto se ha demostrado que los niveles de expresión renal de miR-223 se asocian con la activación de células endoteliales glomerulares (Bao et al., 2014), y los niveles urinarios de miR-3613-3p y miR-4668-5p correlacionan con la severidad de la enfermedad (Wang N et al., 2015). No obstante, se requieren más estudios clínicos y de laboratorio que demuestren que estos marcadores se pueden aplicar a la práctica clínica habitual. Tampoco se ha evaluado el poder predictivo de estas moléculas como marcadores de progresión de la NIgA.

Finalmente, se han realizado estudios genéticos de ligamiento y de asociación del genoma completo en familias y cohortes de enfermos afectados de NIgA. Mediante estudios de asociación de genoma completo han sido identificados varios loci asociados a la NIgA. De esta forma se ha encontrado asociación de la enfermedad con la región del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) (Feehally et al., 2010). Otro estudio encontró 5 loci asociados a susceptibilidad de NIgA: 3 en el grupo de genes que codifican para la clase I y II del MHC, 1 (*CFH/CFHR*) en el grupo de genes que codifican para el factor H y compuestos relacionados, y 1 (*HORMAD2*) en el grupo de genes que codifican para oncostatina M y factor inhibidor de leucemia, citoquinas que están implicadas en la inmunidad innata y la inflamación (Gharavi et al., 2011). Un estudio independiente confirmó 4 de los 5 loci identificados en el estudio previo y detectó 2 loci adicionales, *DEFA* y *TNFSF13* (Yu et al., 2012). *TNFSF13* codifica APRIL, es un ligando de la familia de receptores TNF y juega un papel importante en la generación de células B secretoras de IgA y en el cambio de clase

IgA1 a IgA2. *DEFA* codifica para defensinas, que son péptidos implicados en la inmunidad innata, aumentan la permeabilidad de membranas de patógenos, modulan la respuesta inflamatoria y pueden actuar como quimioattractantes

2.13. Aplicación de los biomarcadores urinarios predictivos en la NIgA a la práctica clínica: Utilidad clínica de los niveles urinarios medidos en orina puntual y en orina de 24h, y aplicaciones de la estimación de la variación biológica

Anteriormente se ha descrito el papel de varias moléculas, medidas en orina, implicadas en la patogénesis y desarrollo de la NIgA, como potenciales marcadores precoces de actividad y pronóstico en la NIgA. Para que dichas moléculas puedan ser aplicadas a la práctica clínica previamente debe validarse su utilidad clínica realizando estudios independientes en cohortes distintas, con distintas metodologías, y deben definirse las características pre-analíticas, analíticas y post-analíticas más adecuadas que cumplan dicho fin (Cummings et al., 2010; Hayes, 2015; Lee et al., 2006). En este sentido todos los datos clínicos disponibles sobre el valor predictivo de estas moléculas hasta la fecha se han basado en estudios que utilizan una única medida de la ratio de su excreción respecto la creatinina, en muestras de orina puntual. No obstante, no se ha analizado la concordancia ni se ha comparado la utilidad clínica como marcadores predictivos entre las medidas obtenidas en orina puntual y las obtenidas con orina de 24h. Tampoco se han estimado las fuentes de variación sujetas a la medición de dichas moléculas. Estos estudios son necesarios para poder definir las especificaciones en los métodos de análisis utilizados, e interpretar correctamente los resultados obtenidos, y deberían realizarse previamente a la implantación de los métodos de determinación de dichas moléculas al laboratorio clínico asistencial.

En relación a la determinación de las ratios de dichas moléculas en orina puntual, ésta suele ser una forma habitual de estimar la mayor parte de su excreción diaria en lugar de medir su excreción en orina de 24h, ya que la recolección de la orina de 24h utilizada para determinar las tasas de excreción promedio pueden ser engorrosas y poco fiables, debido a la sobre o la infra recolección. Las determinaciones con ratios son generalmente adecuadas para variables como la proteinuria o la microalbuminuria, que no dependen directamente de la masa tubular total (Price et al., 2005). No obstante, no todas las moléculas implicadas en la patogénesis y el desarrollo de la NIgA medibles en orina

cumplen este requisito. Por ejemplo, la excreción urinaria de EGF medida en orina puntual y expresada como la ratio EGF/creatinina podría introducir errores en la interpretación clínica, puesto que los niveles de ambas moléculas dependen de la masa tubular total. Por ello sería conveniente comprobar, antes de ser aplicados a la práctica clínica, si hay concordancia entre las determinaciones de dichas moléculas en orina puntual y las realizadas en orina de 24h.

Otro de los estudios hasta la fecha pendiente de realizar, es la estimación de las fuentes de variación sujetas a la medición de los distintos biomarcadores en enfermos afectados de NIgA. Estos estudios son necesarios tanto para interpretar correctamente los resultados obtenidos como para definir las especificaciones de la calidad del método analítico. La medición de cualquier magnitud biológica medible en el laboratorio clínico, está principalmente sujeta a tres fuentes de variación: La primera fuente de variación es la variación pre-analítica, producida por el proceso preanalítico, durante la extracción, transporte y pre-tratamiento de la muestra. El proceso preanalítico en el laboratorio clínico es comúnmente estandarizado y controlado, de manera que la variación pre-analítica es generalmente mínima. La segunda fuente de variación es la analítica, que se produce en el proceso analítico utilizado para medir la magnitud del interés. Por último, la variación biológica (VB): está constituida por la variación biológica intra-sujeto e inter-sujeto. La variación biológica intra-sujeto se define como la distribución aleatoria de los valores observados alrededor de un punto homeostático en el mismo individuo. La variación biológica inter-sujeto se debe a diferencias entre los puntos homeostáticos entre individuos de la misma magnitud (Fraser and Harris, 1989; Ricós et al., 2004; Fraser, 2001). De esta forma, la variación total sujeta al resultado de una prueba de laboratorio es la suma de varios componentes de la variación: preanalítica, analítica y VB.

La interpretación del resultado obtenido en una prueba determinada se realiza con el índice de individualidad (II), que se calcula a partir de los componentes de la variación total. Dependiendo de su valor (Fraser and Harris, 1989; Fraser, 2001; Harris, 1981), es posible determinar si es más apropiado comparar un resultado aislado con los intervalos de referencia basados en la población (valor de referencia poblacional, VRP) o evaluar si la diferencia entre dos resultados consecutivos del mismo individuo es clínicamente significativo (valor de referencia del cambio, VRC) (Ricós et al., 2004). Además, debido a que la variación intra-individual de algunos marcadores específicos de la enfermedad puede verse influida tanto por la enfermedad como por el tratamiento, el uso de VRC estimado de individuos sanos para monitorizar individuos con una patología particular puede no ser

adecuado (Ricos et al., 2007). Por lo tanto, en los últimos años se ha incrementado el uso de RCV estimado a partir de individuos con ciertas patologías.

3. Hipótesis

Los marcadores de actividad y pronósticos clásicos establecidos de la NIgA están asociados a varias desventajas que frecuentemente limitan su uso en la práctica clínica de una forma eficaz. Por un lado, debido al curso heterogéneo de la enfermedad, no predicen el riesgo individual de desenlace. Por otro lado, muchos pacientes se presentan en etapas ya avanzadas de la enfermedad en el momento del diagnóstico, y en estos casos el valor añadido de estos marcadores es escaso. Además, algunos de estos marcadores identifican una lesión predominantemente avanzada e irreversible. Por último, los factores pronósticos histológicos establecidos requieren la práctica de una biopsia renal que, además de los riesgos asociados que conlleva por ser un método invasivo, puede dar lugar a falsos negativos debido al carácter segmentario y focal de las lesiones.

Todo ello justifica la necesidad de identificar biomarcadores precoces no invasivos, antes de que aparezcan lesiones de fibrosis renal irreversible, que reflejen la actividad de la enfermedad y/o sean marcadores pronósticos de NIgA. Los avances recientemente incorporados al conocimiento de la patogenia de la NIgA han identificado numerosas variables implicadas en la patogénesis y desarrollo de la NIgA que pueden contribuir a conseguir dicho objetivo. Entre todas estas variables, algunas resultan especialmente atractivas por la posibilidad de ser analizadas y evaluadas a corto plazo.

En este sentido, la evaluación de la excreción urinaria de moléculas que reflejen la severidad y el pronóstico de la NIgA es un factor clave para la evaluación clínica de las enfermedades glomerulares, entre las que se encuentra la NIgA. En concreto, los niveles urinarios de algunas moléculas relacionadas con la activación del complemento (properdina, lectina de unión a manosa (MBL), C4d, C5b-9, y con la progresión de la lesión renal, (interleucina-6 (IL-6), factor de crecimiento epidérmico (EGF), proteína quimioattractante de monocitos de tipo 1 (MCP-1) y factor de crecimiento transformante β 1 (TGF β -1), han sido ampliamente estudiados e identificados como potenciales marcadores predictivos de severidad y pronóstico de la enfermedad, y podrían tener utilidad en la práctica clínica. Sin embargo, deben realizarse más estudios independientes en cohortes distintas, con distintas metodologías, que corroboren los datos ya obtenidos y/o aporten más información que amplíe el conocimiento de la patogenia y el desarrollo de la enfermedad, para validar la utilidad clínica de dichas moléculas, con el fin de ser implantadas a la práctica clínica habitual.

Hasta la fecha, ningún estudio ha evaluado los niveles de excreción urinaria de C4d y de MBL como predictores de los depósitos mesangiales de ambas proteínas, ni se ha estudiado si los niveles urinarios de dichas proteínas reflejan, al menos en parte, la activación de la vía de las lectinas en las células tubulares. Además, ningún estudio ha realizado una comparación entre distintos marcadores de progresión de la lesión renal, para analizar cuál de ellos correlaciona mejor con las lesiones de fibrosis intersticial. El presente proyecto pretende contestar estas preguntas aportando nuevos datos, a través de dos estudios observacionales independientes con enfermos afectados de NlgA, y en donde principalmente se han realizado determinaciones urinarias dichos marcadores. En un estudio se evalúa la utilidad de los niveles urinarios de MBL y C4d como predictores independientes de los niveles de expresión mesangial de las mismas y se analizan las variables asociadas a la activación local del complemento. En otro estudio se comparan los niveles urinarios de IL-6, EGF, MCP-1 y TGF β -1 para determinar cuál de dichas moléculas o combinaciones de las mismas tiene mayor capacidad de predecir la extensión de fibrosis intersticial.

Por otro lado, los estudios realizados hasta la fecha utilizan una única medida de concentración de dichos marcadores expresados respecto la concentración de creatinina, en muestras de orina puntual, y no se han realizado estudios que analicen la concordancia ni comparen la utilidad clínica entre dichas medidas y las obtenidas con orina de 24h como marcadores predictivos, especialmente en los marcadores que puedan estar relacionados con la masa tubular. Asimismo, tampoco hay estudios que estimen las fuentes de variación sujetas a las medidas de dichos marcadores, los cuales son necesarios para poder interpretar correctamente los resultados y definir las especificaciones de la metodología de análisis utilizada. De esta forma, en este proyecto se pretende analizar, mediante otros dos estudios independientes, por un lado si hay diferencias entre la medida de la ratio EGF/creatinina en orina puntual frente a la medida de la excreción diaria de EGF, y cuál de las dos medidas es más adecuada para predecir la extensión de fibrosis intersticial. Por otro lado, se realiza un estudio para determinar los componentes de la variación biológica de la ratio EGF/creatinina en orina puntual.

Desarrollo

4. Objetivos

Se han planteado cuatro objetivos generales compuestos por varios objetivos específicos:

4.1. Primer objetivo

Analizar, en enfermos afectos de NIgA, las variables clínicas, bioquímicas e histológicas asociadas a la activación local del complemento, y la capacidad de los niveles urinarios de MBL o C4d para identificar la presencia de depósitos mesangiales de C4d o MBL.

Este objetivo se compone de los siguientes objetivos específicos:

- Analizar los niveles urinarios de MBL, C4d, properdina y C5b-9 en enfermos afectos de NIgA y en un grupo control de enfermos renales sin NIgA.
- Analizar las correlaciones de los niveles urinarios de MBL, C4d, properdina y C5b-9 y las variables clínicas, bioquímicas e histológicas en dichos enfermos.
- Identificar, mediante análisis multivariante, los predictores independientes clínicos, bioquímicos e histológicos de los niveles urinarios de C4d, MBL, properdina y C5b-9.
- Establecer, mediante curvas ROC, los puntos de corte de los niveles urinarios de MBL y C4d con mayor sensibilidad y especificidad para predecir la presencia de depósitos renales de ambas proteínas.

4.2. Segundo objetivo

Analizar en enfermos afectados de NIgA, cuáles de las moléculas IL-6, EGF, MCP- 1 o TGF β -1, o combinaciones de las mismas, tiene mayor capacidad de predecir la extensión de fibrosis intersticial.

Este objetivo se compone de los siguientes objetivos específicos:

- Analizar las correlaciones entre niveles urinarios de IL-6, MCP-1, TGF β -1 y EGF, y variables clínicas, bioquímicas y variables histológicas cuantitativas y categorizadas según la clasificación Oxford (índices M, E, S, y T) en enfermos afectados de NIgA.
- Identificar, mediante análisis multivariante, los predictores independientes clínicos, bioquímicos e histológicos de la excreción urinaria de IL-6, MCP-1, TGF β -1 y EGF.
- Realizar modelos predictivos que predigan mejor la extensión de las lesiones de fibrosis intersticial y analizar cuál de las citoquinas urinarias o qué combinación de ellas tiene mayor capacidad predictiva.
- Identificar los predictores independientes de la fibrosis categorizada según la clasificación Oxford.

4.3. Tercer objetivo

Analizar en enfermos afectados de NIgA, la concordancia entre la ratio EGF/creatinina en orina puntual y la excreción de EGF de 24h y comparar el poder predictivo de la extensión de fibrosis intersticial, tanto en la ratio EGF/creatinina en orina puntual como en la excreción de EGF de 24h.

Este objetivo se compone de los siguientes objetivos específicos:

- Analizar, mediante Passing-Bablok y Bland-Altman, la intercambiabilidad entre las medidas realizadas con la ratio EGF/creatinina en orina puntual y las realizadas con la excreción urinaria de 24h de EGF.

- Identificar, mediante análisis multivariante, los predictores independientes de la magnitud de las diferencias entre la ratio EGF/creatinina y la excreción de 24h de EGF.
- Analizar el sesgo, precisión y exactitud de la ratio EGF/creatinina para predecir la excreción de EGF de 24h, en el conjunto global de la población y tras clasificar la población según los terciles de FG.
- Analizar, mediante análisis univariante y multivariante, la capacidad de la ratio EGF/creatinina y de la excreción de EGF de 24h, para predecir la extensión de fibrosis intersticial.

4.4. Cuarto objetivo

Analizar en enfermos afectos de NIgA, los componentes de la variación total de la ratio EGF/creatinina.

- Identificar, mediante análisis multivariante, los predictores independientes clínicos, bioquímicos e histológicos de la variación de los niveles urinarios de EGF.
- Estimar los componentes de la variación total de las medidas de EGF urinarias (variación analítica, variación intraindividual y variación interindividual), tanto en el conjunto de la población como en la población agrupada según terciles de los predictores independientes hallados en el análisis multivariante previo, y comparar los componentes de la variación estimados en función de dichos terciles.
- Estimar el índice de individualidad (II), tanto en el conjunto de la población como en la población agrupada según terciles de fibrosis y FG.
- Estimar el valor de referencia del cambio (VRC) tanto en el conjunto de la población como en la población agrupada según terciles de fibrosis y FG, y analizar si existen diferencias significativas entre los VRC estratificados según dichos terciles.

5. Metodología

Para cumplir los objetivos planteados se realizaron cuatro estudios, cada uno dirigido a responder uno de los cuatro objetivos y sus subobjetivos. La metodología empleada en cada uno de estos estudios se detalla a continuación:

5.1. Metodología empleada para el análisis del primer objetivo

5.1.1. Pacientes y diseño del estudio

Se estudió un total de 96 pacientes con NlgA idiopática diagnosticada por biopsia renal. Antes de realizar la biopsia renal y de iniciar cualquier tratamiento, se registraron variables demográficas y clínicas, y se obtuvieron muestras de sangre, y orina de la segunda micción de la mañana. En las muestras de sangre se midió la concentración creatinina sérica y se estimó el filtrado glomerular (FGe) mediante la ecuación CKD-EPI (Levey et al., 2009). Se almacenó el suero restante a -80°C para la posterior determinación de las concentraciones de properdina, MBL, C5b-9 y C4d. En las muestras de orina se realizó el estudio del sedimento urinario, y las que presentaron piuria se descartaron del estudio. Posteriormente se centrifugaron a 1500g durante 10 min y se midieron las concentraciones de proteínas y creatinina. La orina restante se almacenó a -80 °C para la posterior determinación de properdina, MBL, C5b-9, y C4d.

En el momento de obtener las muestras, ningún paciente recibía tratamiento con bloqueadores de los receptores de la angiotensina II, inhibidores de la ECA, combinaciones de ambos, ni antagonistas de la aldosterona. Ningún paciente fue tratado con esteroides ni otros medicamentos inmunosupresores y ningún paciente recibió paricalcitol.

Se realizaron las mismas determinaciones en un grupo control de 30 enfermos que habían sido estudiados por presentar proteinuria, con o sin alteración de la función renal, y en los que se apreciaron lesiones de glomeruloesclerosis asociadas a inmunofluorescencia negativa en la biopsia renal, y que presentaban edades, distribución por sexos, niveles de FGe, proteinuria y porcentaje de hipertensión comparables al grupo de enfermos con NlgA.

El protocolo de estudio se desarrolló siguiendo las normas de Helsinki y fue aprobado por el Comité de Ética del hospital. Todos los enfermos proporcionaron su consentimiento informado.

5.1.2. Determinaciones bioquímicas

Las medidas de concentración de creatinina se realizaron mediante ensayo enzimático, trazable a la espectrometría de masas con dilución isotópica (IDMS) (CREA plus, Hitachi Modular P-800; Roche Diagnostics, Berlin, Germany). Este ensayo se basa en la conversión de creatinina en glicina y peróxido de hidrógeno. Este último reacciona con 4-aminofenazona y ácido 2,4,6-triiodo-3-hidroxibenzoico para formar un cromógeno que se mide fotométricamente. La concentración de proteínas en orina se midió mediante un ensayo colorimétrico automatizado (AU5400, Beckman Coulter).

Las concentraciones séricas y urinarias de properdina, MBL, C4d y C5b-9 se midieron mediante sistemas de ELISA comerciales: ELISA properdina (Hycult Biotech, Uden, The Netherlands), ELISA MBL (Hycult Biotech, Uden, The Netherlands Antibodyshop, Gentofte, Denmark), ELISA C5b-9 (BD Biosciences, San José, California, USA) y ELISA C4d (Quidel MicroVue TM C4d Fragment, San Diego, California, USA). Las medidas de concentración de cada una de las muestras se realizaron por duplicado y se obtuvieron mediante una curva de calibración con patrones purificados y sueros de referencia obtenidos de los fabricantes. Los coeficientes de variación interplaca fueron inferiores al 13% en todas las moléculas analizadas. Las concentraciones urinarias de dichas moléculas se expresaron en valor absoluto y tras ajustar por concentración de proteínas (ng/mg proteínas) y de creatinina (ng/mg creatinina).

5.1.3. Estudio anatomopatológico de las biopsias renales

El tejido renal se fijó en parafina, y se realizaron cortes de 4µm que se tiñeron con hematoxilina-eosina, tricómico de Masson, ácido periódico de Schiff y metenamina de Jones. Los estudios de inmunofluorescencia se realizaron en muestras de tejido congeladas, utilizando anticuerpos contra las inmunoglobulinas A, G y M, fibrinógeno, C3 y C1q. Las tinciones inmunohistoquímicas para properdina, MBL, C4d y C5b-9 se realizaron en cortes de 4µm, desparafinados y rehidratados tras recuperación de antígeno por cocción en microondas durante 5 min en tampón Tris/EDTA, pH 8,5. Para dichas tinciones se utilizaron los siguientes anticuerpos: properdina (anti-MRP2 antibody [EPR10997(2)] (ab187644) Cambridge, UK), MBL (monoclonal antibody to mannose-binding lectin [3E7] Rockford Road, IL, USA) y C5b-9 (anti-C5b-9 antibody [aE11] (ab66768) abcam, Cambridge, UK). Como controles positivos se utilizaron biopsias de enfermos con rechazo humoral, nefropatía

membranosa y glomerulonefritis membranoproliferativa, y como controles negativos, biopsias de enfermos con nefropatía por cambios mínimos. Mediante morfometría cuantitativa, utilizando un autoanalizador Olympus WCE2, se contabilizó el porcentaje de glomérulos con lesiones de proliferación mesangial, esclerosis segmentaria, proliferación intracapilar, así como el porcentaje de infiltración celular intersticial y fibrosis intersticial. Las biopsias renales fueron clasificadas siguiendo los criterios de Oxford 2009 (Roberts et al., 2009).

5.1.4. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se expresaron como media y desviación estándar para las variables con distribución normal, o como mediana y cuartiles para las variables con distribución no normal. Las diferencias entre las medias de 2 grupos se evaluaron mediante la prueba t de Student para datos independientes o la prueba de Mann-Whitney. Las diferencias entre proporciones se evaluaron mediante la prueba Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fischer. Para el análisis de correlación entre variables cuantitativas se utilizó el coeficiente de correlación de Spearman. Para analizar los predictores independientes de los niveles urinarios de properdina, MBL, C4d y C5b-9 en orina, se realizó un análisis de regresión simple univariante, seguido de un análisis de regresión multivariante con introducción manual de las variables paso a paso, considerando el logaritmo de la concentración de cada molécula como variable dependiente, y tras comprobar la normalidad de su distribución. Mediante curvas ROC, se identificaron los niveles urinarios de C4d y MBL con mayor sensibilidad y especificidad para la identificación de pacientes con depósitos renales de C4d y MBL. Se consideró estadísticamente significativo todo valor de $p < 0,05$. El análisis estadístico se realizó mediante el programa SPSS versión 20.0.

5.2. Metodología empleada para el análisis del segundo objetivo

5.2.1. Pacientes y diseño del estudio

Se estudió un total de 58 pacientes con NIgA idiopática diagnosticada por biopsia renal. Antes de realizar la biopsia renal y de iniciar cualquier tratamiento, se registraron las variables demográficas y clínicas, y se obtuvieron muestras de sangre, orina de 24h y orina

de la segunda micción de la mañana. Se midió la concentración de creatinina sérica y se determinó el FG de dos maneras: estimado por CKD-EPI (FGe) (Levey et al., 2009) y calculado mediante el aclaramiento plasmático de $^{51}\text{Cr-EDTA}$ de la siguiente forma: se administró 3 MBq de $^{51}\text{Cr-EDTA}$ por inyección intravenosa. Se extrajeron, del brazo contralateral a la infusión, cuatro muestras de sangre venosa a las 2, 2.5, 3 y 4h después de la inyección. El FG se calculó por intersección de la pendiente y se corrigió a $1,73 \text{ m}^2$ de superficie corporal (Chantler et al., 1969). Se determinó la excreción de proteínas en la orina de 24h. En las muestras de orina de la segunda micción de la mañana, se realizó el estudio del sedimento urinario, y las orinas que presentaron piuria se descartaron del estudio. El resto de orinas se centrifugaron a 1500g durante 10 min y se almacenaron a -80°C para la posterior medida de las concentraciones de IL-6, EGF, MCP-1 y TGF β -1. En el momento de obtener las muestras de orina, ningún paciente recibía tratamiento con bloqueadores de los receptores de la angiotensina II, inhibidores de la ECA, combinaciones de ambos, ni antagonistas de la aldosterona. Ningún paciente fue tratado con esteroides ni otros medicamentos inmunosupresores y ningún paciente recibió paricalcitol.

El estudio se realizó siguiendo las normas de Helsinki, fue aprobado por el Comité de Ética del hospital y todos los pacientes firmaron un consentimiento informado.

5.2.2. Determinaciones bioquímicas

La idoneidad de la recogida de la orina de 24h se evaluó mediante la comparación de la creatinina total en la muestra con la creatinina predicha: $28 - (0,2 \times \text{edad}) \times \text{kg}$ en hombres y $23,8 - (0,17 \times \text{edad}) \times \text{kg}$ en mujeres en mg/día (Cockcroft and Gault, 1976). Las medidas de concentración de creatinina se realizaron mediante ensayo enzimático, trazable a IDMS (Hitachi Modular P-800 Roche Diagnostics, Berlin, Germany). La concentración de proteínas en orina se determinó mediante un ensayo colorimétrico automatizado. Las concentraciones urinarias de EGF, IL-6, MCP-1 y TGF β -1 se midieron mediante kits de ELISA comerciales (Quantikine R&D Systems, Minneapolis, USA) siguiendo las instrucciones del fabricante. Para medir la concentración total de TGF β -1 (latente + activo), las muestras de orina se diluyeron con 4 volúmenes de solución salina tamponada con fosfato, y se añadió HCl hasta obtener un pH de 2,5 a 2,0. Después de 30 min a temperatura ambiente, el pH se reajustó a 7,4 con NaOH (Ellis et al., 1998). Las medidas de concentración de cada una de las muestras se realizaron por duplicado y se obtuvieron mediante una curva de calibración con patrones purificados y sueros de referencia obtenidos de los fabricantes. Los coeficientes de

variación intraserial se calcularon realizando 10 determinaciones repetidas de 3 muestras con concentraciones conocidas, en la misma placa, y fueron inferiores al 5% en las 3 muestras y para todas las moléculas. Los coeficientes de variación interserial se calcularon realizando 10 determinaciones repetidas de 3 muestras con concentraciones conocidas, en distintas placas, y fueron inferiores al 7% en las 3 muestras y para todas las moléculas. Las concentraciones urinarias se ajustaron por concentración de creatinina, y se expresaron en pg/mg creatinina (IL-6) o ng/mg de creatinina (EGF, MCP-1 y TGF β -1).

5.2.3. Estudio anatomopatológico de las biopsias renales

Mediante morfometría cuantitativa, utilizando un autoanalizador Olympus WCE2, se contabilizó el porcentaje de glomérulos con lesiones de proliferación mesangial, esclerosis segmentaria, proliferación intracapilar, así como el porcentaje de infiltración celular intersticial y fibrosis intersticial. Las biopsias renales fueron clasificadas siguiendo el documento de consenso internacional de Oxford 2009 (Roberts et al., 2009).

5.2.4. Análisis estadístico

Los resultados obtenidos se expresaron como media y desviación estándar para las variables con distribución normal, o como mediana y cuartiles para las variables no normales. Las diferencias entre las medias de dos grupos se evaluaron mediante la prueba t de Student o la prueba de Mann-Whitney. La comparación de proporciones se realizó mediante la prueba Chi cuadrado la prueba exacta de Fischer. El análisis de correlaciones entre variables cuantitativas se realizó con el coeficiente de correlación de Pearson. Se realizó un análisis de regresión múltiple para identificar los predictores independientes de las concentraciones urinarias de IL-6, MCP-1, TGF β -1 y EGF. Con objeto de analizar la relación entre cada una de las moléculas estudiadas y la extensión de las lesiones de la fibrosis glomerular e intersticial, se realizó un análisis univariante, seguido de un análisis de regresión múltiple paso a paso, tomando la extensión de fibrosis como variable dependiente tras transformación logarítmica y comprobar de la normalidad de su distribución. Asimismo, se clasificó a los pacientes en 2 grupos en función de la presencia (T1+T2) o la ausencia (T0) de lesiones de fibrosis intersticial en la clasificación de Oxford y, tras un análisis univariante de selección de variables, se realizó un análisis de regresión logística paso a

paso, con un método de introducción manual basado en el cambio de $-LR$, para identificar las variables independientemente asociadas a la presencia de fibrosis intersticial. La calibración del modelo por categorías de riesgo se realizó mediante la prueba de Hosmer-Lemeshow (Hosmer and Lemeshow, 1995). En todos los casos se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0,05$. Para el análisis estadístico se utilizó el programa SPSS versión 20.0.

5.3. Metodología empleada para el análisis del tercer objetivo

5.3.1. Pacientes y diseño del estudio

Se reclutaron 58 pacientes con NIgA primaria confirmada por biopsia renal y con un FG superior a $30 \text{ mL/min/1,73 m}^2$. Antes de realizar la biopsia renal se registraron diferentes variables demográficas y clínicas, y se obtuvieron muestras de sangre, orina de 24h y orina de la segunda micción de la mañana. El FG se midió usando el aclaramiento plasmático de $^{51}\text{Cr-EDTA}$ (Chantler et al., 1969). En las orinas puntuales se realizó el estudio del sedimento urinario, y las que presentaron piuria se descartaron del estudio. El resto de orinas, se centrifugaron a $1500g$ durante 10 min y se almacenaron a -80°C para la posterior medida de las concentraciones de EGF y creatinina en las orinas puntuales, y las de EGF y proteínas en las orinas de 24h. En el momento de la extracción de las muestras, ningún paciente había recibido tratamiento con bloqueadores de los receptores de la angiotensina II (ARB), inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina, combinaciones de ambos, antagonistas de aldosterona, cimetidina, cotrimoxazol o cualquier otro fármaco que altere la secreción de creatinina tubular. Además, ninguno de los pacientes había sido tratado con esteroides, otros fármacos inmunosupresores o paricalcitol, antes de su inclusión en este estudio.

El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Ética del hospital. Todos los enfermos proporcionaron su consentimiento informado.

5.3.2. Determinaciones bioquímicas

La idoneidad de la recogida de la orina de 24h se evaluó mediante la comparación de la creatinina total en la muestra con la creatinina predicha: $28 - (0,2 \times \text{edad}) \times \text{kg}$ en hombres y

$23,8-(0,17 \times \text{edad}) \times \text{kg}$ en mujeres en mg/día (Cockroft and Gault, 1976). Las medidas de concentración de creatinina se realizaron mediante ensayo enzimático, trazable a IDMS (Hitachi Modular P-800 Roche Diagnostics, Berlin, Germany). La concentración de proteínas en orina se determinó mediante un ensayo automatizado colorimétrico.

Las concentraciones urinarias de EGF se analizaron con un kit comercial de ELISA (Human EGF Quantikine ELISA Kit, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante. Las medidas de concentración de cada una de las muestras se realizaron por duplicado y se obtuvieron mediante una curva de calibración con patrones purificados y sueros de referencia obtenidos de los fabricantes. El coeficiente de variación intraserial se obtuvo con tres muestras de pacientes de concentraciones conocidas, realizando 10 medidas repetidas en cada una de ellas, en la misma placa, y dicha precisión fue inferior al 4%, tanto a bajas (media: 12,5 pg/mL) como a altas concentraciones (media: 150 pg/mL). El coeficiente de variación interserial se obtuvo con tres muestras de pacientes de concentraciones conocidas, en 10 series analíticas separadas, y ésta fue inferior al 7%, tanto a bajas (media: 13,2 pg/ml) como a altas concentraciones (147 pg/mL). En las muestras de orina puntual, las concentraciones de EGF se ajustaron por la excreción de creatinina y se expresaron como $\mu\text{g/g}$. La excreción de EGF de 24 h se expresó en $\mu\text{g}/24\text{h}$.

5.3.3. Estudio anatomopatológico de las biopsias renales

La extensión de fibrosis intersticial fue analizada en tejido renal por cuatro nefropatólogos entrenados en cortes de $5\mu\text{m}$ que se tiñeron con tricrómico de Masson y se contabilizaron mediante morfometría cuantitativa con un autoanalizador (Olympus WCE2).

5.3.4. Análisis estadístico

Los resultados se expresaron como media y desviación estándar para las variables con distribución normal o como mediana y cuartiles para las variables no normales. La comparación de proporciones se realizó mediante la prueba de Chi-cuadrado o la prueba exacta de Fischer. Las correlaciones entre variables cuantitativas se analizaron con el coeficiente de correlación de Pearson. Para evaluar las diferencias entre las medidas de ratio EGF/creatinina y las de excreción de EGF de 24h se aplicó la prueba t de Student para muestras apareadas. La relación entre las medidas de la ratio EGF/creatinina en orina

puntual y su respectiva excreción de 24h, se analizó mediante el análisis de regresión Passing-Bablok (Passing and Bablok, 1983). Los límites de concordancia entre dichas medidas se analizaron mediante los gráficos de Bland-Altman (Bland and Altman, 1999). El sesgo se calculó como la media de las diferencias individuales entre las medidas de la ratio EGF/creatinina y las de excreción de EGF en orina de 24h. La precisión se estableció como la desviación estándar del sesgo. La exactitud fue evaluada con el porcentaje de pacientes con valores de ratio EGF/creatinina dentro del 30 y del 50% de la excreción de EGF en orina de 24h (K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification, 2002). Se realizó un análisis univariante seguido de análisis de regresión multivariante para identificar las variables independientes asociadas a la magnitud de las diferencias entre las medidas de la ratio EGF/creatinina y las de excreción diaria de EGF.

Mediante el coeficiente de correlación intraclase se evaluó la reproducibilidad interobservador de la extensión de fibrosis intersticial, obtenida por los cuatro nefropatólogos. Con fines estadísticos, se utilizó la mediana de las cuatro medidas. Para analizar la capacidad de EGF para predecir la extensión de fibrosis intersticial, se realizó un análisis univariante, seguido de un análisis de regresión múltiple por pasos, tomando la extensión de fibrosis intersticial como variable dependiente después de su transformación logarítmica y verificación de la normalidad de su distribución.

En todos los casos, se consideró estadísticamente significativo un valor de $p < 0.05$. Los análisis estadísticos se realizaron mediante los paquetes de análisis estadístico SPSS versión 20.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA), y Med-Calc (Broekstraat 52, 9030 Mariakerke, Belgium).

5.4. Metodología empleada para el análisis del cuarto objetivo

5.4.1. Pacientes y diseño del estudio

Se reclutaron 58 pacientes con NIgA primaria confirmada por biopsia renal, con FG superior a $30 \text{ mL/min/1.73m}^2$, calculado por $^{51}\text{Cr-EDTA}$ (Chantler et al., 1969). Dichos pacientes no presentaron signos de hipertensión maligna ni evidencia de lesiones extracapilares en la biopsia renal.

Antes de realizar la biopsia, y de iniciar cualquier tratamiento, se registraron las variables demográficas y clínicas, y se obtuvieron muestras de sangre, orina de 24h, y orina de la

segunda micción de la mañana. Se midió la concentración de creatinina sérica (mg/mL), la excreción de proteínas en orina de 24h (g/24h) y se determinó el FG de dos maneras: estimado por CKD-EPI (FGe) y calculado mediante el aclaramiento plasmático de ⁵¹Cr-EDTA (Chantler et al., 1969).

Los pacientes fueron seguidos semanalmente durante 4 semanas tras la biopsia. En cada control se obtuvieron muestras de suero para medir la creatinina sérica y determinar el FGe estimado mediante la ecuación CKD-EPI, y orinas de la segunda micción donde se midió la concentración de EGF, proteínas y creatinina.

En el momento de obtención de las muestras, ningún paciente recibió tratamiento con bloqueadores de receptores de angiotensina II (ARB), inhibidores de ECA, combinaciones de ambos o antagonistas de aldosterona. Además, ningún paciente fue tratado con esteroides u otros fármacos inmunosupresores o paricalcitol antes de la inclusión o durante el seguimiento.

No se observaron cambios en el FGe ni en la proteinuria en las 4 semanas posteriores a la biopsia renal.

Los procedimientos pre-analíticos para la extracción de muestras se realizaron de acuerdo con un protocolo estandarizado establecido para minimizar la variación pre-analítica: se extrajeron muestras de sangre en ayunas por la mañana mediante técnicas venipuntura convencionales. Después de dejarlas coagular, se centrifugaron a 3500 g durante 10 min. Se recogieron las orinas de la segunda micción de la mañana y, tras analizar el sedimento urinario, se centrifugó a 1500g durante 10 minutos y se conservó a -80°C, para las medidas posteriores de las concentraciones de EGF, creatinina y proteínas. Las muestras de orina con presencia de piuria se descartaron del estudio.

El estudio fue aprobado por el Comité de Ética del hospital. Todos los enfermos proporcionaron su consentimiento informado.

5.4.2. Determinaciones bioquímicas

La concentración de creatinina se determinó mediante ensayo enzimático, trazable a IDMS (CREA plus, Hitachi Modular P-800, Roche Diagnostics, Berlin, Germany). El coeficiente de variación interserial fue inferior al 3%. La concentración de proteínas en la orina se determinó mediante un ensayo colorimétrico automatizado. El coeficiente de variación interserial fue inferior al 5%.

La concentración urinaria de EGF se determinó mediante un kit de ELISA comercial (Human EGF Quantikine ELISA Kit, R&D Systems, Minneapolis, MN, USA), siguiendo las instrucciones del fabricante. Para cada paciente, la concentración de EGF se midió por duplicado en 3 muestras obtenidas en los 3 primeros controles clínicos semanales. Todas las medidas de EGF se analizaron en la misma serie, en placas del mismo lote. La variación analítica se calculó con medidas duplicadas de cada una de las muestras, tal y como se describe en el apartado de análisis estadístico. Las concentraciones se obtuvieron mediante una curva de calibración con patrones purificados y sueros de referencia obtenidos de los fabricantes. Los resultados se expresaron como ng/mg de creatinina.

5.4.3. Estudio anatomopatológico de las biopsias renales

El porcentaje de fibrosis intersticial fue analizado por cuatro nefropatólogos entrenados, en cortes de 5µm teñidos con tricrómico de Masson, mediante morfometría cuantitativa con un analizador de imágenes (Olympus WCE2).

5.4.4. Análisis estadístico

Para la medida de EGF urinario se realizó un estudio de valores extremos mediante boxplot (percentiles 2,5 y 97,5), tanto para las medidas intra-sujeto como para el conjunto total de datos. Se excluyeron valores extremos de las medidas de EGF intra-sujeto en 9 pacientes (6 pacientes con 1 valor extremo, y 3 pacientes con 2 valores extremos). Con el mismo método, se comprobó que no había valores extremos para el resto de variables incluidas en el estudio. Después de eliminar los valores extremos de las medidas intra-sujeto, se aplicó el test de Levene para comprobar la homogeneidad de las varianzas entre los pacientes. Se aplicó el test de Shapiro-Wilk para comprobar la normalidad de las distribuciones de las variables incluidas en el estudio.

La comparación entre dos medias intra-sujeto se realizó con la t de Student para medidas repetidas y la comparación de más de dos medias intra-sujeto, mediante análisis de varianza para medidas repetidas. El análisis de las correlaciones entre variables cuantitativas se realizó mediante el coeficiente de correlación de Pearson.

Los componentes de la variación total (variación analítica y variación inter- e intra-sujeto) se calcularon según el método publicado por Fraser y Harris (Fraser and Harris, 1989). Los componentes de la variación se expresaron en porcentajes relativos a la media (coeficientes de variación, CV). La variación analítica (CVa) se obtuvo a partir de los duplicados de cada una de las muestras determinadas. La variación total (CVtotal) se obtuvo calculando el CV de todos los datos. La variación intra-sujeto (CVi) se calculó con la media de todos los CV de todas las medidas de cada paciente, y restando CVa de la misma. La variación inter-sujeto (CVg) se obtuvo restando CVa y CVi de CVtotal.

La evaluación de diferencias estadísticamente significativas en los componentes de la variación biológica se calculó a partir de los intervalos de confianza asociados a cada uno de los componentes (Roraas et al., 2012). El II se calculó de acuerdo con la ratio obtenida de Ricós et al (Ricós et al., 2004). El VRC se calculó de acuerdo con la fórmula dada por Harris et al (Harris and Yasaka, 1983), para una probabilidad de un cambio bidireccional significativo del 95%.

Con fines estadísticos, la excreción urinaria de EGF fue recalculada como la media de todas las medidas de EGF en un mismo individuo durante todo el seguimiento, el porcentaje de extensión de fibrosis intersticial se introdujo como la media de los valores obtenidos por los cuatro observadores independientes y el FG se introdujo con los valores de $^{51}\text{Cr-EDTA}$ del inicio del seguimiento.

Después de seleccionar las variables asociadas con los niveles de excreción de EGF en el análisis univariante, se realizó un análisis de regresión múltiple para identificar los predictores independientes de los mismos. Posteriormente, las muestras de los pacientes fueron estratificadas en terciles para cada uno de los predictores independientes encontrados y, en cada caso, los componentes de la variación total, así como el II y el VRC fueron recalculados.

Los análisis estadísticos se realizaron mediante el paquete estadístico SPSS 20.0

Resultados, discusión y conclusiones

6. Resultados

Los resultados se exponen a continuación, agrupados en función del objetivo planteado:

6.1. Resultados referentes al primer objetivo

En la tabla 6.1.1 se resumen las características clínicas, bioquímicas y anatomopatológicas de los pacientes con NIgA, dependiendo de la presencia o ausencia de depósitos mesangiales de C4d o MBL en las biopsias renales y las de los enfermos del grupo control. No se apreciaron diferencias en edad, distribución por sexos, FGe, ni hipertensión entre los grupos. Los enfermos con NIgA C4d positivos presentaron niveles urinarios de MBL, C4d y C5b-9 significativamente superiores a los de los enfermos C4d negativos y a los del grupo control. Los niveles urinarios de properdina fueron significativamente superiores en los enfermos con NIgA que en el grupo control, sin diferencias entre enfermos C4d positivos y negativos. Todas las biopsias de enfermos con NIgA presentaron depósitos mesangiales de C3 y de C5b-9. Un total de 27 enfermos (28,1%) presentaron depósitos mesangiales de C4d, y 25 enfermos (26%) presentaron depósitos de MBL. De los 27 enfermos C4d positivos, 25 (92,5%) presentaron depósitos mesangiales de MBL que colocalizaron con los depósitos de C4d. Con relación a los enfermos C4d negativos, los enfermos C4d positivos presentaron menor prevalencia de macrohematuria, mayor prevalencia de lesiones S1 y mayores lesiones de fibrosis intersticial. En la figura 6.1.1 se muestran ejemplos representativos de tinciones inmunohistoquímicas con depósitos mesangiales de MBL, C4d, properdina, C3 y C5b-9.

Tabla 6.1.1. Características clínicas, bioquímicas y anatomopatológicas de los pacientes con NIgA dependiendo de la presencia o ausencia de depósitos mesangiales de C4d o MBL en las biopsias renales, y del grupo control

	IgA C4d+ N=27	IgA C4d- N=69	Controles N=30	p1	p2	p3
Edad (años)	35,8 (12,9)	34,9 (15,5)	38,4 (18,9)	0,36	0,39	0,34
Sexo V n (%)	19 (70,3)	43 (62,3)	20 (66,6)	0,61	0,58	0,49
Macrohematuria n (%)	8 (30)	30 (43,4)	0	0,21	0,001	0,001
Hipertensión n (%)	5 (18,5)	13 (19,0)	7 (23,3)	0,92	0,90	0,89
Creatinina (mg/dL)	1,31 (0,5)	1,19 (0,4)	1,21 (0,3)	0,036	0,039	0,24
FGe (ml/min/1,73 m ²)	89,6 (15,8)	93,1 (11,5)	90 (8,9)	0,21	0,35	0,42
Microhematuria (cel/μL)	96 (27)	111 (46)	0	0,58	NA	NA
CPC (g/g)	2,3 (0,9)	1,3 (0,6)	1,2 (0,5)	0,039	0,024	0,31
Clasificación Oxford						
M1 n (%)	9 (33,3)	20 (28,8)	–	0,96	NA	NA
S1 n (%)	10 (37)	12 (17,4)	–	0,039	NA	NA
E1 n (%)	4 (14,8)	10 (14,4)	–	0,82	NA	NA
Fibrosis n (%)				0,027	0,019	0,23
T0	13 (48)	47 (68)	21 (70)			
T1	10 (37)	15 (22)	7 (23)			
T2	4 (15)	7 (10)	3 (10)			
Inmunohistoquímica						
C3	27 (100)	69 (100)	0	0,95	NA	NA
Properdina	24 (88,8)	57 (82,6)	0	0,84	NA	NA
C4d+ n (%)	27 (100)	0 (0)	0	0,000	NA	NA
MBL+ n (%)	25 (90)	0 (0)	0	0,00	NA	NA
C5b-9+ n (%)	27 (100)	69 (100)	0	0,8	NA	NA
Niveles séricos						
C4d (μg/mL)	8,2 [2,1–74,6]	9,6 [1,9–91,3]	6,8 [2–66]	0,42	0,45	0,39
C5b-9 (ng/mL)	291 [19,5–457]	287 [33,2–498]	229 [17,3–298]	0,23	0,34	0,41
MBL (ng/mL)	709 [276–1723]	812 [195–1845]	754 [188–1786]	0,36	0,38	0,34
Properdina (μg/mL)	26 [6–56]	21,2 [4,8–69]	20,8 [3,9–54,5]	0,81	0,79	0,86
Niveles urinarios						
C4d/creatinina (ng/mg)	29,5 [2,1–58]	7,1 [2,2–8,5]	2,2 [0–4,1]	0,02	0,000	0,001
C5b-9/creatinina (ng/mg)	72,6 [7–296]	58,3 [6–280]	5,1 [0,1–23]	0,04	0,000	0,001
MBL/creatinina (ng/mg)	3,82 [0,6–8,4]	1,02 [0–0,8]	0,06 [0–0,2]	0,03	0,000	0,000
Properdina/creatinina (ng/mg)	0,61 [0,02–1,7]	0,57 [0–0,78]	0,12 [0–0,23]	0,44	0,004	0,003

Los resultados de las variables cuantitativas se expresan como media (DE). Los resultados de las variables categóricas se expresan como valor absoluto (porcentaje). Los niveles séricos y urinarios de C4d, C5b-9, MBL y properdina corresponden a la mediana y [P25-P75].

CPC: cociente proteinuria/creatinina; FGe: filtrado glomerular estimado; NA: no aplicable; p1: diferencias entre pacientes con NIgA C4d positivos y C4d negativos; p2: diferencias entre enfermos con NIgA C4d positivos y controles; p3: diferencias entre enfermos con NIgA C4d negativos y controles.

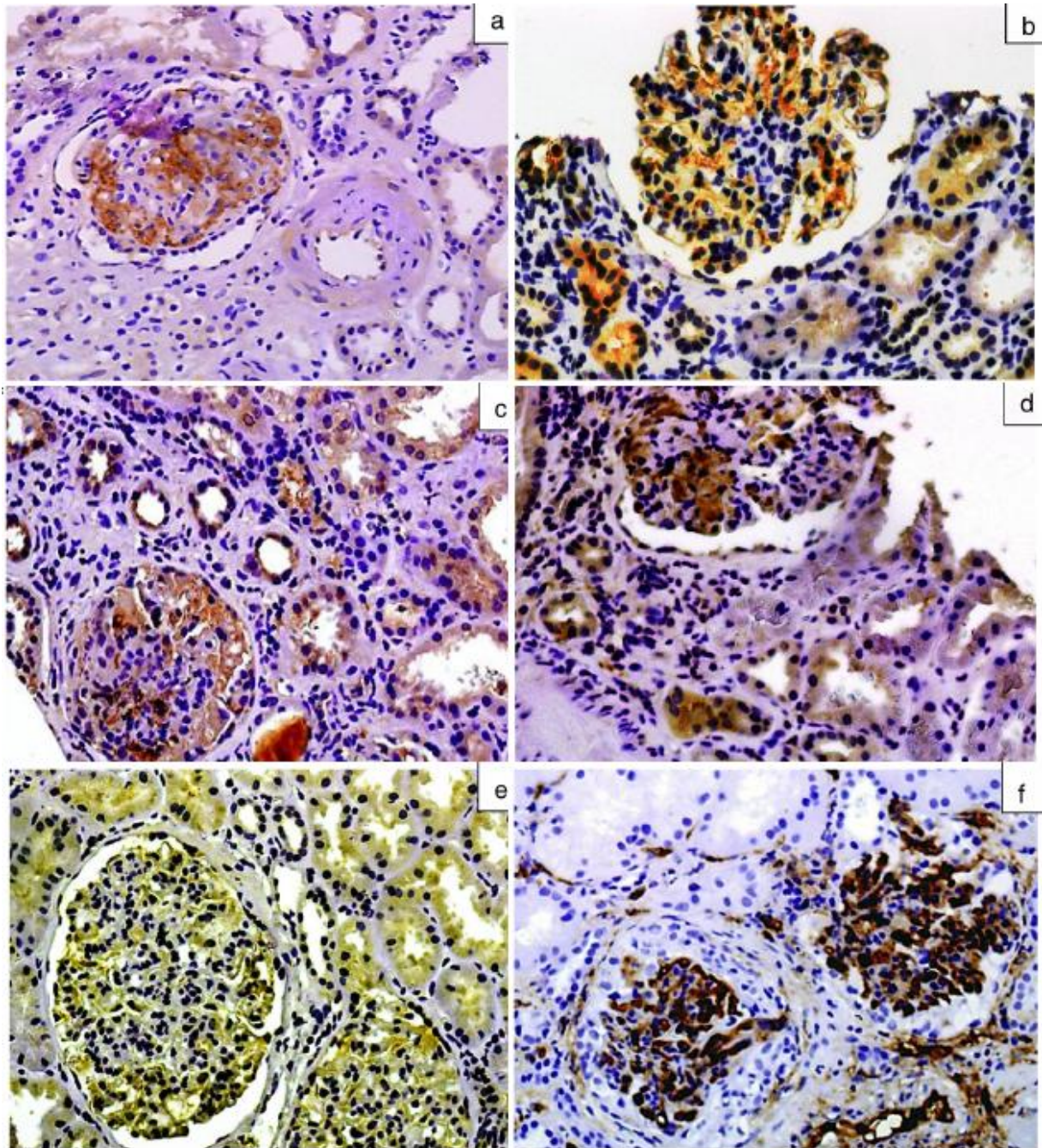


Figura 6.1.1. Imágenes de tinciones inmunohistoquímicas representativas de la presencia de depósitos mesangiales de MBL, C4d, properdina, C3 y C5b-9. a) MBL. b) C4d. c y d) Properdina (la positividad para depósito de properdina se observó tanto en el área mesangial como en el epitelio tubular). e) C3. f) C5b-9. Técnica streptavidina peroxidasa (x200).

En la tabla 6.1.2 se muestra la matriz de correlaciones entre las distintas variables bioquímicas y anatomopatológicas. Los niveles urinarios de properdina, C4d y MBL y C5b-9 fueron independientes de sus respectivos niveles séricos (r : 0,09; p : 0,34; r : 0,09; p : 0,76; r : 0,02; p : 0,59, respectivamente) y tuvieron correlaciones negativas con el FGe y positivas con la extensión de la glomeruloesclerosis focal, los infiltrados y la fibrosis intersticial. Además, todos ellos mostraron una correlación significativa con la proteinuria. Los depósitos de MBL y C4d tuvieron una elevada correlación entre sí y con los niveles de C5b-9. Los niveles de properdina se asociaron significativamente con los de C5b-9 y, de forma débil, con los de MBL y C4d.

Tabla 6.1.2. Matriz de correlaciones entre variables clínicas, bioquímicas e histopatológicas

	FGe	FIB	GS	ENDO	Infilt int	Prop	C4d	C5b-9	MBL
FIB	-0,56**								
GS	0,21*	0,25*							
ENDO	0,13	0,11	0,26*						
Infilt int	-0,23*	0,48**	0,31*	0,07					
Prop	-0,38**	0,43**	0,24*	0,01	0,29*				
C4d	-0,42**	0,35**	0,23*	0,04	0,38**	0,37**			
C5b-9	-0,37**	0,43**	0,25*	0,01	0,40**	0,48**	0,66**		
MBL	-0,49**	0,38**	0,30*	0,13	0,41**	0,24*	0,75**	0,59**	
CPC	-0,37**	0,38**	0,26*	0,03	0,19*	0,46**	0,39**	0,54**	0,43**

FGe: filtrado glomerular estimado; FIB: porcentaje de fibrosis intersticial; GS: porcentaje de glomérulos con esclerosis segmentaria; ENDO: porcentaje de glomérulos con proliferación endotelial; Infilt int: porcentaje de infiltrado celular intersticial; MBL: niveles urinarios de MBL (ng/mg creatinina); Prop: niveles urinarios de properdina (ng/mg creatinina); C4d: niveles urinarios de C4d (ng/mg creatinina); C5b-9: niveles urinarios de C5b-9 (ng/mg creatinina); CPC: cociente proteinuria/creatinina.

* $p < 0,05$.

** $p < 0,01$.

En la tabla 6.1.3 se resumen los predictores independientes de los niveles urinarios de properdina, C4d, MBL y C5b-9 en el análisis de regresión múltiple y la proporción de la variabilidad explicada por las variables predictoras, para cada una de ellas. El cociente proteinuria/creatinina (CPC) se identificó como un predictor independiente común a todas ellas, pero su influencia y su peso fueron distintos en cada caso. En el caso de los niveles de properdina, C4d y MBL, los principales predictores fueron la presencia de depósitos mesangiales de properdina, C4d y MBL, respectivamente, mientras que el CPC tuvo un peso inferior en cada una de ellas. Los principales predictores independientes de los niveles

de C5b-9 fueron el nivel urinario de properdina y el de MBL y, en mucho menor grado, el CPC.

Tabla 6.1.3. Predictores independientes de los cocientes properdina/creatinina C4d/creatinina, MBL/creatinina y C5b9/creatinina en orina mediante análisis de regresión múltiple

Variab dependientes	Variab predictoras	B	ET	β	Sig	R ²
Cociente properdina/creatinina*	Cociente proteinuria/creatinina	0,008	0,002	0,48	0,003	0,4
	Depósito mesangial de properdina	0,73	0,10	0,69	0,000	
Cociente C4d/creatinina*	Cociente proteinuria/creatinina	0,009	0,004	0,44	0,005	0,68
	Depósito mesangial de C4d	0,42	0,12	0,58	0,002	
Cociente MBL/creatinina*	Cociente proteinuria/creatinina	0,006	0,003	0,40	0,007	0,71
	Depósito mesangial de MBL	0,61	0,14	0,65	0,000	
Cociente C5b-9/creatinina*	Cociente MBL/creatinina	0,59	0,37	0,81	0,000	0,70
	Cociente properdina/creatinina	0,22	0,28	0,46	0,002	
	Cociente proteinuria/creatinina	0,09	0,01	0,19	0,046	

β : coeficiente estandarizado; R2: porcentaje de la variabilidad explicada por el conjunto de las variables independientes.

* Las variables dependientes fueron introducidas en el modelo tras transformación logarítmica y comprobación de su distribución normal.

En la figura 6.1.2 se representa los diagramas de dispersión entre la excreción urinaria de MBL, C4d, C5b-9 y properdina y el CPC. En conjunto, se observa que la excreción urinaria de las 4moléculas tiende a aumentar a medida que lo hace la proteinuria (ver tabla 6.1.2). Sin embargo, enfermos con niveles de proteinuria bajos pueden tener niveles de excreción elevados de MBL, C4d, C5b-9 y properdina, mientras que enfermos con proteinuria elevadas pueden tener niveles de excreción bajos de todas ellas.

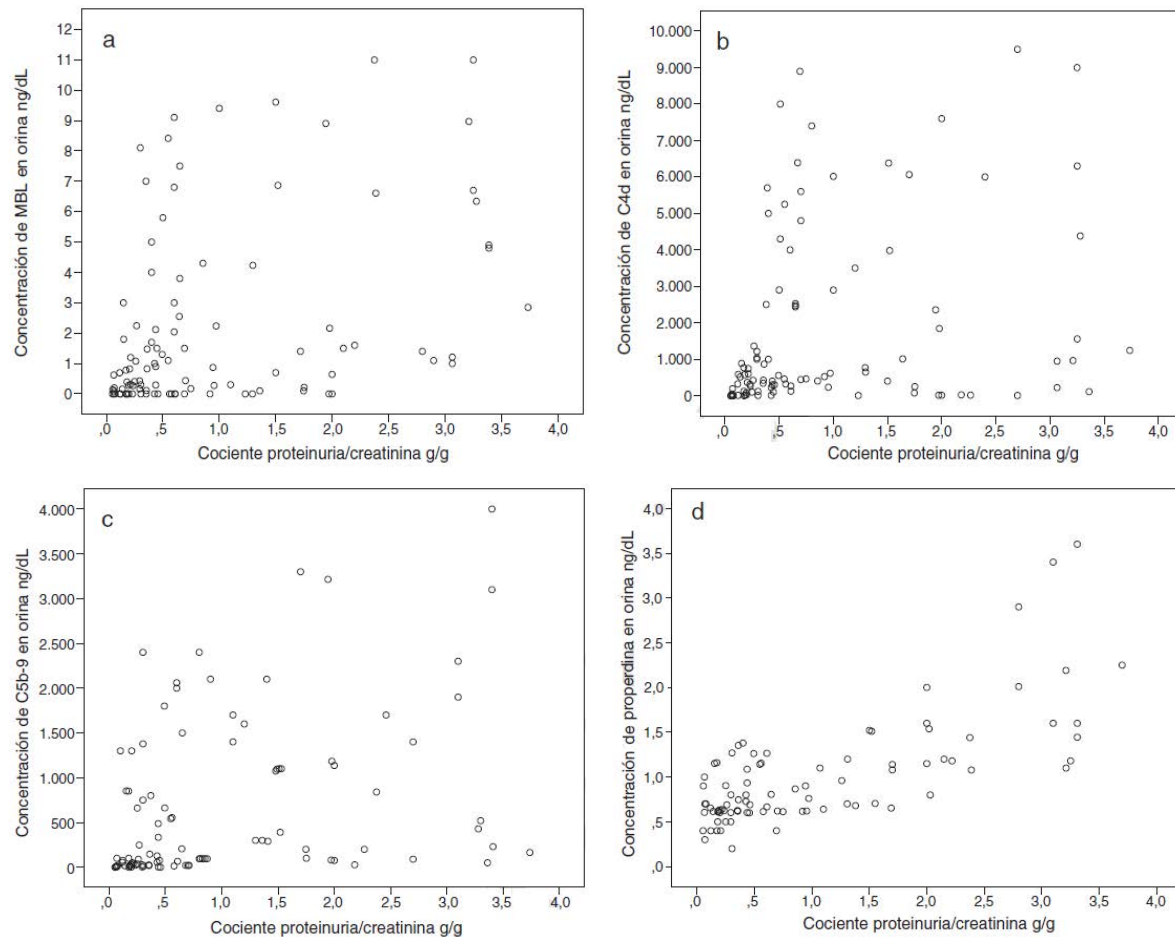
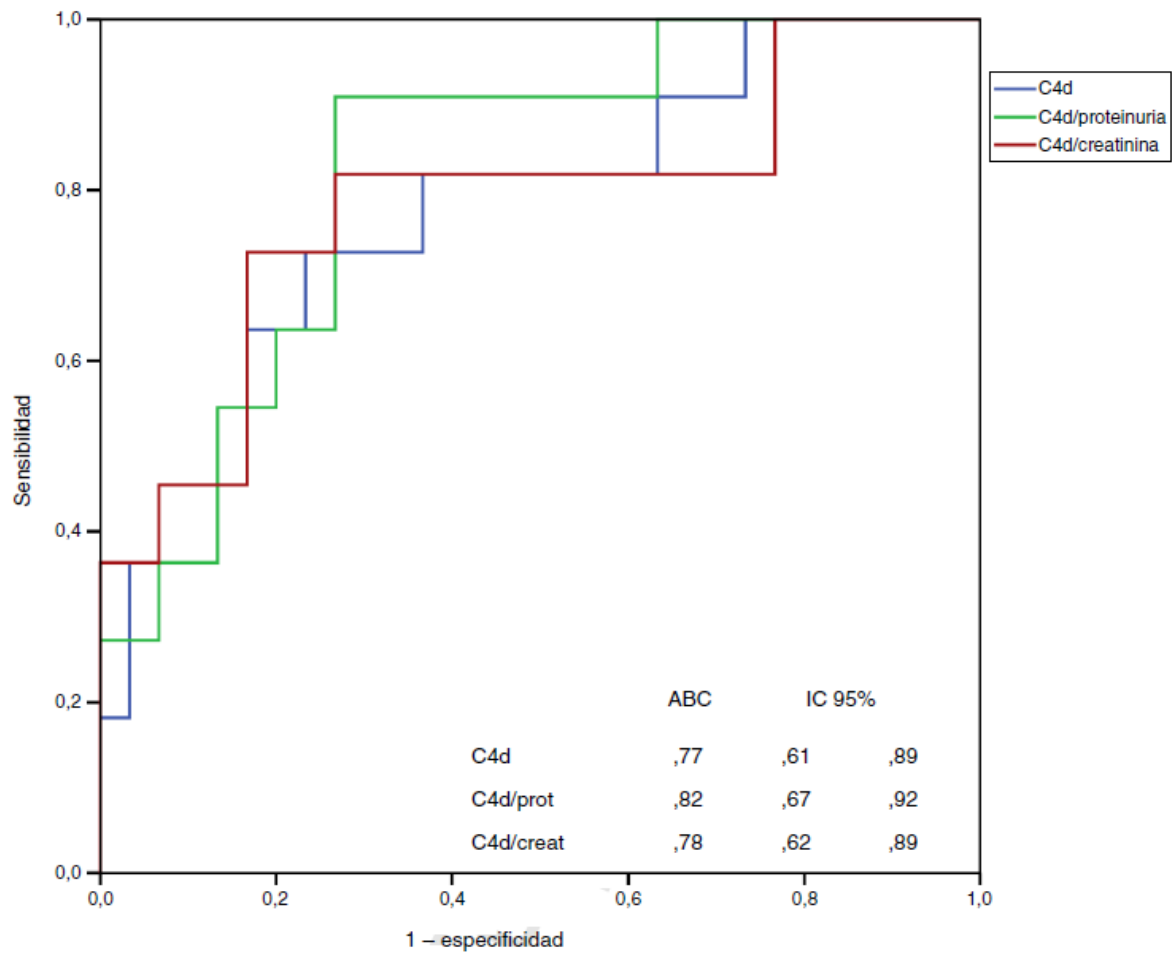


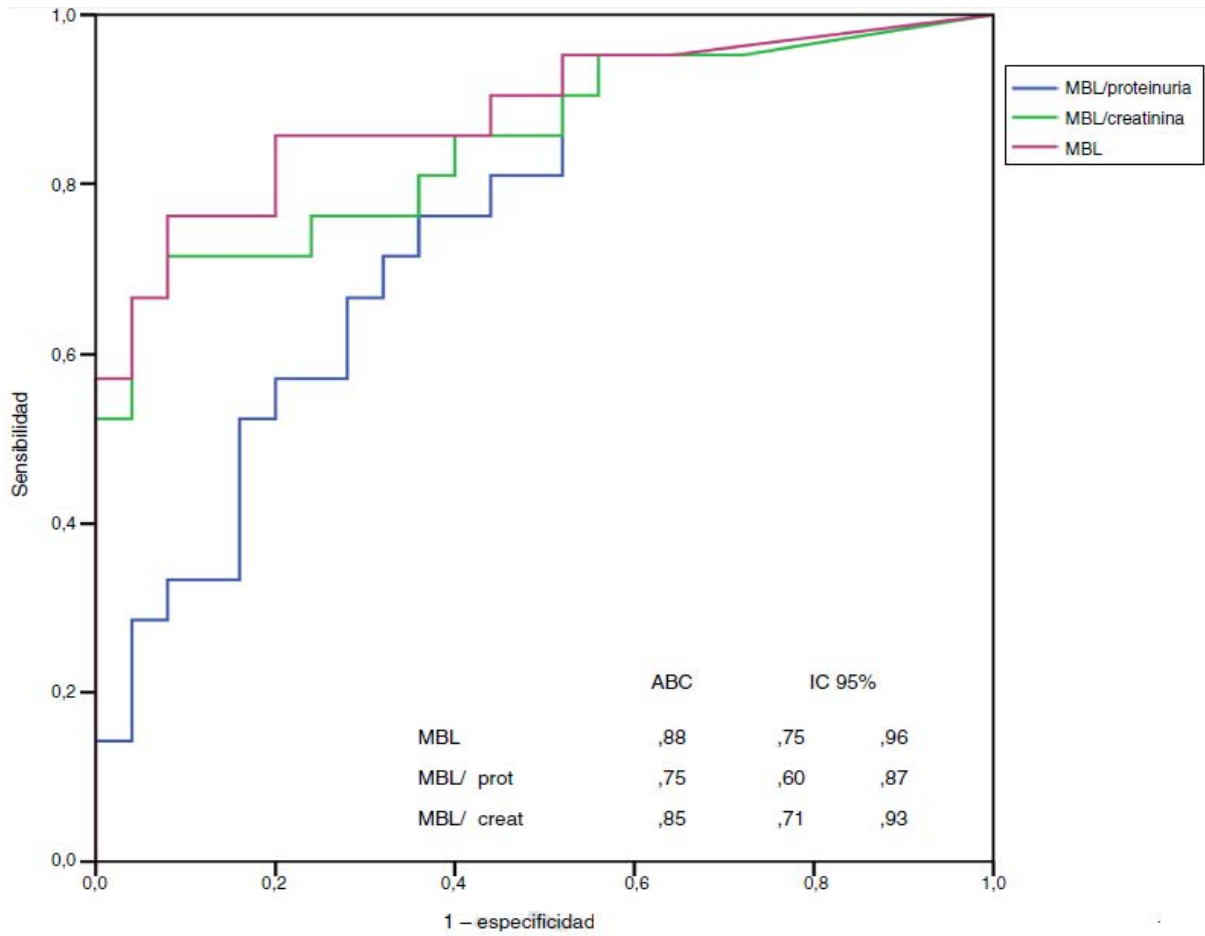
Figura 6.1.2. Diagramas de dispersión entre el cociente proteinuria/creatinina y los niveles urinarios de MBL, D4d, C5b-9 y properdina. a) MBL. b) C4d. c) C5b-9. d) Properdina.

En las figuras 6.1.3 y 6.1.4 se representan las curvas ROC con las que se analiza el valor de los niveles urinarios de C4d y de MBL para predecir la presencia de sus respectivos depósitos mesangiales y se especifican los puntos de corte con mayor sensibilidad y especificidad tanto en valores absolutos como tras ajustar por creatinina y proteinuria. Para la predicción de la presencia de depósitos mesangiales de C4d, los niveles urinarios tuvieron una sensibilidad y especificidad similar, tanto en términos absolutos como tras ajustar por creatinina o proteinuria. Para la predicción de los depósitos mesangiales de MBL, la sensibilidad fue también similar, independientemente de la forma de expresión de la concentración urinaria de MBL, pero la especificidad fue mayor ($p: 0,027$) al expresar el nivel de MBL en términos absolutos o como cociente con la creatinina que al expresarlo mediante el cociente MBL/proteinuria.



	Valor	Sensibilidad (IC 95%)	Especificidad (IC 95%)
C4d ng/dL	883,4	75 (46–95)	73 (54–87)
C4d/creat ng/mg	8,2	72,7 (41–94)	83,9 (66–95)
C4d/prot ng/mg	14,9	90 (58,7–99)	73 (54–87)

Figura 6.1.3. Análisis de la capacidad predictiva de los niveles de C4d en orina para la identificación de la presencia de depósitos mesangiales de C4d mediante curva ROC. No se apreciaron diferencias significativas entre las curvas correspondientes a los valores absolutos de C4d y las curvas correspondientes a los cocientes C4d/creatinina o C4d/proteinuria. ABC: área bajo la curva; IC 95%: intervalo de confianza del 95%.



	Valor	Sensibilidad (IC 95%)	Especificidad (IC 95%)
MBL orina ng/dL	0,61	83,9 (62–95)	81,6 (65–92)
MBL/creat ng/mg	0,76	71 (47,8–88,2)	93 (78,6–98,1)
MBL/prot ng/mg	0,25	95 (76,2–99,1)	48 (27,8–68,7)

Figura 6.1.4. Análisis capacidad predictiva de los niveles de MBL en orina para la identificación de la presencia de depósitos mesangiales de MBL mediante curva ROC. No se apreciaron diferencias significativas entre las curvas correspondientes a los valores absolutos de MBL y las correspondientes a los cocientes MBL/creatinina o MBL/proteinuria. ABC: área bajo la curva; IC 95%: intervalo de confianza del 95%.

6.2. Resultados referentes al segundo objetivo

En la tabla 6.2.1 se resumen las características clínicas y anatomopatológicas de la muestra de enfermos incluida en el estudio.

Tabla 6.2.1. Características clínicas, bioquímicas e histopatológicas de los enfermos con NlgA

N: 58

Edad (años)	48,1 ± 26,1
Sexo (H(%) /M(%))	40 (68,9)/18 (31)
Creatinina (mg/dL)	1,18 ± 0,9
FGe (ml/min/1,73 m ²)	85,9 ± 16,5
FG (ml/min/1,73 m ²)	85,2 ± 23,1
Proteinuria (g/24 h)	1,79 ± 0,61
Hematuria microscópica (cel/μl)	99 ± 45
Hematuria macroscópica n (%)	23 (39,6)
PAS (mmHg)	138 ± 18
PAD (mmHg)	76 ± 19
Clasificación de Oxford	
M1 n (%)	15 (26)
E1 n (%)	17 (29,3)
S1 n (%)	17 (29,3)
T0 n (%)	29 (50)
T1 n (%)	16 (27,5)
T2 n (%)	13 (22,4)
IL-6 (pg/mg o creatinina)	14, 8 [5-131]
EGF (ng/mg o creatinina)	17,9 [8,1-32]
MCP-1 (ng/mg o creatinina)	0,56 [0,31-0,96]
TGFβ-1 (ng/mg o creatinina)	28,4 [4,1-61,2]

Los datos cualitativos se expresan como frecuencia absoluta (porcentaje). Los datos cuantitativos representan la media±DE o la mediana y [P25-P75].

EGF: factor de crecimiento epitelial; IL-6: interleucina 6; MCP-1: proteína quimioattractante de monocitos de tipo 1; PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica; TGF 1: factor de crecimiento transformante β1. FG: filtrado glomerular medido mediante el aclaramiento de ⁵¹Cr-EDTA

En la tabla 6.2.2 se resume la matriz de correlaciones entre las variables analizadas en el estudio. En lo que respecta a la relación con las variables histológicas, se apreció una asociación estadísticamente significativa entre los niveles de IL-6, MCP-1 y TGFβ-1 y la extensión de la glomeruloesclerosis focal, y entre los niveles de MCP-1 y TGFβ-1 y la extensión de infiltrado intersticial. Asimismo, se apreció una correlación positiva entre la extensión de las lesiones de fibrosis intersticial y el nivel urinario de IL-6, MCP-1 y TGFβ-1 y negativa entre las lesiones de fibrosis intersticial y el nivel urinario de EGF. Sin embargo, no se observó asociación de ninguna de dichas moléculas con la presencia de proliferación intracapilar. Se apreció una correlación significativa entre niveles urinarios de IL-6, MCP-1, TGFβ-1 y proteinuria. Los niveles de EGF solo tuvieron asociación con el grado de fibrosis intersticial y con el FGe.

Tabla 6.2.2. Matriz de correlaciones entre variables clínicas, bioquímicas e histopatológicas

	FGe	FIB	GS	ENDO	Infilt int	IL-6	EGF	TGFβ-1	MCP-1
FIB	-0,46*								
GS	0,19	0,25**							
ENDO	0,13	0,11	0,26**						
Infilt int	-0,21**	0,46*	0,28**	0,07					
IL-6	-0,39*	0,35*	0,21**	0,04	0,25*				
EGF	0,63*	-0,63*	-0,15	0,01	0,20	-0,45**			
TGFβ-1	-0,23*	0,38*	0,20**	0,13	0,21**	0,52*	-0,18		
MCP-1	-0,32**	0,40*	0,20**	0,05	0,40**	0,38*	-0,22**	0,65*	
Prot	-0,57*	0,28*	0,26**	0,03	0,24**	0,29**	-0,11	0,44**	0,45**

FGe: filtrado glomerular estimado por CKD- EPI; FIB: porcentaje de fibrosis intersticial; GS: porcentaje de glomérulos con esclerosis segmentaria; ENDO: porcentaje de glomérulos con proliferación intracapilar; Infilt Int: superficie total de infiltrado intersticial; IL-6: interleucina 6; EGF: factor de crecimiento epitelial; TGFβ-1: factor de crecimiento transformante β1; MCP-1: proteína quimioattractante de monocitos de tipo 1; Prot: proteinuria de 24 h

* p < 0,01.

** p < 0,05.

Al categorizar a los enfermos según la clasificación de Oxford (tabla 6.2.3), no se apreciaron diferencias significativas en ninguna de las moléculas estudiadas en función de los índices M, E o S. Los enfermos con índices de fibrosis intersticial T1 y T2 presentaron niveles significativamente superiores de IL-6, MCP-1 y TGF β -1, y niveles de EGF significativamente inferiores que los enfermos T0, pero no se apreciaron diferencias significativas entre T1 y T2.

Tabla 6.2.3. Niveles urinarios de IL-6, MCP-1, TGF β -1 y EGF en los enfermos con NlgA, clasificados según los criterios de Oxford

	n	IL-6	MCP-1	TGF β -1	EGF
M1	15	10,8 [4,5–12]	0,42 [0,2-0,9]	25,4 [4,1–62,2]	12,2 [9,4–17]
M0	33	10,2 [3,9–11,6]	0,37 [0,2 -1,1]	27,1 [5,1–55,3]	13,4 [8,6–16]
E1	17	10,6 [4,2–15,3]	0,38 [0,1-0,8]	27,8 [4,6–59]	12,8 [8,5–17]
E0	41	9,9 [1,2–12,4]	0,40 [0,3–0,7]	25,4 [4,2–56]	13,1 [9–16]
S1	17	12,1* [6,2–47]	0,40 [0,2–0,7]	48 [24,1–55,5]	13,6 [8–17,1]
S0	41	4,1 [2,3–7,4]	0,39 [0,2–0,8]	17,8 [3,9–29,4]	12,9 [7,9–15]
T0	29	3,2 [2,3–4,1]	0,28 [0,06-1]	19,2 [3,1–38,3]	21,3 [14,5-26]
T1	16	7,9 [3,5–11,6]	1,47 [0,7 -1,9]	22 [6,1–55,2]	12,6 [6,3–18]
T2	13	26,9** [6,2–50,4]	4,6*** [0,8 -5,5]	49**** [7,6–73,3]	3,2***** [1,7–4,8]

Los valores representan medianas y [P₂₅-P₇₅].

* p = 0,028 S1 vs. S0.

** p = 0,0032 para tendencia lineal.

*** p = 0,035 para tendencia lineal.

**** p = 0,029 T2 vs. T1 + T0.

***** p = 0,0167 para tendencia lineal.

En la tabla 6.2.4 se resumen los predictores independientes de la excreción urinaria de cada una de las moléculas estudiadas en los análisis de regresión múltiple y el porcentaje de la variabilidad de cada una de ellas explicada por el conjunto de variables independientes. En todos los casos se aprecian asociaciones independientes y significativas con la superficie de fibrosis intersticial. Además también se aprecian asociaciones significativas de la IL-6, TGFβ-1 y MCP-1, con la esclerosis glomerular, de la MCP-1 con el infiltrado intersticial, y de la IL-6 y MCP-1 con la proteinuria.

Tabla 6.2.4. Predictores independientes de los concentraciones de IL-6, MCP-1, TGFβ-1 y EGF en orina en los modelos de regresión múltiple

IL-6	Beta	IC 95%	t	Sig.
Constante			2,9	0,021
Esclerosis glomerular	0,13	0,09-0,31	3,5	0,002
Fibrosis intersticial	0,29	0,18-0,42	4,4	0,001
Proteinuria	0,11	0,06-0,19	2,8	0,007
R2: 0,56 ANOVA p < 0,0001				
MCP-1	Beta	IC 95%	t	Sig.
Constante			4,5	0,000
Esclerosis glomerular	0,41	0,22-0,53	8,9	0,000
Fibrosis intersticial	0,39	0,10-0,75	3,9	0,002
Infiltrado intersticial	0,20	0,13-0,39	2,5	0,021
Proteinuria	0,16	0,81-0,22	3,7	0,035
R2: 0,49 ANOVA p: 0,026				
TGFβ-1	Beta	IC 95%	t	Sig.
Constante			1,9	0,036
Esclerosis glomerular	0,20	0,13-0,29	3,4	0,004
Fibrosis intersticial	0,18	0,05-0,27	1,8	0,041
R2: 0,47 ANOVA p: 0,035				
EGF	Beta	IC 95%	t	Sig.
Constante			2,3	0,023
Fibrosis intersticial	0,25	0,16-0,31	17,7	0,000
R2: 0,39 ANOVA p: 0,008				

En los análisis de regresión múltiple para predecir la extensión de las lesiones de fibrosis intersticial, la mayor capacidad predictiva se apreció con los modelos que incluyeron la edad, el FGe, la MCP-1 y, o bien la el EGF o bien la IL-6, pero no ambos a la vez, ya que entre ellos se detectó colinealidad (tabla 6.2.5).

Tabla 6.2.5. Modelos predictivos de la extensión de la lesiones de fibrosis intersticial mediante análisis de regresión múltiple				
	B	IC 95%	t	Sig.
FGe	0,11	0,06-0,21	3,4	0,033
Edad	0,16	0,04-0,19	3,7	0,028
R²: 0,22 ANOVA p: 0,034				
Modelo 1				
FGe	0,08	0,02-0,10	2,3	0,045
Edad	0,09	0,03-0,13	2,7	0,036
MCP-1	0,19	0,13-0,36	4,1	0,012
EGF	0,16	0,09-0,31	3,9	0,041
R²: 0,38 ANOVA p: 0,016				
Modelo 2				
FGe	0,07	0,04-0,12	2,3	0,040
Edad	0,10	0,06-0,15	2,4	0,042
MCP-1	0,21	0,14-0,39	3,6	0,027
IL-6	0,07	0,02-0,24	2,3	0,040
R²: 0,41 ANOVA p: 0,023				

p: 0,001

p: 0,9

p: 0,001

Al clasificar a los enfermos en 2 categorías en función de la presencia (T1+T2) o ausencia (T0) de fibrosis en las biopsias según la clasificación de Oxford, en el análisis de regresión logística se apreció que los predictores independientes de fibrosis fueron la edad, el FGe, la MCP-1 y el EGF (tabla 6.2.6). El modelo tuvo una buena capacidad predictiva con un área bajo la curva de $0,87 \pm 0,07$ ($p: 0,0001$) y una buena calibración para todas las categorías de riesgo (tabla 6.2.7). Los niveles de TGF β -1, además de asociarse con la esclerosis glomerular y con la fibrosis intersticial, tuvieron una asociación muy significativa con los niveles de IL-6 y MCP-1. La introducción del nivel de TGF β -1 en los modelos, manteniendo MCP-1 e IL-6, causó colinealidad y, al introducir el nivel de TGF β -1 en lugar del de MCP-1 o

el de IL-6 en los modelos, tanto el de regresión múltiple como el de regresión logística, perdieron capacidad predictiva de forma significativa.

Tabla 6.2.6. Modelo de regresión logística para estimar la probabilidad de presentar fibrosis grado T1-T2 de Oxford en la biopsia renal

	B	ET	Wald	OR	IC 95%	Sig
FGe	-0,23	0,07	10,4	0,70	0,68–0,91	0,001
Edad	0,02	0,003	86	1,025	1,02–1,036	0,003
EGF	-0,52	0,26	3,92	0,59	0,36–0,96	0,034
MCP-1	0,30	0,11	6,79	1,34	1,07–1,68	0,009

Edad (por año). ABC: 0,87±0,07.

p: 0,0001.

EGF: factor de crecimiento epitelial (por cada aumento en 1 ng/mg de creatinina); FGe: filtrado glomerular estimado mediante la ecuación CKD-EPI (por cada aumento de 1 ml/min/1,73 m²); MCP-1: proteína quimiotractante de monocitos de tipo 1 (por cada aumento en 1 ng/mg de creatinina).

Tabla 6.2.7. Calibración del modelo logístico por categorías de riesgo, mediante la prueba de Hosmer-Lemeshow

*Categorías de riesgo	Fibrosis = 1		Total
	Observado	Esperado	
<0,11	0	0,2	6
0,112-0,185	1	0,4	6
0,186-0,244	4	3,2	7
0,245-0,381	5	4,2	7
0,382-0,453	5	4,9	6
0,454-0,672	5	5,1	6
0,673-0,798	6	5,7	6
0,798-0,872	7	7	7
>0,872	7	7	7

No se apreciaron diferencias significativas entre el número de enfermos observados y esperados con lesiones de fibrosis intersticial por el modelo en ninguna de las categorías de riesgo. Chi2: 6,98; p: 0,90.

* Categorías de riesgo: probabilidad de presentar fibrosis intersticial estimada por el modelo logístico.

Fibrosis = 1: presencia de fibrosis de grado T1 o T2

6.3. Resultados referentes al tercer objetivo

En la Tabla 6.3.1 se resumen las características clínicas, bioquímicas e histopatológicas de la cohorte en estudio. No se rechazó ninguna orina de 24h debido a una excreción inadecuada de creatinina.

Tabla 6.3.1. Características clínicas, bioquímicas e histológicas de los pacientes con NlgA

n=58

Edad (años)	48,1 ± 26,1
Sexo (%M)	69
FG (ml/min/1.73 m ²)	85,2 ± 23,1
Proteinuria (g/24 h)	1,79 ± 0,61
EGF (ng/mg o creatinina)	17,9 [8,1-32]
EGF 24h (µg/24h)	21,4 ± 11,9
Fibrosis intersticial (%)	17,3 ± 14,4

Los datos cualitativos se expresan como frecuencia absoluta (porcentaje) Los datos cuantitativos son representados como la media ± DS, o como la mediana [P₂₅-P₇₅]

EGF: factor de crecimiento epitelial. FG: filtrado glomerular medido mediante el aclaramiento de ⁵¹Cr-EDTA

La Figura 6.3.1 muestra gráficamente los resultados del análisis de regresión de Passing-Bablok entre las medidas de la ratio EGF/creatinina y las de EGF de 24 h, junto con su correspondiente ecuación de regresión. La intersección de la ecuación de regresión fue -19,74 (IC 95%: -26,08 - (-13,39)). La pendiente fue 2,00 (IC 95%: 1,69 - 2,32). El modelo de regresión no mostró desviación significativa de la linealidad (p=0,54). Estos resultados indican que hay un error sistemático y proporcional entre ambas medidas.

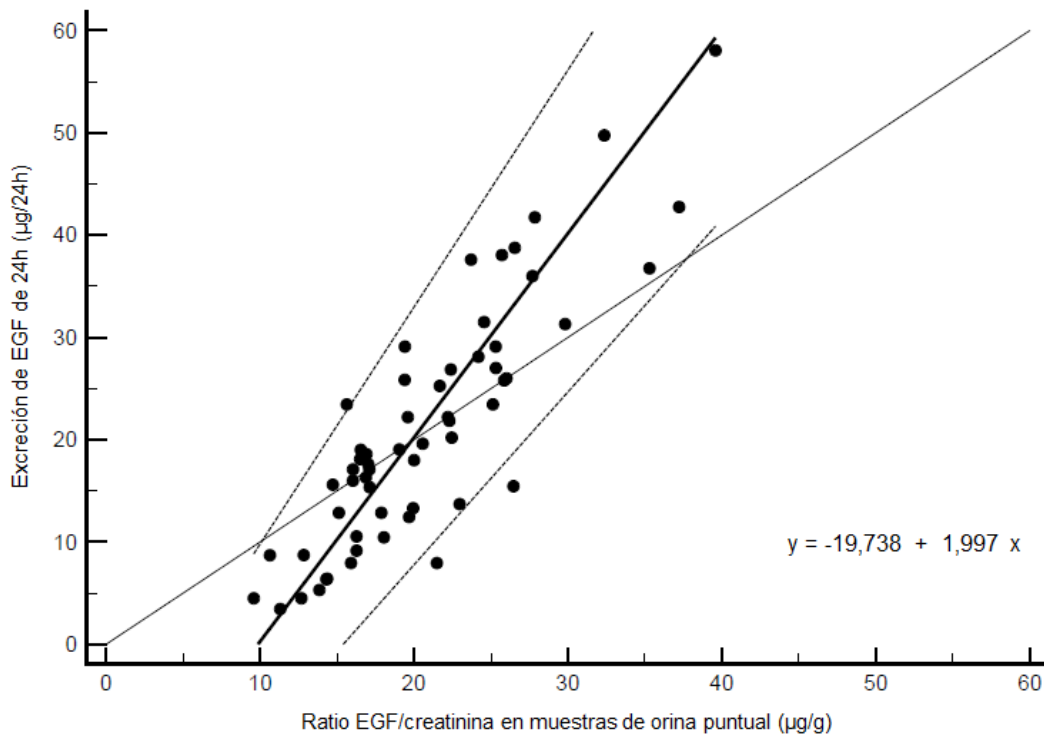


Figura 6.3.1. Recta de regresión de Passing-Bablok entre las medidas de la ratio EGF/creatinina y las medidas de EGF de 24h

La Figura 6.3.2 muestra el gráfico de Bland-Altman, que analiza la concordancia entre las medidas de la ratio EGF/creatinina y las de EGF de 24h, así como los límites de concordancia entre dichas medidas. Los resultados muestran que, aunque el intervalo medio de las diferencias entre ambas mediciones incluye el 0, la distribución de puntos indica un error proporcional entre las dos medidas.

De acuerdo con los resultados obtenidos con los modelos de Passing-Bablok y Bland-Altman, la relación entre las dos medidas no cumplió con los criterios de intercambiabilidad, e indicó que existía un sesgo sistemático y proporcional entre las medidas de la ratio EGF/creatinina y las de EGF de 24h.

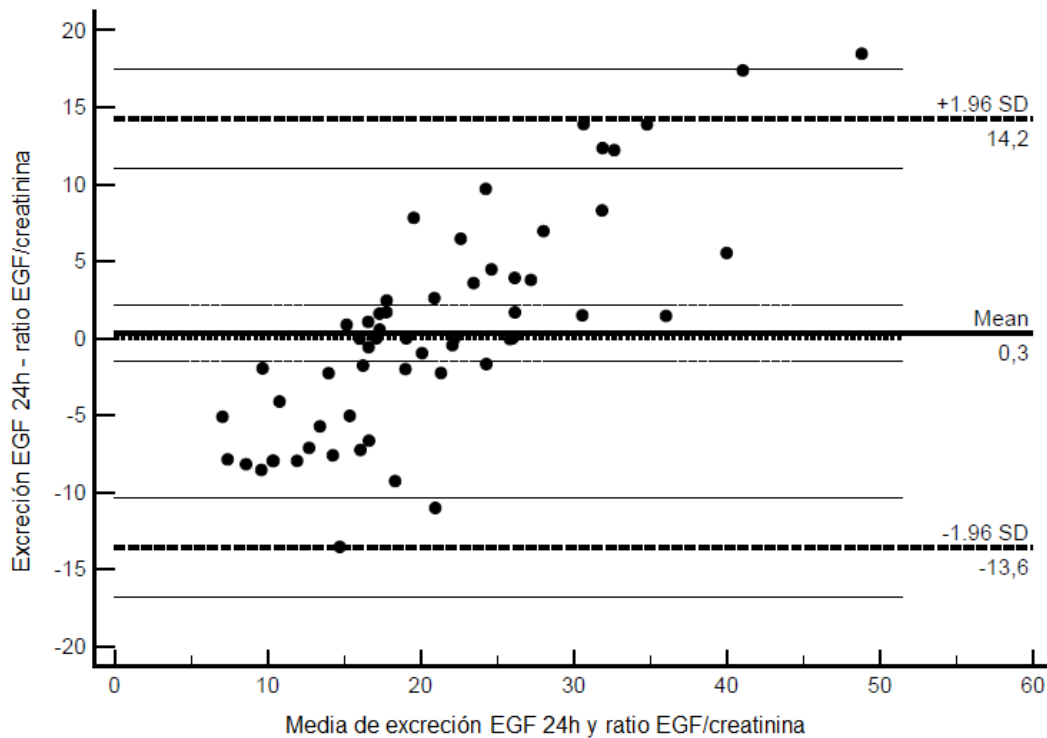


Figura 6.3.2. Gráfico de Bland-Altman. Análisis de la concordancia entre las medidas de la ratio EGF/creatinina y las medidas de EGF de 24h

En los análisis de regresión simple, las diferencias entre las medidas de la ratio EGF/creatinina y las de EGF en orina de 24h se asociaron significativamente con el FG, la proteinuria y la extensión de fibrosis intersticial (tabla 6.3.2(a)). En el análisis de regresión múltiple, los predictores independientes de las diferencias fueron el FG y la fibrosis intersticial, los cuales, en conjunto, representaron el 63% de la variabilidad (R^2 : 0,63, F : 71,4, p : 0,000) (Tabla 6.3.2(b)).

Tabla 6.3.2. Variables asociadas con las diferencias entre la ratio EGF/creatinina y la excreción de EGF de 24h en el análisis de regresión simple (a) y múltiple (b)

(a)	B	ES	t	p	R ²
FG	0,23	0,02	8,43	0,000	0,49
Fibrosis intersticial	-0,32	0,04	-7,64	0,000	0,38
Proteinuria (g/24h)	-3,42	0,97	-3,9	0,000	0,21
(b)					
FG	0,15	0,03	4,72	0,000	0,63
Fibrosis intersticial	-0,17	0,04	-3,11	0,000	

FG: filtrado glomerular medido mediante el aclaramiento de ⁵¹Cr-EDTA

La Tabla 6.3.3 resume el sesgo, la precisión y la exactitud de la ratio de EGF/creatinina en la predicción de la excreción de EGF de 24h en el conjunto global de la población y tras clasificar a los pacientes de acuerdo con los terciles de FG. El coeficiente de correlación intraclase (CCI) entre la ratio EGF/creatinina y la excreción de 24h de EGF en el total de la muestra fue de 0,72 (IC 95%: 0,57-0,82). La ratio EGF/creatinina sobreestimó la excreción diaria de EGF a niveles bajos de FG y la subestimó a niveles altos de FG.

En los análisis de regresión simple, la excreción de EGF de 24h resultó ser un predictor más fuerte de fibrosis que la ratio EGF/creatinina (R^2 : 0,51 vs 0,27; p : 0,003). En el análisis de regresión múltiple, el FG y la excreción de EGF de 24h resultaron ser los únicos predictores independientes de fibrosis intersticial y, en conjunto, representaron el 62% de su variabilidad.

Tabla 6.3.3. Precisión, sesgo y exactitud de la ratio EGF/creatinina en la predicción de la excreción de EGF de 24 h en el conjunto total de la población y después de clasificar a los pacientes de acuerdo con los terciles de FG.

Terciles de FG (mL/min/1.73 m ²)	Media ± SD EGF 24h (µg/24h)	Media ± SD ratio EGF/creatinina (µg/g)	CCI (CI 95%)	Sesgo	Precisión	p	Exactitud dentro del 30% (%)	Exactitud dentro del 50% (%)
<= 79	9,1 ± 3,6	16,2 ± 4,4	0,76 (0,48–0,90)	-7,1	2,7	0,000	15,8	36,8
79 - 95	21,2 ± 5,7	20,1 ± 5,3	0,97 (0,93–0,99)	-0,04	1,2	0,85	70	80
>95	32,7 ± 10,5	24,5 ± 6,5	0,82 (0,60–0,92)	8,1	5,2	0,000	62	73
Todos	21,4 ± 11,9	20,7 ± 6,4	0,72 (0,57–0,82)	0,3	7	0,72	37,9	63,8

CCI: coeficiente de correlación intraclase. FG: filtrado glomerular medido mediante el aclaramiento de ⁵¹Cr-EDTA

6.4. Resultados referentes al cuarto objetivo

La Tabla 6.4.1 resume las características clínicas, bioquímicas e histopatológicas de los pacientes con NIgA al inicio del estudio. El análisis de varianza para medidas repetidas no mostró cambios significativos en la presión arterial, FGe, número de células sanguíneas en el sedimento urinario o proteinuria durante las 4 semanas de seguimiento (p: 0,45, 0,62, 0,48 y 0,76, respectivamente). Los resultados de los componentes de la variación total y los parámetros derivados de las concentraciones urinarias de EGF se muestran en la Tabla 6.4.2.

Tabla 6.4.1. Características clínicas, bioquímicas e histopatológicas de los pacientes con NIgA al inicio del estudio

N=58

Edad (años)	48,1 ± 26,1
Sexo (%M)	69
Creatinina (mg/dL)	1,18 ± 0,90
Proteinuria (g/24h)	1,79 ± 0,61
FG (ml/min/1.73 m²)	85,2 ± 23,1
Fibrosis intersticial (%)	17,3 ± 14,4
EGF (ng/mg creatinina)	17,9 [8,1-32]

Los datos cuantitativos se son representados como la media ± DS, o como la mediana [P₂₅-P₇₅]

EGF: factor de crecimiento epitelial; FG: filtrado glomerular medido mediante el aclaramiento de ⁵¹Cr-EDTA

Tabla 6.4.2. Componentes de la variación total y parámetros derivados obtenidos de la excreción urinaria de EGF

N = 58

CVtotal (%)	46,4
CVa (%)	6,9
CVi (%)	4,6
CVg (%)	34,9
II	0,24
VRC	23,0

CVa: coeficiente de variación analítica; CVg: coeficiente de variación inter-sujeto; CVi. Coeficiente de variación intra-sujeto; II: índice de individualidad; VRC: valor de referencia del cambio

En el análisis multivariante, se encontró que el grado de fibrosis intersticial y el FG (medido mediante el aclaramiento de $^{51}\text{Cr-EDTA}$) fueron predictores independientes de la excreción urinaria de EGF (Tabla 6.4.3).

Tabla 6.4.3. Predictores independientes de la excreción urinaria de EGF en el análisis de regresión múltiple

	Beta	IC 95%	t	Sig
Constante	10,87	3,01 - 18,73	2,8	0,008
Fibrosis intersticial	-0,23	-0,34 - (-0,11)	-3,8	0,000
FG	0,09	0,02 - 0,17	2,5	0,014

R²: 0.50 ANOVA p: 0.000

FG: Filtrado glomerular medido mediante el aclaramiento de $^{51}\text{Cr-EDTA}$

Después de clasificar a los pacientes en terciles de acuerdo con los valores de FG, calculado mediante $^{51}\text{Cr-EDTA}$, y fibrosis (Tabla 6.4.4 (a) y (b)), se observa que tanto CVi como CVg varían según los terciles de ambas variables. CVi es significativamente mayor en el tercil más bajo de FG y en el tercil más alto de fibrosis. CVg aumenta significativamente a medida que los terciles de FG disminuyen y también es significativamente menor en el tercil más bajo de fibrosis. El índice de individualidad (II) es inferior a 0,6 en todos los subgrupos de pacientes. El valor de referencia del cambio (VRC) aumenta con el aumento de la magnitud de los terciles de fibrosis y con la disminución de la magnitud de los terciles FG.

Tabla 6.4.4. Efecto del FG (a) y FIB (b) sobre la excreción de EGF y sobre los componentes de la variación biológica y parámetros derivados

Terciles de FG (a) (mL/min/1.73 m²)	Mediana EGF [RIC] (ng/mg)	CVtotal (%)	CVa (%)	CVi (IC 95%) (%)	CVg (IC 95%) (%)	II	VRC
<= 79	8,48 [5,39-14,17]	61,3	6,9	8,3 (6,9-9,9)	46,1 (38,3-57,0)	0,23	29,9
79 - 95	14,88 [13,36-17,76]	40,6	6,9	3,1 (0,4-4,5)	30,6 (25,9-37,5)	0,25	21,0
>95	19,12 [13,42-23,57]	29,6	6,9	2,4 (0-4,0)	20,3 (17,0-25,0)	0,36	20,3
Terciles de FIB (b) (%)	Mediana EGF [RIC] (ng/mg)	CVtotal (%)	CVa (%)	CVi (IC 95%) (%)	CVg (IC 95%) (%)	II	VRC
<= 7,7	19,12 [14,10-23,83]	27,9	6,9	1,5 (0-3,5)	19,5 (16,2-24,3)	0,36	19,7
7,7 – 26,3	15,3 [13,46-17,77]	40,4	6,9	2,1 (0-3,8)	31,4 (26,4-38,5)	0,23	20,1
> 26,3	8,63 [5,51-13,20]	47,3	6,9	10,3 (8,8-12,1)	30,1(25,1-37,2)	0,41	34,3

FG: Filtrado glomerular medido mediante el aclaramiento de ⁵¹Cr-EDTA; FIB: porcentaje de fibrosis intersticial; CVa: coeficiente de variación analítica; CVg: coeficiente de variación inter-sujeto; CVi: Coeficiente de variación intra-sujeto; II: índice de individualidad; VRC: valor de referencia del cambio. RIC: Rango intercuartílico.

7. Discusión

El primer estudio realizado para analizar el primer objetivo y subobjetivos planteados, fue un estudio observacional en el que se reclutó 96 enfermos afectados de NlgA, en los cuales se registraron distintos parámetros demográficos y clínicos antes de realizar la biopsia, y en los que se extrajeron muestras de sangre y orina de la segunda micción de la mañana para determinar la concentración de properdina, MBL, C5b-9 y C4d, y creatinina. En las muestras de orina también se determinó la concentración de proteínas. Ningún paciente recibió tratamiento específico en el momento de obtención de las muestras. Mediante morfometría cuantitativa se cuantificó el porcentaje de glomérulos con lesiones de proliferación mesangial, esclerosis segmentaria, proliferación endocapilar, así como el porcentaje de infiltrado intersticial y fibrosis intersticial. Además se clasificaron las biopsias renales según la clasificación Oxford. Como grupo control se reclutaron 30 enfermos renales que presentaron lesiones de glomerulosclerosis en ausencia de inmunofluorescencia en la biopsia renal y con características demográficas y clínicas similares a las del grupo afecto de NlgA. El 28% de enfermos afectados de NlgA presentó depósitos de C4d positivos, con menor frecuencia de macrohematuria, proteinuria superior, y mayores lesiones de esclerosis glomerular y de fibrosis intersticial, clasificadas según el sistema Oxford, respecto a los enfermos C4d negativos.

Los niveles urinarios de MBL, C4d y C5b-9 fueron significativamente superiores en el grupo de enfermos con NlgA C4d positivos respecto al grupo de enfermos C4d negativos y al grupo control, mientras que, en los niveles urinarios de properdina, a pesar de ser significativamente superiores en el grupo de enfermos con NlgA que en el grupo control, no se observaron diferencias entre los grupos C4d positivo y C4d negativo.

En la biopsia renal se realizaron tinciones inmunohistoquímicas para detectar properdina, MBL, C4d y C5b-9, y los resultados mostraron que todos los enfermos de NlgA presentaron depósitos mesangiales de C3 y C5b-9, la mayor parte de ellos asociados a depósitos de properdina, lo que indica que en la NlgA las células mesangiales activan el complemento por la vía alternativa. Estos resultados concuerdan con los de otros estudios previos (Rauterberg et al., 1987; Miyazaki et al., 1984; Roos et al., 2006; Bene and Faure, 1987; Espinosa et al., 2014). Algunos de los enfermos afectados de NlgA presentaron depósitos mesangiales de C4d (28%), de los cuales la mayor parte colocalizaron con MBL, lo que sugiere que, en algunos enfermos, las células mesangiales también activan el

complemento por la vía de las lectinas. Estos resultados también coinciden con los de otros estudios previos (Endo et al., 1998; Liu et al., 2013; Roos et al., 2006; Espinosa et al., 2014; Sahin et al., 2014; Faria et al., 2015). En algunos pacientes también se encontraron simultáneamente depósitos de C4d y C3 o properdina, que podría indicar que en estos pacientes podría activarse simultáneamente la vía alternativa y de las lectinas. La activación de las dos vías podría explicar en parte por qué los pacientes con depósitos mesangiales de C4d tienen lesiones glomerulares e intersticiales más severas y disminución de la función renal (Roos et al., 2006).

Se estudiaron las correlaciones entre los niveles séricos y urinarios de properdina, MBL, C4d y C5b-9, las distintas variables anatomopatológicas cuantitativas, la proteinuria y el FGe, y se representó mediante gráficos de dispersión la relación entre los niveles urinarios de cada una de dichas moléculas y la proteinuria. Los resultados obtenidos mostraron que los niveles urinarios de properdina, C4d y MBL y C5b-9 no correlacionaron con sus respectivos niveles séricos, y sí correlacionaron con el FGe, la proteinuria, y con la extensión de la glomeruloesclerosis, infiltración celular y fibrosis intersticial, indicando que existe una asociación entre los niveles urinarios de dichas moléculas y el grado de severidad clínica e histológica de la enfermedad. Los niveles urinarios de C4d y MBL tuvieron una elevada correlación entre sí y con los niveles urinarios de C5b-9. Los niveles urinarios de properdina se asociaron significativamente con los de C5b-9 y débilmente con los de C4d y MBL. Los gráficos de dispersión indicaron que la excreción urinaria de properdina, C4d y MBL y C5b-9 tiene tendencia a aumentar a medida que lo hace la proteinuria. No obstante, tanto a niveles altos como a niveles bajos de proteinuria se observaron discordancias con los niveles urinarios para las 4 moléculas estudiadas.

Los resultados obtenidos en el análisis multivariante muestran que la mayor parte de la variabilidad de los niveles urinarios de properdina, MBL y C4d es explicada por los depósitos mesangiales de las mismas, y en menor medida por la proteinuria. Estos resultados indican que la excreción urinaria de dichas moléculas podría proporcionar información del tipo de vía que se está activando y sobre la intensidad del depósito. En el caso de los niveles urinarios de C5b-9, los principales predictores fueron los niveles urinarios de MBL y properdina y, en menor grado, la proteinuria.

Mediante el análisis con curvas ROC, se obtuvieron los puntos de corte de los niveles urinarios de C4d y MBL con mayor sensibilidad y especificidad, tanto en valor absoluto como tras ajustar por creatinina y por proteinuria, para predecir sus respectivos depósitos. En el caso de los niveles urinarios de C4d la sensibilidad y especificidad fueron similares en los tres casos. En el caso de los niveles urinarios de MBL, la sensibilidad también fue similar en los tres casos, pero la especificidad fue menor cuando se ajustaron los niveles por proteinuria.

Según los resultados obtenidos se podría deducir que la excreción urinaria elevada de properdina, C5b-9, MBL y C4d que se observa en pacientes de NlgA no parece ser debida exclusivamente a la proteinuria causada por la pérdida de integridad de la barrera de filtración glomerular. En primer lugar, aunque la proteinuria correlaciona con cada una de estas proteínas en el análisis univariante, los gráficos de dispersión muestran discordancias entre la proteinuria y cada uno de los niveles urinarios tanto a valores altos como a valores bajos de proteinuria. Además, los niveles urinarios de cada una de las proteínas no correlacionan con los niveles séricos de las mismas. En segundo lugar, los resultados de cada uno de los análisis multivariantes realizados para identificar los predictores independientes de los niveles urinarios de dichas moléculas, muestran que, aunque la proteinuria se identifica como variable predictora de la excreción urinaria de cada una de las variables, ésta explica sólo una parte de la variación observada en los niveles urinarios de cada una de las proteínas, en comparación con la presencia de sus respectivos depósitos mesangiales. En tercer lugar, los niveles urinarios de las cuatro moléculas estudiadas en el grupo de enfermos con NlgA son significativamente superiores a los del grupo control, el cual presenta excreción de proteínas comparable al grupo de enfermos. Por último, los niveles urinarios de C4d y MBL fueron significativamente superiores en los enfermos C4d positivos que en los enfermos C4d negativos y que en los enfermos con otras nefropatías no mediadas por activación del complemento, tras ajustar por proteinuria.

El hecho de que los niveles urinarios de C4d y MBL fueran significativamente elevados en los enfermos con presencia de depósitos de ambas moléculas, que los depósitos de C4d y MBL fueran predictores independientes de sus correspondientes niveles urinarios, y que las curvas ROC obtenidas para ambas moléculas mostraran una elevada sensibilidad y especificidad, tanto en valores absolutos como normalizados por creatinina o proteinuria, para identificar enfermos con depósitos mesangiales de C4d y MBL, sugiere que

los niveles urinarios de C4d y MBL podrían ser considerados como potenciales marcadores subrogados de los depósitos de dichas proteínas en los pacientes con NlgA.

Por último, los resultados de este estudio aportan nueva información sobre la activación del complemento por la vía de las lectinas en las células tubulares: Los niveles urinarios de C4d correlacionaron fuertemente con los de MBL, y éstos últimos, en los modelos de regresión múltiple, fueron predictores independientes de la excreción de C5b-9, independientemente de la proteinuria y de los niveles urinarios de properdina. Estos datos sugieren que, además de la presencia de properdina en la orina que activa la vía alternativa del complemento en las células tubulares (Gaarkeuken et al., 2008; Zaferani et al., 2011; Hsu and Couser, 2003; Abbate et al., 2008), la MBL urinaria podría también contribuir a la activación del complemento en la luz tubular a través de la vía de las lectinas. Estos datos pueden ayudar a elucidar la causa por la que los enfermos que presentan depósitos mesangiales de MBL y C4d y mayor excreción urinaria de ambas proteínas, tienen mayor extensión de lesiones tubulointersticiales en el momento del diagnóstico, tal y como se muestra en este estudio y en otros (Roos et al., 2006; Liu et al., 2013; Mucha et al., 2014; Espinosa et al., 2014; Sahin et al., 2014; Nasri et al., 2015; Faria et al., 2015), incluso tras ajustar por proteinuria, y podrían explicar por qué los niveles urinarios elevados de MBL se identifican como un signo del mal pronóstico (Liu et al., 2012).

El segundo estudio realizado para analizar el segundo objetivo y subobjetivos planteados, fue un estudio observacional en el que se reclutó una cohorte de 58 enfermos con NlgA, en la que registraron variables demográficas, clínicas y bioquímicas de cada uno de los pacientes antes de realizar la biopsia renal y de iniciar cualquier tratamiento. Se extrajeron muestras de sangre, orina de la segunda micción de la mañana donde se midieron las concentraciones de IL-6, EGF, MCP-1 y TGF β -1, y orina de 24h donde se midió la concentración de proteínas. Ningún paciente recibió tratamiento específico en el momento de obtener las muestras de orina. Al igual que en el estudio previo, se cuantificaron las lesiones renales mediante morfometría cuantitativa y se clasificaron las biopsias renales según el sistema Oxford.

Mediante correlaciones, se estudiaron las asociaciones entre los niveles urinarios de IL-6, EGF, MCP-1 y TGF β -1, las distintas variables anatomopatológicas cuantitativas, la proteinuria y el FGe. En relación a las variables histológicas, se observaron asociaciones estadísticamente significativas entre los niveles de IL-6, MCP-1 y TGF β -1 con la extensión de la glomerulosclerosis focal y fibrosis intersticial, y no se observaron asociaciones significativas entre dichos niveles y la presencia de proliferación endocapilar. Los niveles urinarios de EGF correlacionaron negativamente con la extensión de fibrosis intersticial. Al categorizar las variables según la clasificación Oxford, de los distintos índices M E S o T, solamente se observaron niveles urinarios de IL-6, MCP-1 y TGF β -1 significativamente superiores y de EGF significativamente inferiores en enfermos con índices de fibrosis intersticial T1 y T2 respecto a enfermos con T0. Respecto a las correlaciones de variables clínicas y bioquímicas, se observaron asociaciones significativas de IL-6, MCP-1 y TGF β -1 con la proteinuria, y de EGF y MCP-1 con el FGe. Estos resultados indican que, en pacientes con NlgA, los niveles urinarios de IL-6, EGF, MCP-1 y TGF β -1 se asocian al grado de severidad clínica e histológica de la enfermedad. También se observó autocorrelación significativa entre los niveles urinarios de MCP-1, IL-6 y TGF β -1, lo que sugiere que podrían explicar un mismo mecanismo patogénico común. EGF correlacionó significativamente con IL-6.

Mediante análisis univariante y multivariante se identificaron los predictores independientes de las concentraciones urinarias de IL-6, EGF, MCP-1 y TGF β -1. En todas las moléculas la extensión de fibrosis intersticial se identificó como variable independiente. También se identificó la esclerosis glomerular en el caso de la IL-6, MCP-1 y la TGF β -1; y el infiltrado intersticial en el caso de la MCP-1. Estos resultados concuerdan con resultados obtenidos en otros estudios previos. Por un lado, varios estudios indican que la expresión renal de IL-6 en la NlgA está aumentada en células mesangiales, en células del túbulo proximal y en células del infiltrado intersticial (Taniguchi et al., 1999b; Tomino et al., 1991; Ruef et al., 1990) y los niveles de expresión correlacionan con la severidad de la esclerosis glomerular y la severidad de la lesión tubulointersticial (Tomino et al., 1991; Ranieri et al., 1996). Además varios estudios previos también indican que los niveles urinarios de IL-6 se asocian significativamente a lesiones de esclerosis glomerular y fibrosis intersticial (Stangou et al., 2009). La expresión de TGF β -1 también se ha visto incrementada en células mesangiales, endoteliales, células epiteliales tubulares y células del infiltrado intersticial (Taniguchi et al., 1999b) y los niveles de expresión correlacionan con el grado de severidad de la lesión glomerular y tubulointersticial (Taniguchi et al., 1999a; Goumenos et al., 2002;

Meng et al., 2013). La correlación encontrada de los niveles urinarios de TGF β -1 con la extensión de esclerosis glomerular e intersticial en este estudio también coincide con la de otros (Nonaka Takahashi et al., 2008; Han et al., 2005; Sato et al., 2004; Lai et al., 2003; Goumenos et al., 2002). En cuanto a las asociaciones encontradas de los niveles urinarios de MCP-1 con las distintas variables histológicas, varios estudios también han encontrado niveles de expresión de MCP-1 aumentados en células parietales glomerulares, células tubulares corticales y células mononucleares infiltradas en pacientes afectados de NlgA (Yokoyama et al., 1998; Sun et al., 2009; Kim and Tam, 2011; Grandaliano et al., 1996) que correlacionan principalmente con la severidad de la lesión tubulointersticial e infiltrado monocitario (Grandaliano et al., 1996), y correlaciones entre los niveles urinarios de MCP-1 con la extensión de la esclerosis glomerular, fibrosis intersticial, e infiltrado intersticial (Grandaliano et al., 1996; Saitoh et al., 1998; Morii et al., 2003; Stangou et al., 2009; Yokoyama et al., 1998). Por último, la correlación negativa de los niveles urinarios de EGF con la extensión de las lesiones de fibrosis intersticial, también concuerda con evidencias previas que demuestran que la expresión de EGF en células epiteliales tubulares se encuentra disminuida en enfermos afectados de NlgA (Ranieri et al., 1996), y los niveles de expresión así como los niveles urinarios se asocian a la severidad de la lesión tubulointersticial (Ranieri et al., 1996; Stangou et al., 2009). Por tanto las asociaciones encontradas en el análisis de regresión múltiple coinciden con las de otros estudios previos e indican que los niveles urinarios de IL-6, MCP-1 y EGF pueden ser útiles como marcadores de severidad histológica (Grandaliano et al., 1996; Saitoh et al., 1998; Morii et al., 2003; Stangou et al., 2009; Yokoyama et al., 1998; Meng et al., 2013). La proteinuria se identificó como variable independiente en el caso de la IL-6 y MCP-1.

Con los resultados obtenidos en el análisis multivariante para encontrar los predictores de los niveles urinarios de IL-6, EGF, MCP-1 y TGF β -1, se realizó regresión lineal múltiple y regresión logística para identificar las variables predictoras independientes de la fibrosis intersticial en forma cuantitativa y categorizada, respectivamente.

Mediante regresión lineal múltiple, se obtuvieron distintos modelos. El mejor predictor de la extensión de fibrosis intersticial en todos ellos fue el FGe, pero los modelos que incluyeron FGe, edad, MCP-1 y, o bien EGF, o bien IL-6 tuvieron una capacidad predictiva superior. El nivel urinario de MCP-1 está presente como predictor independiente en los dos modelos seleccionados, complementando la información aportada por EGF o la aportada por IL-6, según el modelo. No se pudieron incluir a la vez IL-6 y EGF en un mismo modelo, ya que se produjo colinealidad al correlacionar entre sí. Tampoco se pudo añadir TGF β -1 en ninguno

de los dos modelos debido a que la elevada correlación entre TGF β -1 y MCP-1 también causaba colinealidad. Al sustituir TGF β -1 por MCP-1 o EGF la capacidad predictiva de los modelos, tanto en el de regresión múltiple como en el de regresión logística, disminuyó significativamente.

En el modelo de regresión logística, se identificaron como variables predictoras de los índices T1 y T2 de fibrosis, la edad, FGe, MCP-1 y EGF, coincidiendo con uno de los modelos de regresión lineal múltiple y complementando la información obtenida previamente. Este modelo tuvo un alto poder predictivo con un área bajo la curva de 0,87 y una buena discriminación para todas las categorías de riesgo, es decir, no se observaron diferencias significativas en el número de enfermos con lesiones de fibrosis intersticial observada y estimada con el modelo.

Los resultados obtenidos tanto en la regresión lineal múltiple como en la regresión logística sobre los predictores independientes de la extensión de fibrosis intersticial indican que IL-6, MCP-1 y EGF aportan una información adicional y más precisa sobre la extensión de fibrosis intersticial en comparación con el FGe aislado, y en consecuencia estas moléculas pueden aportar datos relevantes en la práctica clínica. Hasta la fecha ningún estudio ha realizado un estudio comparativo de cuál de los biomarcadores explica mejor la extensión de fibrosis intersticial. En este sentido los resultados de este estudio aportan nueva información sugiriendo que la combinación de variables edad, FGe, MCP-1 y, o bien EGF o bien IL-6, predicen la extensión de fibrosis intersticial con más fuerza que el FGe aislado.

Los resultados obtenidos en el primer y segundo estudios se consideran una prueba de concepto, por lo que su utilidad clínica debe ser validada previamente, confirmando de forma independiente los datos obtenidos en otras cohortes, con mayor número de pacientes, y con métodos analíticos distintos, antes de poder ser aplicados a la práctica clínica. Por ello, los modelos predictivos descritos solo pueden considerarse válidos para las condiciones en las que se han realizado las mediciones y para el grupo de enfermos estudiado.

El tercer estudio se realizó en la misma cohorte de 58 enfermos afectados de NIgA reclutada en el segundo estudio. Se determinaron distintas variables demográficas, clínicas y bioquímicas antes de realizar la biopsia renal y recibir tratamiento específico. Se obtuvieron muestras de orina de la segunda micción de la mañana donde se determinaron las ratios EGF/creatinina, y orina de 24h donde se midieron las concentraciones de EGF y de proteínas. El FG se midió mediante el método ^{51}Cr -EDTA. La extensión de fibrosis intersticial se analizó en las biopsias renales mediante morfometría cuantitativa.

El análisis de concordancia entre las medidas realizadas con la ratio EGF/creatinina y las realizadas con la excreción urinaria de 24h de EGF mediante Passing-Bablok y Bland-Altman, mostró que las medidas de la ratio EGF/creatinina no eran intercambiables con las medidas en orina de 24h, existiendo un error sistemático y proporcional entre ambas. Mediante regresión multivariante se identificaron el FG y la fibrosis intersticial como predictores independientes de las diferencias observadas entre ambas medidas.

La excreción urinaria de moléculas que reflejan lesión glomerular o tubular, generalmente se realiza midiendo la concentración de la molécula de interés en orina puntual y expresándola en función de la concentración de creatinina, para evitar medir la excreción total de 24h que implica realizar un proceso de recolección que es engorroso y sujeto a riesgo de sobre-recolección o infra-recolección. La utilización de las ratios en orina puntual en lugar de la excreción urinaria de 24h en general es adecuada para moléculas que no dependen directamente de la masa tubular total (Price et al., 2005), pero en moléculas cuyos niveles cambian en función de la masa tubular, como es el caso de la EGF, la utilización de la ratio puede dar lugar a errores de interpretación, ya que ésta depende de dos moléculas cuyo nivel disminuye paralelamente a la masa tubular pero a distinto ritmo. De esta forma, una reducción proporcional de EGF y creatinina mantendrá la ratio inalterada a pesar de existir una reducción progresiva de la masa tubular, mientras que si una de las moléculas disminuye más rápido que la otra, la ratio sobreestimaré o infraestimaré la excreción de 24h de EGF. Este hecho se refleja en los resultados obtenidos en el análisis de regresión múltiple y en la medida de la exactitud de la ratio EGF/creatinina para predecir la excreción de 24h de EGF. Los resultados del análisis multivariante mostraron que las diferencias observadas entre la ratio EGF/creatinina y excreción diaria de EGF dependen del FG y de la fibrosis. Los resultados del análisis de exactitud mostraron que la capacidad de la ratio de EGF/creatinina para predecir la excreción de 24 horas de EGF depende de la distribución de valores del FG. De esta forma, en el segundo tercil de FG, la ratio

EGF/creatinina en orina predice con mayor exactitud la excreción de 24h de EGF. Sin embargo, en el primer y el tercer tercil de FG la ratio EGF/creatinina sobreestimó e infraestimó, respectivamente, la excreción diaria de EGF. El hecho de que la magnitud de las diferencias observadas entre la ratio EGF/creatinina y excreción diaria de EGF dependan del FG, y este último se asocia a su vez al nivel de excreción de creatinina y a la extensión de fibrosis intersticial además explicaría la amplia variabilidad observada de los grados de asociación entre la ratio EGF/creatinina y la extensión de fibrosis en diferentes estudios (Ranieri et al., 1996; Stangou et al., 2009; Ju et al., 2015; Worawichawong et al., 2016). Los estudios que incluyen pacientes con valores de FG en el rango del segundo tercil de FG obtenido en este estudio generalmente obtendrán correlaciones más fuertes entre la ratio EGF/creatinina y la extensión de fibrosis que los estudios que incluyen pacientes con valores de FG inferiores o superiores al mismo.

Hasta donde sabemos, ninguno de los estudios ha medido la excreción de 24h, y por lo tanto en estos estudios no se ha podido comprobar si la excreción de 24h de EGF es mejor predictor de fibrosis que la ratio EGF/creatinina. En este estudio se comparó la capacidad predictiva de la extensión de fibrosis de la ratio EGF/creatinina y de la excreción diaria de EGF. Los resultados del análisis univariante indicaron que tanto la ratio EGF/creatinina como la excreción de 24h de EGF correlacionaron con la extensión de fibrosis intersticial, no obstante la excreción de 24h de EGF se asoció más fuertemente a la fibrosis que la ratio EGF/creatinina. Los resultados del análisis multivariante mostraron que los predictores independientes de la fibrosis intersticial fueron la excreción diaria de EGF y el FG. La presencia de estas dos variables independientes en la ecuación que se complementan podría explicarse considerando que la medición de los valores absolutos del FG mediante el aclaramiento de ^{51}Cr -EDTA proporciona información relacionada con el área de filtración glomerular, mientras que la excreción urinaria de EGF se considera un indicador del número de células tubulares (Ranieri et al., 1996; Ju et al., 2015; Gesualdo et al., 1996).

El cuarto estudio, al igual que en el segundo y tercer estudios, se realiza en una cohorte de 58 enfermos afectados de NlgA en los que se registran distintas variables demográficas, clínicas y bioquímicas. Ningún paciente recibió tratamiento específico antes de ser incluido en el estudio. Antes de realizar la biopsia renal, se obtuvieron muestras de

sangre, orina de 24h y orina de la segunda micción de la mañana, en las que se determinó la concentración de creatinina sérica, concentración de proteínas de 24h, y la ratio EGF/creatinina, respectivamente. Además se calculó el FG mediante el método $^{51}\text{Cr-EDTA}$. Se realizó un seguimiento semanal de la cohorte durante 4 semanas y en cada control se obtuvieron muestras de sangre para determinar la concentración de creatinina sérica y el FGe por CKD-EPI, así como orina de la segunda micción de la mañana para determinar los ratios EGF/creatinina y proteína/creatinina. En la biopsia renal se analizó la extensión de fibrosis intersticial. Se comprobó que no hubo cambios significativos durante el seguimiento en la presión arterial, FGe, y proteinuria.

Se identificaron la extensión de fibrosis intersticial y el FG como predictores independientes de la variación de los niveles urinarios de EGF mediante análisis multivariante.

Se estimaron los componentes de la variación total de las medidas de EGF urinarias tanto en el conjunto de la población como en la población agrupada según terciles de los predictores independientes hallados en el análisis multivariante previo (fibrosis y FG). Según los resultados obtenidos en la cohorte estudiada, CVa no cumple con las especificaciones deseables (CVa debe ser $<0.5\text{CVi}$) o mínimas (CVa debe ser $<0.75\text{CVi}$) de la calidad analítica, que son los criterios de calidad más comúnmente utilizados para la imprecisión analítica. De acuerdo con Fraser et al (Fraser and Petersen, 1999), la imprecisión analítica debe minimizarse para realizar una correcta monitorización del paciente a través de resultados consecutivos de una magnitud. Cuanto menor sea la variación analítica, mayor será la sensibilidad para detectar cambios en dos medidas consecutivas. Por lo tanto, el método analítico utilizado en este estudio debe ser estandarizado y validado para definir las especificaciones de calidad analítica para la imprecisión, antes de considerar su aplicación en estudios clínicos. Por otro lado, tanto el CVi como el CVg son significativamente más altos en el tercil de FG más bajo que en el más alto, lo cual concuerda con que dichos coeficientes también sean significativamente más altos en el tercil de fibrosis más alto que en el más bajo. El hecho de que la magnitud del CVg sea distinta en función del tercil de FG podría indicar que para diseñar estudios con suficiente potencia estadística donde se comparen niveles urinarios de EGF entre grupos hay que tener en cuenta la distribución de los FG de los pacientes incluidos.

Se calcularon los parámetros derivados de los componentes de la variación total, el índice de individualidad (II) y el valor de referencia del cambio (VRC), tanto en el conjunto de la población como en la población agrupada según terciles de fibrosis y FG. El índice de individualidad (II) obtenido en este estudio fue inferior a 0,6 tanto para el conjunto de la población como en los distintos grupos de acorde con los terciles de GFR y/o fibrosis. El II se emplea para decidir si se debe utilizar el valor de referencia del cambio (VRC) o el valor de referencia poblacional (VRP) para comparar un resultado obtenido. Mientras que a valores de II superiores a 1,4 es más apropiado comparar un resultado con el VRP, con II por debajo de 0,6 es más apropiado usar el VCR (Harris, 1981; Ricós et al., 2007; Plebani and Lippi, 2012; Harris, 1974; Fraser, 2004). La elevada individualidad obtenida en este estudio indica que se debe utilizar el valor de referencia del cambio (VRC) en lugar del valor de referencia poblacional (VRP) para interpretar los resultados obtenidos. El VRC calculado en este estudio varía en función del FG y de la extensión de fibrosis intersticial, como resultado de los cambios en CVi y CVg. Los resultados obtenidos indican que en los pacientes con enfermedad renal más grave (en la cohorte estudiada $FG \leq 79$ ml/min/1,73m² o $FIB > 26,3$) el VCR es significativamente mayor que en los pacientes con enfermedad renal menos grave.

Los principales puntos fuertes del tercer y cuarto estudios son que la medida del FG se ha realizado mediante ⁵¹Cr-EDTA, que es un método directo y objetivo, y que la distribución de valores de FG de la cohorte estudiada es amplia. No obstante, el número de pacientes incluidos en el estudio es bajo y no hay validación externa, y por lo tanto los puntos de corte del FG que definen la ratio EGF/creatinina en la predicción de la excreción de EGF de 24 h deben considerarse válidos sólo en las condiciones de medida utilizadas en estos estudios y para la cohorte de pacientes estudiada.

8. Conclusiones

Las conclusiones finales se agrupan según el objetivo general y sus correspondientes subobjetivos planteados:

8.1. Conclusiones del primer objetivo

- En enfermos afectados de NlgA los niveles urinarios de los factores de complemento MBL, C4d, properdina y C5b-9 son significativamente elevados respecto al grupo control con enfermedad renal, e independientes de la proteinuria generada por la pérdida de integridad de la barrera de filtración glomerular. Además, los enfermos con NlgA con presencia de depósitos mesangiales C4d y MBL también tienen niveles urinarios significativamente elevados de dichas moléculas respecto a los que no presentan depósitos mesangiales de C4d.
- En enfermos afectados de NlgA, los niveles urinarios de MBL, C4d, properdina y C5b-9 correlacionan con la proteinuria, el FGe, la extensión de fibrosis e infiltración intersticial, y en menor medida, el porcentaje de esclerosis glomerular, indicando que los niveles urinarios de dichas moléculas se asocian al grado de severidad clínica y tubulointersticial. Los niveles urinarios de MBL y C4d correlacionan fuertemente entre sí y con los niveles urinarios de C5b-9, y los niveles urinarios de properdina se asocian significativamente con los de C5b-9 y débilmente con los de C4d y MBL. Estos datos sugieren que en la NlgA, además de la activación de la vía de alternativa del complemento en las células tubulares por parte de la properdina, la MBL también puede activar el complemento en dichas células por la vía de las lectinas, contribuyendo a la progresión de la lesión tubulointersticial.
- Los predictores independientes de los niveles urinarios de properdina, MBL y C4d es explicada por los depósitos mesangiales de las mismas, y en menor medida por la proteinuria. En el caso de los niveles urinarios de C5b-9, los principales predictores fueron mayoritariamente los niveles urinarios de MBL y properdina. Estos resultados indican que la excreción urinaria de properdina, MBL y C4d puede proporcionar información del tipo de vía que se está activando y la intensidad del depósito. Por otro lado, los predictores identificados de la excreción de C5b-9 refuerzan la hipótesis de que

la excreción urinaria de MBL contribuye a la activación del complemento en las células tubulares por la vía de las lectinas.

- Según los resultados obtenidos en las curvas ROC, los niveles urinarios de C4d y MBL tienen una elevada sensibilidad y especificidad, tanto en valor absoluto como ajustados por creatinina y proteinuria, para predecir sus respectivos depósitos mesangiales, indicando los niveles urinarios de C4d y MBL podrían ser considerados como marcadores subrogados de la presencia de depósitos mesangiales de dichas moléculas.

8.2. Conclusiones del segundo objetivo

- En enfermos con NIgA idiopática, los niveles urinarios de IL-6, MCP-1 y TGF β -1 correlacionan significativamente con la extensión de la glomerulosclerosis focal y fibrosis intersticial y los niveles urinarios de EGF correlacionan negativamente con la extensión de fibrosis intersticial. Al categorizar las variables según la clasificación Oxford los niveles urinarios de IL-6, MCP-1 y TGF β -1 son significativamente superiores y los niveles de EGF significativamente inferiores en enfermos con índices de fibrosis intersticial T1 y T2 respecto a enfermos con T0. Respecto a las correlaciones de variables clínicas y bioquímicas, se observaron asociaciones significativas de IL-6, MCP-1 y TGF β -1 con la proteinuria y de EGF y MCP-1 con el FGe. Estos resultados indican que, en pacientes con NIgA, los niveles urinarios de IL-6, EGF, MCP-1 y TGF β -1 se asocian al grado de severidad clínica e histológica de la enfermedad. También se observó autocorrelación significativa entre los niveles urinarios de MCP-1, IL-6 y TGF β -1, indicando que estas moléculas podrían explicar un mismo mecanismo patogénico común.
- La extensión de fibrosis intersticial es un predictor independiente común de los niveles urinarios de IL-6, MCP-1, TGF β -1 y EGF. La esclerosis glomerular es un predictor independiente de los niveles urinarios de IL-6, MCP-1 y la TGF β -1. El infiltrado intersticial es un predictor independiente de los niveles urinarios de MCP-1. Estos resultados indican que los niveles urinarios de IL-6, MCP-1 y EGF pueden ser útiles como marcadores de severidad histológica. La proteinuria se identificó como variable independiente en el caso de la IL-6 y MCP-1, indicando que los niveles urinarios de dichas moléculas también podrían ser marcadores de severidad clínica.

- Los modelos de regresión lineal múltiple que incluyeron FGe, edad, MCP-1 y, o bien EGF, o bien IL-6 tuvieron una capacidad predictiva de la extensión de fibrosis intersticial superior al modelo constituido únicamente por FGe y edad.
- Las variables predictoras de fibrosis en el modelo de regresión logística, son la edad, FGe, MCP-1 y EGF. Este modelo tiene un alto poder predictivo y una buena discriminación para todas las categorías de riesgo.

8.3. Conclusiones del tercer objetivo

- Según los resultados de Passing-Bablok y Bland-Altman, las medidas de la ratio EGF/creatinina no son intercambiables con las medidas en orina de 24h.
- Los predictores independientes de la magnitud de las diferencias entre la ratio EGF/creatinina y la excreción de 24h de EGF son el FG y la fibrosis intersticial. Estos resultados podrían explicar la diferente capacidad de la ratio de EGF/creatinina para predecir la excreción de 24 horas de EGF en función del FG, y la amplia variabilidad observada en diferentes estudios en la magnitud de asociación entre la ratio EGF/creatinina y la extensión de fibrosis.
- En el segundo tercil de FG, la ratio EGF/creatinina en orina predice con menor sesgo, y mayor precisión y exactitud la excreción de 24h de EGF. Sin embargo, en el primer y el tercer tercil de FG la ratio EGF/creatinina sobreestimó e infraestimó, respectivamente, la excreción diaria de EGF, lo que sugiere que, en pacientes afectados de NIgA idiopática con FG elevados o disminuidos, debería emplearse preferentemente la excreción diaria de EGF en lugar de la ratio EGF/creatinina.
- El análisis univariante muestra que la excreción de 24h de EGF se asocia más fuertemente a la extensión de fibrosis intersticial que la ratio EGF/creatinina. En el modelo multivariante se observa que los predictores independientes de la fibrosis intersticial son la excreción de 24h de EGF y el FG, aportando información complementaria relacionada con la masa tubular y con el área de filtración glomerular, respectivamente.

8.4. Conclusiones del cuarto objetivo

- La fibrosis intersticial y el FG son predictores independientes de la variación de los niveles urinarios de EGF.
- CVa no cumple con las especificaciones deseables o mínimas de la calidad analítica. Tanto el CVi como el CVg son significativamente más altos en el tercil de FG más bajo que en el más alto, y en el tercil de fibrosis más alto que en el más bajo.
- El índice de individualidad (II) obtenido en este estudio es inferior a 0.6, tanto para el conjunto de la población como en los distintos terciles de FG y/o fibrosis, indicando que se debe utilizar el VRC para interpretar los resultados obtenidos.
- El VRC varía en función del FG y de la extensión de fibrosis intersticial, lo que sugiere que en pacientes con NIgA con enfermedad renal más grave el VRC es significativamente mayor que en los pacientes con enfermedad renal menos grave.

8.5. Conclusiones finales

En resumen, en enfermos con NIgA idiopática, los niveles urinarios de MBL se asocian a los depósitos mesangiales de MBL y C4d, a los niveles urinarios de C4d y C5b9, y a la extensión de las lesiones tubulointersticiales, independientemente de la proteinuria y del FG, sugiriendo que la MBL urinaria contribuye a la activación del complemento por la vía de las lectinas en las células tubulares y a la progresión de la lesión tubulointersticial. Por otro lado, los niveles urinarios de MBL y C4d podrían ser considerados como biomarcadores sensibles y específicos de la presencia de depósitos mesangiales de dichas proteínas.

Las concentraciones urinarias de IL-6, TGF β -1, MCP-1, EGF en dichos enfermos no predicen adecuadamente la extensión de las lesiones de proliferación mesangial, intracapilar, ni la esclerosis glomerular, pero sí mejoran significativamente la predicción de la fibrosis intersticial, juntamente con el FG, tras ajustar por la edad. Los resultados aportados en este estudio indican que la combinación de los niveles de MCP-1 y EGF, o de los niveles de MCP-1 y IL-6, aportan un poder predictivo similar sobre la superficie de fibrosis.

Por otro lado, en enfermos con NlgA, la excreción diaria de EGF correlaciona más fuertemente con la fibrosis intersticial que la ratio EGF/creatinina. Y su determinación debería emplearse, o bien en estudios dirigidos a evaluar la excreción de EGF como un biomarcador pronóstico precoz en individuos con FG elevados, o bien en estudios diseñados para estimar la masa tubular en pacientes con enfermedad renal crónica avanzada.

Además, las medidas de EGF urinario por ELISA en dichos enfermos producen una alta individualidad, lo que impide el uso de valores de referencia poblacionales, considerándose más adecuado el VRC para evaluar la evolución clínica de los pacientes con dicha metodología. La magnitud del VRC depende del FG y de la extensión de fibrosis intersticial. En concreto, en enfermos con fibrosis baja o FG elevada deben emplearse VRC menores que en enfermos con fibrosis elevada y/o bajo FG.

En conjunto, este proyecto aporta nuevos datos sobre los biomarcadores relacionados con el complemento y la progresión de la lesión renal, ampliando el conocimiento de la patogenia y del desarrollo de la NlgA, y por otro lado aporta información sobre la utilidad clínica de las medidas de la ratio EGF/creatinina en orina puntual respecto a las de la excreción diaria de EGF, así como estima la variación biológica de la ratio EGF/creatinina, con el fin de realizar una correcta interpretación clínica de los resultados, contribuyendo a la validación clínica de los mismos, con el fin de poder ser aplicados a la práctica clínica habitual como marcadores de severidad y pronósticos de la enfermedad.

Referencias

Aarden LA, De Groot ER, Schaap OL, Lansdorp PM. Production of hybridoma growth factor by human monocytes. *Eur J Immunol*. 1987;17(10):1411-6.

Abbate M, Zoja C, Corna D, Rottoli D, Zanchi C, Azzollini N, et al. Complement-mediated dysfunction of glomerular filtration barrier accelerates progressive renal injury. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2008;19(6):1158-67. [Consulta 9 abril 2017]. Doi: 10.1681/ASN.2007060686

Abe K, Li K, Sacks SH, Sheerin NS. The membrane attack complex, C5b-9, up regulates collagen gene expression in renal tubular epithelial cells. *Clin Exp Immunol* [Internet]. 2004;136(1): 60–6. [Consulta 15 de diciembre de 2016]. Doi:10.1111/j.1365-2249.2004.02411.x

Abe K, Miyazaki M, Koji T, Furusu A, Ozono Y, Harada T, et al. Expression of decay accelerating factor mRNA and complement C3 mRNA in human diseased kidney. *Kidney Int* [Internet]. 1998;54(1):120–30. [Consulta 4 diciembre 2016]. Doi: 1.1046/j.1523-1755.1998.00XXX.x

Aboud HE. Growth factors in glomerulonephritis. *Kidney Int* [Internet]. 1993;43(1):252—67. [Consulta 6 octubre 2016]. Doi: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.1993.39>

Alamartine E, Sabatier JC, Berthoux FC. Comparison of pathological lesions on repeated renal biopsies in 73 patients with primary IgA glomerulonephritis: value of quantitative scoring and approach to final prognosis. *Clin Nephrol*. 1990;34(2):45–51

Alamartine E, Sabatier JC, Guerin C, Berliet JM, Berthoux F. Prognostic factors in mesangial IgA glomerulonephritis: An extensive study with univariate and multivariate analyses. *Am J Kidney Dis*. 1991;18(1):12–9.

Allen AC, Bailey EM, Barratt J, Buck KS, Feehally J. Analysis of IgA1 O-Glycans in IgA Nephropathy by fluorophore-assisted carbohydrate electrophoresis. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 1999;10(8):1763-71. [Consulta 28 septiembre 2016]. Disponible en: <http://jasn.asnjournals.org/content/10/8/1763.long>

Allen AC, Bailey EM, Brenchley PE, Buck KS, Barratt J, Feehally J. Mesangial IgA1 in IgA nephropathy exhibits aberrant O-glycosylation: observations in three patients. *Kidney Int* [Internet]. 2001;60(3):969-73. [Consulta 28 septiembre 2016]. Doi: 10.1046/j.1523-1755.2001.060003969.x

Allen AC, Harper SJ, Feehally J. Galactosylation of N- and O-linked carbohydrate moieties of IgA1 and IgG in IgA nephropathy. *Clin Exp Immunol* [Internet]. 1995;100(3):470–74. [Consulta 2 de enero de 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1534466>.

Allen AC, Topham PS, Harper SJ, Feehally J. Leucocyte beta 1,3 galactosyltransferase activity in IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 1997;12:701–6.

Amore A, Cavallo F, Bocchietto E, Bussolino F, Gianoglio B, Peruzzi L, et al. Cytokine mRNA expression by cultured rat mesangial cells after contact with environmental lectins. *Kidney Int Suppl*. 1993;39:S41-6.

Amore A, Cirina P, Conti G, Brusa P, Peruzzi L, Coppo R. Glycosylation of circulating IgA in patients with IgA nephropathy modulates proliferation and apoptosis of mesangial cells. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2001;12(9):1862-71. [Consulta 14 diciembre 2016]. Disponible en: <http://jasn.asnjournals.org/content/12/9/1862.long>

Amore A, Conti G, Cirina P, Peruzzi L, Alpa M, Bussolino F, et al. Aberrantly glycosylated IgA molecules downregulate the synthesis and secretion of vascular endothelial growth factor in human mesangial cells. *Am J Kidney Dis*. 2000;36(6):1242–52.

Bagheri N, Chintalacharuvu SR, Emancipator SN. Proinflammatory cytokines regulate Fc alphaR expression by human mesangial cells in vitro. *Clin Exp Immunol* [Internet]. 1997;107(2):404–9. [Consulta 6 de febrero 2017]. Disponible en : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9030882>

Bao H, Chen H, Zhu X, Zhang M, Yao G, Yu Y, et al. MiR 223 downregulation promotes glomerular endothelial cell activation by upregulating importin a4 and a5 in IgA nephropathy. *Kidney Int*. 2014;85(3):624–35.

Barratt J, Bailey EM, Buck KS, Mailley J, Moayyedi P, Feehally J, et al. Exaggerated systemic antibody response to mucosal *Helicobacter pylori* infection in IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 1999;33(6):1049–57.

Barrat J, Greer MR, Pawluczyk IZ, Allen AC, Bailey EM, Buck KS, et al. Identification of a novel Fc alpha receptor expressed by mesangial cells. *Kidney Int* [Internet]. 2000;57(5):1936–48. [Consulta 26 noviembre 2016]. Doi: 10.1046/j.1523-1755.2000.00043.x

Barratt J, Smith AC, Feehally J. The pathogenic role of IgA1 O-linked glycosylation in the pathogenesis of IgA nephropathy. *Nephrology (Carlton)* [Internet]. 2007;12(3):275-84. [Consulta 3 de enero de 2017]. Doi: 10.1111/j.1440-1797.2007.00797.x

Bartosik LP, Lajoie G, Sugar L, Cattran DC. Predicting progression in IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 2001;38(4):728–35.

Bauer J, Ganter U, Geiger T, Jacobshagen U, Hirano T, Matsuda T, et al. Regulation of Interleukin-6 expression in cultured human blood monocytes and monocyte-derived macrophages. *Blood* [Internet]. 1988;72(4):1134—40. [Consulta 1 noviembre 2016]. Disponible en: <http://www.bloodjournal.org/content/72/4/1134.long>

Bene MC, Faure GC. Composition of mesangial deposits in IgA nephropathy: complement factors. *Nephron*. 1987;46(2):219.

Berger J, Hinglais N. Les depots intercapillaires d'IgA-IgG. *Journal d'Urologie et Nephrologie* 1968;74:694-5.

Berthelot L, Papista C, Maciel TT, Biarnes-Pelicot M, Tissandie E, Wang PH, et al. Transglutaminase is essential for IgA nephropathy development acting through IgA receptors. *J Exp Med* [Internet]. 2012;209(4):793–806. [Consulta 5 abril 2017]. Doi: 10.1084/jem.20112005.

Berthoux F, Mohey H, Laurent B, Mariat C, Afiani A, Thibaudin L. Predicting the Risk for Dialysis or Death in IgA Nephropathy. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2011;22(4):752–61. [Consulta 30 marzo 2017]. Doi: 10.1681/ASN.2010040355

Berthoux F, Suzuki H, Thibaudin L, Yanagawa H, Maillard N, Mariat C, et al. Autoantibodies targeting galactose deficient IgA1 associate with progression of IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2012;23(9):1579-87. [Consulta 24 marzo 2017]. Doi: 10.1681/ASN.2012010053

Biondo B, Grasso E, Fogoto E, Giornado F, Malturri L. Glomerular morphometry of twenty-three biopsied patients with IgA nephropathy. *Am J Nephrol*. 1995;15(2):99-104.

Bland JM, Altman DG. Measuring agreement in method comparison studies. *Stat Methods Med Res*. 1999;8(2):135–60.

Bolignano D, Lacquaniti A, Coppolino G, Donato V, Campo S, Fazio MR, et al. Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) and progression of chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2009;4(2):337-44. [Consulta 18 marzo 2017]. Doi: 10.2215/CJN.03530708

Boor P, Ostendorf T, Floege J. PDGF and the progression of renal disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2014;29(suppl 1):i45–i54.

Bosomworth MP, Aparicio SR, Hay AW. Urine N-acetyl-beta-D-glucosaminidase—a marker of tubular damage? *Nephrol Dial Transplant*. 1999;14(3):620–6.

Buck KS, Smith AC, Molyneux K, El-Barbary H, Feehally J, Barratt J. B-cell O-galactosyltransferase activity, and expression of O-glycosylation genes in bone marrow in IgA nephropathy. *Kidney Int* [Internet]. 2008;73(10):1128-36. [Consulta 27 septiembre 2016]. Doi:10.1038/sj.ki.5002748

Camilla R, Suzuki H, Daprà V, Loiacono E, Peruzzi L, Amore A, et al. Oxidative stress and galactose-deficient IgA1 as markers of progression in IgA nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2011;6(8):1903-11. [Consulta 24 marzo 2017]. Doi: 10.2215/CJN.11571210

Cattran DC, Coppo R, Cook HT, Feehally J, Roberts IS, Troyanov S.; Working Group of the International IgA Nephropathy Network and the Renal Pathology Society. The Oxford classification of IgA nephropathy: rationale, clinicopathological correlations, and classification. *Kidney Int* [Internet]. 2009;76(5):534-45. [Consulta 2 abril 2017]. Doi: 10.1038/ki.2009.243.

Chantler C, Garnett ES, Parsons V, Veall N. Glomerular filtration rate measurement in man by the single injection methods using 51Cr-EDTA. *Clin Sci*. 1969; 37(1):169-80

Cisar JO, Sandberg AL, Abeygunawardana C, Reddy GP, Bush CA. Lectin recognition of host-like saccharide motifs in streptococcal cell wall polysaccharides. *Glycobiology*. 1995; 5(7):655–62.

Cockroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*. 1976;16(1):31–41.

Coppo R, Amore A, Gianoglio B, Reyna A, Peruzzi L, Roccatello D, et al. Serum IgA and macromolecular IgA reactive with mesangial matrix components. *Contrib Nephrol*. 1993;104:162–71.

Coppo R, D'Amico G. Factors predicting progression of IgA nephropathies. *J Nephrol*. 2005;18(5):503-12.

Coppo R, Lofaro D, Camilla RR, Bellur S, Cattran D, Cook HT et al. Risk factors for progression in children and young adults with IgA nephropathy: an analysis of 261 cases from VALIGA European cohort. *Pediatr Nephrol*. 2017;32(1):139–50.

Coppo R, Mazzucco G, Martina G, Roccatello D, Amore A, Novara R, et al. Gluten-induced experimental IgA glomerulopathy. *Lab Invest*. 1989;60(4):499–506.

Coppo R, Troyanov S, Bellur S, Cattran D, Cook HT, Feehally J.; VALIGA study of the ERA-EDTA Immunonephrology Working Group. Validation of the Oxford classification of IgA nephropathy in cohorts with different presentations and treatments. *Kidney Int* [Internet]. 2014;86(4):828-36. [Consulta 2 abril 2017]. Doi: 10.1038/ki.2014.63

Corthésy B. Role of secretory immunoglobulin A and secretory component in the protection of mucosal surfaces. *Future Microbiol* [Internet]. 2010;5(5):817–29. [Consulta 25 noviembre 2016]. Doi: 10.2217/fmb.10.39

Cosio FG, Shibata T, Rovin BH, Birmingham DJ. Effects of complement activation products on the synthesis of decay accelerating factor and membrane cofactor protein by human mesangial cells. *Kidney Int*. 1994;46(4):986–92.

Crago SS, Kutteh WH, Moro I, Allansmith MR, Radl J, Haaijman JJ, et al. Distribution of IgA1-, IgA2-, and J chain containing cells in human tissues. *J. Immunol* [Internet]. 1984;132(1):16–18. [Consulta el 29 octubre 2016]. Disponible en: <http://www.jimmunol.org/content/jimmunol/132/1/16.full.pdf>

Cummings J, Raynaud F, Jones L, Sugar R, Dive C. Fit-for-purpose biomarker method validation for application in clinical trials of anticancer drugs. *Br J Cancer* [Internet]. 2010;103(9):1313–7. [Consulta el 5 mayo 2017]. Doi:10.1038/sj.bjc.6605910

D'Amico G. The commonest glomerulonephritis in the world: IgA nephropathy. *Q J Med*. 1987;64(245):709-27.

D'Amico G. Natural history of idiopathic IgA nephropathy and factors predictive of disease outcome. *Semin Nephrol*. 2004;24(3):179-96.

Danilewiks M, Wagrowska-Danilewicz M. Diffuse form of idiopathic IgA Nephropathy (IgAN). A quantitative study. *Gen Diagn Pathol*. 1996;141(3-4):209-13.

Davin JC. Henoch-Schönlein purpura nephritis: pathophysiology, treatment, and future strategy. *Clin J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2011;6(3):679-89. [Consulta 24 septiembre 2016]. Doi: 10.2215/CJN.06710810

Davin JC, Coppo R. Henoch-Schönlein purpura nephritis in children. *Nat Rev Nephrol*. 2014;10(10):563–73.

Davin JC, Li Vecchi M, Nagy J, Foidart JM, Foidart JB, Barbagallo Sangiorgi G, et al. Evidence that the interaction between circulating IgA and fibronectin is a normal process enhanced in primary IgA nephropathy. *J Clin Immunol*. 1991;11(2): 78–94.

Ding H, He Y, Li K, Yang J, Li X, Lu R, Gao W. Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is an early biomarker for renal tubulointerstitial injury in IgA nephropathy. *Clin Immunol*. 2007;123(2):227-34.

Ding JX, Xu LX, Zhu L, Lv JC, Zhao MH, Zhang H, et al. Activity of α 2,6-Sialyltransferase and its Gene Expression in Peripheral B Lymphocytes in patients with IgA Nephropathy. *Scandinavian Journal of Immunology* [Internet]. 2008;69:174–80. [Consulta 25 noviembre 2016]. Doi: 10.1111/j.1365-3083.2008.02204.x

Diven SC, Caflisch CR, Hammond DK, Weigel PH, Oka JA, Goldblum RM. IgA induced activation of human mesangial cells: independent of Fc α 1R (CD 89). *Kidney Int* [Internet]. 1998;54(3):837–47. [Consulta 19 diciembre 2016]. Doi: 10.1046/j.1523-1755.1998.00054.x

Donadio JV, Grande JP. IgA Nephropathy. *N Engl J Med*. 2002;347:738-48.

Donadio JV, Bergstralh EJ, Grande JP, Rademcher DM. Proteinuria patterns and their association with subsequent end-stage renal disease in IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2002;17(7):1197-203.

Duque N, Gómez-Guerrero C, Egido J. Interaction of IgA with Fc alpha receptors of human mesangial cells activates transcription factor nuclear factor-kappa B and induces expression and synthesis, of monocyte chemoattractant protein-1, IL-8, and IFN-inducible protein 10. *J Immunol*. 1997;159(7): 3474–82.

Edey M, Strain L, Ward R, Ahmed S, Thomas T, Goodship TH. Is complement factor H a susceptibility factor for IgA nephropathy?. *Mol Immunol*. 2009;46(7):1405–8.

Ellis D, Forrest KY, Erbey J, Orchard TJ. Urinary measurement of transforming growth factor-beta and type IV collagen as new markers of renal injury: Application in diabetic nephropathy. *Clin Chem* [Internet]. 1998;44(5):950–6. [Consulta 27 febrero 2017]. Disponible en: <http://clinchem.aaccjnl.org/content/clinchem/44/5/950.full.pdf>

Endo M, Ohi H, Ohsawa I, Fujita T, Matsushita M, Fujita T. Glomerular deposition of mannose-binding lectin (MBL) indicates a novel mechanism of complement activation in IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 1998;13(8):1984-90.

Espinosa M, Ortega R, Sánchez M, Segarra A, Salcedo MT, González F.; Grupo de Enfermedades Glomerulares de la SEN (GLOSEN). Association of C4d deposition with clinical outcomes in IgA nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2014;9(5):897–904. [Consulta 9 abril 2017]. Doi: 10.2215/CJN.09710913

Faria B, Henriques C, Matos AC, Daha MR, Pestana M, Seelen M. Combined C4d and CD3 immunostaining predicts immunoglobulin (Ig)A nephropathy progression. *Clin Exp Immunol* [Internet]. 2015;179(2):354–61. [Consulta 10 abril 2017]. Doi: 10.1111/cei.12461

Feehally J. Predicting prognosis in IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 2001;38(4):881–3.

Feehally J, Farrall M, Boland A, Gale DP, Gut I, Heath S, et al. HLA has strongest association with IgA nephropathy in genome-wide analysis. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2010;21(10):1791-7. [Consulta 2 mayo 2017]. Doi: 10.1681/ASN.2010010076

Fine LG, Ong AC, Norman JT. Mechanisms of tubulo-interstitial injury in progressive renal diseases. *Eur J Clin Invest* [Internet]. 1993;23(5):259—65. [Consulta 20 abril 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8354331>

Fraser CG. *Biological variation: from principles to practice*. Washington DC: AACC Press; 2001.

Fraser CG. Inherent biological variation and reference values. *Clin Chem Lab Med*. 2004;42(7):758–64.

Fraser CG, Harris EK. Generation and application of data on biological variation in clinical chemistry. *Crit Rev Clin Lab Sci*. 1989;27(5):409---37.

Fraser CG, Petersen PH. Analytical performance characteristics should be judged against objective quality specifications. *Clin Chem* [Internet]. 1999;45(3):321-3. [Consulta 16 marzo 2017]. Disponible en: <http://clinchem.aacc.jnls.org/content/clinchem/45/3/321.full.pdf>

Gaarkeuken H, Siezenga MA, Zuidwijk K, van Kooten C, Rabelink TJ, Daha MR, et al. Complement activation by tubular cells is mediated by properdin binding. *Am J Physiol Renal Physiol* [Internet]. 2008; 295(5):F1397–403. [Consulta 3 marzo 2017]. Doi: 10.1152/ajprenal.90313.2008.

Gauldie J, Richards C, Harnish D, Lansdorp P, Baumann H. Interferon Beta2/B cell stimulatory factor type 2 shares identify with monocyte-derived hepatocyte-stimulating factor and regulates the major acute phase protein response in liver cells. *Proc Natl Acad Sci USA* [Internet]. 1987;84(20):7251—5. [Consulta 6 febrero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC299269>.

Geddes CC, Rauta V, Gronhagen-Riska C, Bartosik LP, Jardine AG, Ibels LS, et al. A tricontinental view of IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18(8):1541-8.

Gesualdo L, Di Paolo S, Calabró A, Milani S, Maiorano E, Ranieri E, et al. Expression of epidermal growth factor and its receptor in normal and diseased human kidney: an immunohistochemical and in situ hybridization study. *Kidney Int* [Internet]. 1996;49(3): 656–65. [Consulta 15 abril 2017]. Disponible en: <http://www.science direct.com/science/article/pii/S0085253815594180?via%2Fihub>

Gesualdo L, Di Paolo S, Milani S, Pinzani M, Grappone C, Ranieri E, et al. Expression of platelet-derived growth factor receptors in normal and diseased human kidney. An immunohistochemistry and in situ hybridization study. *J Clin Invest* [Internet]. 1994;94(1):50-8. [Consulta 1 febrero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC296281>.

Gesualdo L, Di Paolo S, Ranieri E, Schena FP. Growth factors and their receptors in the progression of renal damage. *Contrib Nephrol*. 1995;111:38—44.

Gharavi AG, Kiryluk K, Choi M, Li H, Hou P, Xie J, et al. Genome-wide association study identifies susceptibility loci for IgA nephropathy. *Nat Genet*. 2011;43(4):321–7.

Gharavi AG, Moldoveanu Z, Wyatt RJ, Barker CV, Woodford SY, Lifton RP, et al. Aberrant IgA1 glycosylation is inherited in familial and sporadic IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2008;19(5):1008-14. [Consulta 3 octubre 2016]. Doi: 10.1681/ASN.2007091052

Giannakakis K, Feriozzi S, Perez M, Faraggiana T, Muda AO. Aberrantly Glycosylated IgA1 in Glomerular Immune deposits of IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2007;18:3139-46. [Consulta 13 julio 2016]. Doi: 10.1681/ASN.2007030259

Glasscock RJ. IgA nephropathy: Challenges and opportunities. *Cleve Clin J Med*. 2008;75(8):569-76.

Gómez-Guerrero C, Duque N, Egido J. Mesangial cells possess an asialoglycoprotein receptor with affinity for human immunoglobulin A. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 1998;9(4):568-76. [Consulta 25 septiembre 2016]. Disponible en: <http://jasn.asnjournals.org/content/9/4/568.long>

Gómez-Guerrero C, González E, Egido J. Evidence for a specific IgA receptor in rat and human mesangial cells. *J Immunol* [Internet]. 1993;151(12):7172-81. [Consulta 10 octubre 2016]. Disponible en: <http://www.jimmunol.org/content/151/12/7172.long>

Goto M, Wakai K, Kawamura T, Ando M, Endoh M, Tomino Y. A scoring system to predict renal outcome in IgA nephropathy: a nationwide 10-year prospective cohort study. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 2009; 24(10):3068-74. [Consulta 1 abril 2017]. Doi: 10.1093/ndt/gfp273

Goumenos DS, Tsakas S, El Nahas AM, Alexandri S, Oldroyd S, Kalliakmani P, et al. Transforming growth factor-beta (1) in the kidney and urine of patients with glomerular disease and proteinuria. *Nephrol Dial Transplant*. 2002;17(12):2145-52.

Goumenos DS, Tsamandas AC, Oldroyd S, Sotsiou F, Tsakas S, Petropoulou C, et al. Transforming growth factor-beta(1) and myofibroblasts: a potential pathway towards renal scarring in human glomerular disease. *Nephron* [Internet]. 2001;87(3): 240-8. [Consulta 4 marzo 2017]. Disponible en: <https://doi.org/10.1159/000045921>

Grandaliano G, Gesualdo L, Ranieri E, Monno R, Montinaro V, Marra F, et al. Monocyte chemotactic peptide-1 expression in acute and chronic human nephritides: a pathogenetic role in interstitial monocytes recruitment. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 1996;7(6): 906-13. [Consulta 10 marzo 2017]. Disponible en: <http://jasn.asnjournals.org/content/7/6/906.long>

Grossetête B, Launay P, Lehuen A, Jungers P, Bach JF, Monteiro RC. Down-regulation of Fc alpha receptors on blood cells of IgA nephropathy patients: evidence for a negative regulatory role of serum IgA. *Kidney Int* [Internet]. 1998;53(5):1321-35. [Consulta 5 de diciembre 2016]. Doi:10.1046/j.1523-1755.1998.00885.x

Gutiérrez E, Zamora I, Ballarín JA, Arce Y, Jiménez S, Quereda C.; Grupo de Estudio de Enfermedades Glomerulares de la Sociedad Española de Nefrología (GLOSEN). Long-term outcomes of IgA nephropathy presenting with minimal or no proteinuria. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2012;23:1753-60. [Consulta 8 noviembre 2016]. Doi: 10.1681/ASN.2012010063

Haddad E, Moura IC, Arcos-Fajardo M, Macher MA, Baudouin V, Alberti C, et al. Enhanced expression of the CD71 mesangial IgA1 receptor in Berger disease and Henoch-Schönlein nephritis: association between CD71 expression and IgA deposits. *J Am Soc Nephrol*. 2003;14(2):327-37.

Haas M. Histologic subclassification of IgA nephropathy: A clinicopathologic study of 244 cases. *Am J Kidney Dis.* 1997;29(6):829-42.

Haas M. IgA nephropathy and Henoch-Schoenlein purpura nephritis. En: Jennette JC, Olsen JL, Schwartz MM, Silva FG, editores. *Heptinstall's pathology of the kidney.* 6a ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p. 423-86.

Han SY, Ihm CG, Cha DR, Kang YS, Han KH, Kim HK, et al. Effect of IgA aggregates on transforming growth factor-beta1 production in human mesangial cells and the intraglomerular expression of transforming growth factor-beta1 in patients with IgA nephropathy. *Korean J Intern Med [Internet].* 2005;20(1):40-7. [Consulta 15 mayo 2017]. Doi: 10.3904/kjim.2005.20.1.40

Harris EK. Effects of intra- and interindividual variation on the appropriate use of normal ranges. *Clin Chem.* 1974;20(12):1535-42.

Harris EK. Statistical aspects of reference values in clinical pathology. *Prog Clin Pathol.* 1981;8:45–66.

Harris EK, Yasaka T. On the calculation of a “reference change” for comparing two consecutive measurements. *Clin Chem [Internet].* 1983;29(1):25–30. [Consulta 29 abril 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6848276>

Hayes DF. Biomarker validation and testing. *Mol Oncol [Internet].* 2015; 9(5):960-6. [Consulta 6 mayo 2017]. Doi: 10.1016/j.molonc.2014.10.004

Hiki Y, Iwase H, Kokubo T, Horii A, Tanaka A, Nishikido J, et al. Association of asialo-galactosyl β 1-3N-acetylgalactosamine on the hinge with a conformational instability of Jacalin-reactive immunoglobulin A1 in immunoglobulin A nephropathy. *J Am Soc Nephrol [Internet].* 1996;7:955-60. [Consulta 13 septiembre 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8793806>

Hiki Y, Odani H, Takahashi M, Yasuda Y, Nishimoto A, Iwase H, et al. Mass spectrometry proves under-O-glycosylation of glomerular IgA in IgA nephropathy. *Kidney Int [Internet].* 2001;59(3):1077-85. [Consulta 25 septiembre 2016]. Doi: 10.1046/j.1523-1755.2001.0590031077.x

Hiki Y, Tanaka A, Kokubo T, Iwase H, Nishikido J, Hotta K, et al. Analyses of IgA1 hinge glycopeptides in IgA Nephropathy by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry. *J Am Soc Nephrol [Internet].* 1998;9:577-582. [Consulta 16 septiembre 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9555659>

Hisano S, Hueda K. Asymptomatic hematuria and proteinuria: renal pathology and clinical outcome in 54 children. *Pediatr Nephrol.* 1989;3(3):229-34.

Hodgkin PD, Bond MW, O'Garra A, Frank G, Lee F, Coffman RL, et al. Identification of IL-6 as a T cell-derived factor that enhances the proliferative response of thymocytes to IL-4 and phorbol myristate acetate. *J Immunol.* 1988;141(1):151—7.

Horynova MS, Raska M, Clausen H, Novak J. Aberrant O -glycosylation and antiglycan antibodies in an autoimmune disease IgA nephropathy and breast adenocarcinoma. *Cell Mol Life Sci [Internet].* 2013;70: 829–39. [Consulta 15 octubre 2016]. Doi:10.1007/s00018-012-1082-6

Hosmer DW, Lemeshow S. Confidence interval estimates of an index of quality performance based on logistic regression models. *Stat Med*. 1995;106:565–70

Hotta O, Furuta T, Chiba S, Tomioka S, Taguma Y. Regression of IgA nephropathy: a repeat biopsy study. *Am J Kidney Dis*. 2002;39:493-502.

Hsu SI, Couser WG. Chronic progression of tubulointerstitial damage in proteinuric renal disease is mediated by complement activation: a therapeutic role for complement inhibitors?. *J Am Soc Nephrol*[Internet]. 2003;14(7 Suppl 2):S186-91. [Consulta 2 mayo 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12819326>

Humes HD, Cieslinski DA, Coimbra TM, Messana JM, Galvao C. Epidermal growth factor enhances renal tubule cell regeneration and repair and accelerates the recovery of renal function in postischemic acute renal failure. *J Clin Invest* [Internet]. 1989;84(6):1757–61. [Consulta 25 febrero 2017]. Doi:10.1172/JCI114359

Ikee R, Kobayashi S, Hemmi N, Saigusa T, Namikoshi T, Yamada M. Involvement of transglutaminase-2 in pathological changes in renal disease. *Nephron Clin Pract*. 2007;105(3):c139-46.

Iwasaki H, Zhang Y, Tachibana K, Gotoh M, Kikuchi N, Kwon YD, et al. Initiation of O-glycan synthesis in IgA1 hinge region is determined by a single enzyme, UDP-N-acetyl-alpha-D-galactosamine:polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 2. *J Biol Chem* [Internet]. 2003;278:5613–5621. [Consulta 21 noviembre 2016]. Doi:10.1074/jbc.M211097200

Jackson S. Immunoglobulin-antiimmunoglobulin interactions and immune complexes in IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 1988;12(5):425–9

Jackson S, Montgomery RI, Julian BA, Galla JH, Czerkinsky C. Aberrant synthesis of antibodies directed at the Fab of IgA in patients with IgA nephropathies. *Clin Immunol Immunopathol*. 1987;45(2):208–13

Jacob CM, Pastorino AC, Fahl K, Carneiro-Sampaio M, Monteiro RC. Autoimmunity in IgA deficiency: revisiting the role of IgA as a silent housekeeper *J Clin Immunol*. 2008;28(Suppl 1):S56-61.

Jennette JC, Wall SD, Wilkman AS. Low incidence of IgA nephropathy in blacks. *Kidney Int* [Internet]. 1985;28(6):944-50. [Consulta 22 septiembre 2016]. Disponible en: [http://www.kidney-international.theisn.org/article/S0085-2538\(15\)33570-5/pdf](http://www.kidney-international.theisn.org/article/S0085-2538(15)33570-5/pdf)

Ju T, Brewer K, D'Souza A, Cummings RD, Canfield WM. Cloning and expression of human core 1 beta1,3-galactosyltransferase. *J Biol Chem* [Internet]. 2002;277:178–86. [Consulta 4 enero 2017]. Doi: 10.1074/jbc.M109060200

Ju T, Cummings RD. A unique molecular chaperone Cosmc required for activity of the mammalian core 1 beta 3-galactosyltransferase. *Proc Natl Acad Sci USA* [Internet]. 2002;99: 16613–8. [Consulta 29 septiembre 2016]. 10.1073/pnas.262438199

Ju W, Nair V, Smith S, Zhu L, Shedden K, Song PX.; ERCB, C-PROBE, NEPTUNE and PKU-IgAN Consortium. Tissue transcriptome-driven identification of epidermal growth factor as a chronic kidney

disease biomarker. *Sci Transl Med* [Internet]. 2015;7(316):316ra193. [Consulta 3 marzo 2017]. Doi: 10.1126/scitranslmed.aac7071

Julian BA, Waldo FB, Rifai A, Mestecky J. IgA nephropathy, the most common glomerulonephritis worldwide. A neglected disease in the United States? *Am J Med* 1988;84:129–32.

Kalantari S, Rutishauser D, Samavat S, Nafar M, Mahmudieh L, Rezaei-Tavirani M, et al. Urinary prognostic biomarkers and classification of IgA nephropathy by high resolution mass spectrometry coupled with liquid chromatography. *PLoS One* [Internet]. 2013;8(12):e80830 [Consulta 11 marzo 2017]. Doi: 10.1371/journal.pone.0080830

Kamijo A, Sugaya T, Hikawa A, Okada M, Okumura F, Yamanouchi M, et al. Urinary excretion of fatty acid-binding protein reflects stress overload on the proximal tubules. *Am J Pathol*. 2004;165(4):1243–55. [Consulta 2 marzo 2017]. DOI:10.1016/S0002-9440(10)63384-6

Kamijo A, Sugaya T, Hikawa A, Yamanouchi M, Hirata Y, Ishimitsu T, et al. Clinical evaluation of urinary excretion of liver-type fatty acid-binding protein as a marker for the monitoring of chronic kidney disease: a multicenter trial. *J Lab Clin Med*. 2005;145(3):125–33.

Kanamaru Y, Arcos-Fajardo M, Moura IC, Tsuge T, Cohen H, Essig M, et al. Fc alpha receptor 1 activation induces leukocyte recruitment and promotes aggravation of glomerulonephritis through the FcR gamma adaptor. *Eur J Immunol* [Internet]. 2007;37(4):1116–28.[Consulta 10 marzo 2017]. Doi: 10.1002/eji.200636826

Katafuchi R, Kiyoshi Y, Oh Y, Uesugi N, Ikeda K, Yanase T, et al. Glomerular score as a prognosticator in IgA nephropathy: its usefulness and limitation. *Clin Nephrol*. 1998;49(1):1–8.

Kashem A, Endoh M, Yano N, Yamauchi F, Nomoto Y, Sakai H, et al. Glomerular Fc alphaR expression and disease activity in IgA nephropathy. *Am J Kidney Dis*. 1997;30(3):389-96.

Kerr MA. The structure and function of human IgA. *Biochem J* [Internet]. 1990;15;271(2):285-96. [Consulta 2 mayo 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2241915>

KDIGO clinical practice guideline for glomerulonephritis. Immunoglobulin A nephropathy. *Kidney Int Suppl* [Internet]. 2012;2:S209-S217. [Consulta 3 abril 2017]. Disponible en: <http://kdigo.org/wp-content/uploads/2017/02/KDIGO-2012-GN-Guideline-English.pdf>

K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis*. 2002;39 (2 Suppl 1):S1–S266.

Kim SJ, Koo HM, Lim BJ, Oh HJ, Yoo DE, Shin DH, et al. Decreased circulating C3 levels and mesangial C3 deposition predict renal outcome in patients with IgA nephropathy. *PLoS One* [Internet]. 2012;7(7):e40495. [Consulta 15 abril 2017]. Doi: 10.1371/journal.pone.0040495

Kim MJ, Tam FW. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 in renal disease. *Clin Chim Acta*. 2011;412(23-24):2022–30.

Kirnbauer R, Köck A, Schwarz T, Urbanski A, Krutmann J, Borth W, et al. IFN-Beta 2, B cell differentiation factor 2, or hybridoma growth factor (IL-6) is expressed and released by human

epidermal cells and epidermoid carcinoma cell lines. *J Immunol* [Internet]. 1989;142(6):1922—8. [Consulta 26 febrero 2017]. Disponible en: <http://www.jimmunol.org/content/142/6/1922.long>

Kincaid-Smith P, Fairley K. The investigation of hematuria. *Semin Nephrol*. 2005;25(3):127–35.

Kobayashi Y, Kokubo T, Horii A, Hiki Y, Tateno S. Prognostic prediction of long-term clinical courses in individual IgA nephropathy patients. *Nephrology*. 1997;3(1):35-40.

Koike K, Nakahata T, Takagi M, Kobayashi T, Ishiguro A, Tsuji K, et al. Synergism of BSF-2/Interleukin 6 and Interleukin 3 on development of multipotential hemopoietic progenitors in serum-free culture. *J Exp Med* [Internet]. 1988;168(3):879—90. [Consulta 26 febrero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2189042>

Kokubo T, Hiki Y, Iwase H, Horii A, Tanaka A, Nishikido J, et al. Evidence for involvement of IgA1 hinge glycopeptides in the IgA1-IgA1 interaction in IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 1997;8(6):915–9. [Consulta 4 octubre 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9189858>

Kokubo T, Hiki Y, Iwase H, Tanaka A, Toma K, Hotta K, et al. Protective role of IgA1 glycans against IgA1 self-aggregation and adhesion to extracellular matrix proteins. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 1998;9(11):2048-54. [Consulta 4 octubre 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>

Komatsu H, Fujimoto S, Hara S, Sato Y, Yamada K, Eto T. Relationship between serum IgA/C3 ratio and progression of IgA nephropathy. *Intern Med* [Internet]. 2004;43(11):1023–8. [Consulta 16 febrero 2017]. Disponible en: https://www.jstage.jst.go.jp/article/internalmedicine/43/11/43_11_1011/_article

Kwon SH, Park MY, Jeon JS, Noh H, Choi SJ, Kim JK, et al. KIM-1 expression predicts renal outcomes in IgA nephropathy. *Clin Exp Nephrol*. 2013;17(3):359-64.

Kutteh WH, Prince SJ, Mestecky J. Tissue origins of human polymeric and monomeric IgA. *J Immunol*. 1982; 128(2):990–95.

Kusumoto Y, Takebayashi S, Taguchi T, Harada T, Naito S. Long-term prognosis and prognostic indices of IgA nephropathy in juvenile and adult Japanese. *Clin Nephrol*. 1987;28(3):118-24.

Lai KN, Chan LY, Leung JC. Mechanisms of tubulointerstitial injury in IgA nephropathy. *Kidney Int Suppl*. 2005; 94: S110–5.

Lai KN, Leung JC, Chan LY, Saleem MA, Mathieson PW, Tam KY, et al. Podocyte injury induced by mesangial-derived cytokines in IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 2009; 24(1):62–72. [Consulta 2 marzo 2017]. Disponible en: <https://academic.oup.com/ndt/article-lookup/doi/10.1093/ndt/gfn441>

Lai KN, Tang SC, Guh JY, Chuang TD, Lam MF, Chan LY, et al. Polymeric IgA1 from patients with IgA nephropathy upregulates transforming growth factor-beta synthesis and signal transduction in human mesangial cells via the renin-angiotensin system. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2003;14(12):3127-37. [Consulta 20 marzo 2017]. Disponible en: <http://jasn.asnjournals.org/content/14/12/3127.long>

Launay P, Grossetête B, Arcos-Fajardo M, Gaudin E, Torres SP, Beaudoin L, et al. Fcα receptor (CD89) mediates the development of immunoglobulin A (IgA) nephropathy (Berger's disease). Evidence for pathogenic soluble receptor-IgA complexes in patients and CD89 transgenic mice. *J Exp Med*. 2000;191(5):1999–2009. [Consulta 7 noviembre 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2213528>

Lawrence DA. Transforming growth factor-beta: an overview. *Kidney Int Suppl*. 1995; 49: S19–23.

Layward L, Allen AC, Hattersley JM, Harper SJ, Feehally J. Low antibody affinity restricted to the IgA isotype in IgA nephropathy. *Clin Exp Immunol* [Internet]. 1994;95(1):35–41. [Consulta 4 octubre 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1534647>

Layward L, Finnemore AM, Allen AC, Harper SJ, Feehally J. Systemic and mucosal IgA responses to systemic antigen challenge in IgA nephropathy. *Clin Immunol Immunopathol*. 1993;69(3):306–13.

Le W, Liang S, Hu Y, Deng K, Bao H, Zeng C, et al. Long-term renal survival and related risk factors in patients with IgA nephropathy: results from a cohort of 1155 cases in a Chinese adult population. *Nephrol Dial Transplant*. 2012a;27:1479–85.

Le W, Zeng CH, Liu Z, Liu D, Yang Q, Lin RX, et al. Validation of the Oxford classification of IgA nephropathy for pediatric patients from China. *BMC Nephrol* [Internet]. 2012b;13:158. [Consulta 2 marzo 2017]. Doi: 10.1186/1471-2369-13-158

Lee JW1, Devanarayan V, Barrett YC, Weiner R, Allinson J, Fountain S, et al. Fit-for-Purpose Method Development and Validation for Successful Biomarker Measurement. *Pharm Res*. 2006 Feb;23(2):312-28.

Lee SM, Rao VM, Franklin WA, Schiffer MS, Aronson AJ, Spargo BH, et al. IgA nephropathy: morphologic predictors of progressive renal disease. *Hum Pathol*. 1982;13(4):314-22

Leinikki PO, Mustonen J, Pasternack A. Immune response to oral polio vaccine in patients with IgA glomerulonephritis. *Clin Exp Immunol* [Internet]. 1987;68(1): 33–8. [Consulta 7 enero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1542685>

Leung JC, Tang SC, Chan LY, Tsang AW, Lan HY, Lai KN. Polymeric IgA increases the synthesis of macrophage migration inhibitory factor by human mesangial cells in IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18(1):36-45.

Leung JC, Tsang AW, Chan DT, Lai KN. Absence of CD89, polymeric immunoglobulin receptor, and asialoglycoprotein receptor on human mesangial cells. *J Am Soc Nephrol*. 2000;11(2):241–249.

Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* [Internet]. 2009;150(9):604–12. [Consulta 8 diciembre 2016]. Disponible en: <http://jasn.asnjournals.org/content/11/2/241.long>

Li GS, Nie GJ, Zhang H, Lv JC, Shen Y, Wang HY. Do the mutations of C1GALT1C1 gene play important roles in the genetic susceptibility to Chinese IgA nephropathy?. *BMC Med Genet* [Internet]. 2009;10:101. [Consulta 3 mayo 2017]. Doi: 10.1186/1471-2350-10-101

Li GS, Zhang H, Lv JC, Shen Y, Wang HY. Variants of C1GALT1 gene are associated with the genetic susceptibility to IgA nephropathy. *Kidney Int* [Internet]. 2007a;71(5):448-53. [Consulta 3 mayo 2017]. Doi: 10.1038/sj.ki.5002088

Li GS, Zhu L, Zhang H, LvJC, Ding JX, Zhao MH, et al. Variants of the ST6GALNAC2 promoter influence transcriptional activity and contribute to genetic susceptibility to IgA nephropathy. *Hum Mutat*. 2007b;28(10):950-7.

Liu LL, Jiang Y, Wang LN, Liu N. Urinary mannose-binding lectin is a biomarker for predicting the progression of immunoglobulin (Ig)A nephropathy. *Clin Exp Immunol* [Internet]. 2012;169(2):148-55. [Consulta 9 abril 2017]. Doi: 10.1111/j.1365-2249.2012.04604.x

Liu LL, Liu N, Chen Y, Wang LN, Jiang Y, Wang J, et al. Glomerular mannose-binding lectin deposition is a useful prognostic predictor in immunoglobulin A nephropathy. *Clin Exp Immunol* [Internet]. 2013;174(1):152-60. [Consulta 9 abril 2017]. Doi: 10.1111/cei.12154

Maeng YI, Kim MK, Park JB, Cho CH, Oh HK, Sung WJ, et al. Glomerular and tubular C4d depositions in IgA nephropathy: Relations with histopathology and with albuminuria. *Int J Clin Exp Pathol* [Internet]. 2013;6(5):904-10. [Consulta 12 abril 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3638101>

Maillard N, Boerma L, Hall SD, Huang ZQ, Mrug M, Moldoveanu Z, et al. Proteomic analysis of engineered IgA1-IgG immune complexes reveals association with activated complement C3. *J Am Soc Nephrol*. 2013;24: 490A.

Maillard N, Wyatt RJ, Julian BA, Kiryluk K, Gharavi A, Fremeaux-Bacchi V, et al. Current understanding of the role of complement in IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2015;26(7):1503-12. [Consulta 7 abril 2017]. Doi: 10.1681/ASN.2014101000

Manno C, Strippoli GF, D'Altri C, Torres D, Rossini M, Schena FP. A novel simpler histological classification for renal survival in IgA nephropathy: a retrospective study. *Am J Kidney Dis*. 2007;49:763-75.

Matousovic K, Novak J, Yanagihara T, Tomana M, Moldoveanu Z, Kulhavy R, et al. IgA-containing immune complexes in the urine of IgA nephropathy patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21(9):2478-84.

Matsuda M, Shikata K, Wada J, Sugimoto H, Shikata Y, Kawasaki T, et al. Deposition of mannan binding protein and mannan binding protein-mediated complement activation in the glomeruli of patients with IgA nephropathy. *Nephron*. 1998;80(4):408-413.

McDonald KJ, Cameron AJ, Allen JM, Jardine AG. Expression of Fc alpha/mu receptor by human mesangial cells: a candidate receptor for immune complex deposition in IgA nephropathy. *Biochem Biophys Res Commun*. 2002;290(1):438-42.

Meng XM, Chung AC, Lan HY. Role of the TGF- β /BMP-7/Smad pathways in renal diseases. *Clin Sci (Lond)*. 2013; 124(4):243-54.

Mestecky J, Moro I, Kerr MA, et al. Mucosal immunoglobulins. En: Mestecky J, Bienenstock J, Lamm ME, Mayer L, McGhee JR, Strober W, editores. *Mucosal Immunology*. 3era ed. Amsterdam: Elsevier Academic Press; 2005. p. 153-181.

Miyazaki R, Kuroda M, Akiyama T, Otani I, Tofuku Y, Takeda R. Glomerular deposition and serum levels of complement control proteins in patients with IgA nephropathy. *Clin Nephrol*. 1984;21(6):335–40.

Mohanram A, Zhang Z, Shahinfar S, Keane WF, Brenner BM, Toto RD. Anemia and end-stage renal disease in patients with type 2 diabetes and nephropathy. *Kidney Int [Internet]*. 2004;66(3):1131–8. [Consulta 25 abril 2017]. DOI:10.1111/j.1523-1755.2004.00863.x

Moldoveanu Z, Wyatt RJ, Lee JY, Tomana M, Julian BA, Mestecky J, et al. Patients with IgA nephropathy have increased serum galactose-deficient IgA1 levels. *Kidney Int [Internet]*. 2007;71(11):1148-54. [Consulta 28 septiembre 2016]. Doi: 10.1038/sj.ki.5002185

Monteiro RC. New insights in the pathogenesis of IgA nephropathy. *Nefrologia [Internet]*. 2005;25(Suppl 2):82-6. [Consulta 1 septiembre 2016]. Disponible en: <http://www.revistanefrologia.com/en-publicacion-nefrologia-articulo-nuevas-observaciones-patogenia-nefropatia-iga-X0211699505030934>

Monteiro RC, Moura IC, Launay P, Tsuge T, Haddad E, Benhamou M, et al. Pathogenic significance of IgA receptor interactions in IgA nephropathy. *Trends Mol Med*. 2002;8(10):464–8

Monteiro RC, Van De Winkel JG. IgA Fc receptors. *Annu Rev Immunol*. 2003;21:177-204.

Moore JS, Kulhavy R, Tomana M, Moldoveanu Z, Suzuki H, Brown R, et al. Reactivities of N-acetylgalactosamine-specific lectins with human IgA1 proteins. *Mol Immunol [Internet]*. 2007;44(10):2598-604. [Consulta 5 agosto 2016]. Doi: 10.1016/j.molimm.2006.12.011

Moresco RN, Speeckaert MM, Zmonarski SC, Krajewska M, Komuda-Leszek E, Perkowska-Ptasinska A, et al. Urinary myeloid IgA Fc alpha receptor (CD89) and transglutaminase-2 as new biomarkers for active IgA nephropathy and Henoch-Schönlein purpura nephritis. *BBA Clin [Internet]*. 2016;5:79-84. [Consulta 10 mayo 2017]. Doi: 10.1016/j.bbacli.2016.02.002

Morita Y, Ikeguchi H, Nakamura J, Hotta N, Yuzawa Y, Matsuo S. Complement activation products in the urine from proteinuric patients. *J Am Soc Nephrol [Internet]*. 2000;11(4):700–7. [Consulta 9 abril 2017]. Disponible en: <http://jasn.asnjournals.org/content/11/4/700.long>

Moura IC, Arcos-Fajardo M, Gdoura A, Leroy V, Sadaka C, Mahlaoui N, et al. Engagement of transferrin receptor by polymeric IgA1: evidence for a positive feedback loop involving increased receptor expression and mesangial cell proliferation in IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol [internet]*. 2005;16(9):2667–76. [Consulta 15 marzo 2017]. Doi:10.1681/ASN.2004111006

Moura IC, Arcos-Fajardo M, Sadaka C, Leroy V, Benhamou M, Novak J, et al. Glycosylation and size of IgA1 are essential for interaction with mesangial transferrin receptor in IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol [Internet]*. 2004;15(3):622–34. [Consulta 4 diciembre 2016]. Disponible en: <http://jasn.asnjournals.org/content/15/3/622.long>

Moura IC, Centelles MN, Arcos-Fajardo M, Malheiros DM, Collawn JF, Cooper MD, et al. Identification of the transferrin receptor as a novel immunoglobulin (Ig)A1 receptor and its enhanced expression on mesangial cells in IgA nephropathy. *J Exp Med* [Internet]. 2001;194(4):417-25. [Consulta 26 noviembre 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2193503>

Mucha K, Bakun M, Jaźwiec R, Dadlez M, Florczak M, Bajor M, et al. Complement components, proteolysis-related, and cell communication-related proteins detected in urine proteomics are associated with IgA nephropathy. *Pol Arch Med Wewn* [Internet]. 2014;124(7-8):380–6. [Consulta 10 abril 2017]. Disponible en: <http://pamw.pl/en/issue/article/24938435>

Muraguchi A, Hirano T, Tang B, Matsuda T, Horii Y, Nakajima K, et al. The essential role of B cell stimulatory factor 2 (BSF-2/IL-6) for the terminal differentiation of B cells. *J Exp Med* [Internet]. 1988;167(2):332—44. [Consulta 19 febrero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2188837>

Nagy J, Miltényi M, Dobos M, Burger T. Tubular proteinuria in IgA glomerulonephritis. *Clin Nephrol*.1987;27(2):76-78

Nasri H. IgG deposition in IgA nephropathy patients. *J Renal Inj Prev* [Internet]. 2013;2(1):11–13. [Consulta 4 abril 2017]. Doi: 10.12861/jrip.2013.06

Nasri H, Ahmadi A, Rafieian-Kopaei M, Bashardoust B, Nasri P, Mubarak M. Association of glomerular C4d deposition with various demographic data in IgA nephropathy patients; a preliminary study. *J Nephrothol* [Internet]. 2015;4(1):19–23. [Consulta 9 abril 2017]. Doi: 10.12860/jnp.2015.04

Nasri H, Sajjadih S, Mardani S, Momeni A, Merikhi A, Madihi Y, et al. Correlation of immunostaining findings with demographic data and variables of Oxford classification in IgA nephropathy. *J Nephrothol* [Internet]. 2013;2(3):190–5. [Consulta 21 marzo 2017]. Doi: 10.12860/JNP.2013.30

Nielsen SE, Sugaya T, Hovind P, Baba T, Parving HH, Rossing P. Urinary liver-type fatty acid-binding protein (u-LFABP) predicts progression to nephropathy in type 1 diabetic patients. *Diabetes Care* [Internet]. 2010;33(6):1320–4. [Consulta 25 abril 2017]. Doi: 10.2337/dc09-2242

Nonaka Takahashi S, Fujita T, Takahashi T, Wada Y, Fuke Y, Satomura A, et al. TGF-beta1 and CTGF mRNAs are correlated with urinary protein level in IgA nephropathy. *J Nephrol*. 2008;21(1):53-63.

Novak J, Moldoveanu Z, Renfrow MB, Yanagihara T, Suzuki H, Raska M, et al. IgA nephropathy and Henoch-Schoenlein purpura nephritis: aberrant glycosylation of IgA1, formation of IgA1-containing immune complexes, and activation of mesangial cells. *Contrib Nephrol*. 2007;157:134-8.

Novak J, Rizk D, Takahashi K, Zhang XW, Bian Q, Ueda H, et al. New Insights into the Pathogenesis of IgA Nephropathy. *Kidney Dis* [Internet]. 2015;1:8–18. [Consulta 7 noviembre 2016]. Doi: 10.1159/000382134

Novak J, Tomana M, Kilian M, Coward L, Kulhavy R, Barnes S, et al. Heterogeneity of O-glycosylation in the hinge region of human IgA1. *Mol Immunol*. 2000;37:1047–56.

Novak J, Tomana M, Matousovic K, Brown R, Hall S, Novak L, et al. IgA1-containing immune complexes in IgA nephropathy differentially affect proliferation of mesangial cells. *Kidney Int* [Internet]. 2005;67(2):504–13. [Consulta 7 octubre 2016]. Doi: 10.1111/j.1523-1755.2005.67107.x

Novak J, Vu HL, Novak L, Julian BA, Mestecky J, Tomana M. Interactions of human mesangial cells with IgA and IgA-containing immune complexes. *Kidney Int* [Internet]. 2002;62(2):465-75. [Consulta 6 octubre 2016]. Doi: 10.1046/j.1523-1755.2002.00477.x

Odum J, Peh CA, Clarkson AR, Bannister KM, Seymour AE, Gillis D, et al. Recurrent mesangial IgA nephritis following renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 1994;9(3):309–12.

Ogrodowski JL, Hebert LA, Sedmak D, Cosio FG, Tamerius J, Kolb W. Measurement of SC5b-9 in urine in patients with the nephrotic syndrome. *Kidney Int* [Internet]. 1991;40(6):1141–7. [Consulta 9 abril 2017]. Disponible en: [http://www.kidney-international.theisn.org/article/S0085-2538\(15\)57416-4/pdf](http://www.kidney-international.theisn.org/article/S0085-2538(15)57416-4/pdf)

Onda K, Ohi H, Tamano M, Ohsawa I, Wakabayashi M, Horikoshi S, et al. Hypercomplementemia in adult patients with IgA nephropathy. *J Clin Lab Anal*. 2007;21(2):77–84.

Onda K, Ohsawa I, Ohi H, Tamano M, Mano S, Wakabayashi M, et al. Excretion of complement proteins and its activation marker C5b-9 in IgA nephropathy in relation to renal function. *BMC Nephrol* [Internet]. 2011;12:64. [Consulta 10 abril 2017]. DOI: 10.1186/1471-2369-12-64

Ong AC, Fine LG. Tubular derived growth factors and cytokines in the pathogenesis of tubulointerstitial fibrosis: Implications for human renal disease progression. *Am J Kidney Dis*. 1994a;23(2):205—9.

Ong AC, Fine LG. Tubular-derived cytokines and human renal disease progression. *Nephrol Dial Transplant*. 1994b;9(5):471—2.

Oortwijn BD, Rastaldi MP, Roos A, Mattinzoli D, Daha MR, van Kooten C. Demonstration of secretory IgA in kidneys of patients with IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 2007;22(11):3191-5. [Consulta 3 abril 2017]. Disponible en: <https://academic.oup.com/ndt/article-lookup/doi/10.1093/ndt/gfm346>

Ots M, Uibo O, Metskula K, Uibo R, Salupere V. IgA-antigliadin antibodies in patients with IgA nephropathy: The secondary phenomenon? *Am J Nephrol*. 1999;19(2):453–8.

Pabst O. New concepts in the generation and functions of IgA. *Nat Rev Immunol*. 2012;12(12):821-32.

Passing H, Bablok W. A new biometrical procedure for testing the equality of measurements from two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I. *J Clin Chem Clin Biochem*. 1983;21(11): 709–20.

Peruzzi L, Amore A, Cirina P, Trusolino L, Basso G, Ricotti E, et al. Integrin expression and IgA nephropathy: in vitro modulation by IgA with altered glycosylation and macromolecular IgA. *Kidney Int* [Internet]. 2000;58(6):2331–40. [Consulta 5 noviembre 2016]. Doi: 10.1046/j.1523-1755.2000.00417.x

Peters HP, van den Brand JA, Wetzels JF. Urinary excretion of low-molecular-weight proteins as prognostic markers in IgA nephropathy. *Neth J Med [Internet]*. 2009;67(2):54-61. [Consulta 11 marzo 2017]. Disponible en: <http://www.njmonline.nl/getpdf.php?id=757>

Peters HP, Waanders F, Meijer E, van den Brand J, Steenbergen EJ, van Goor H, et al. High urinary excretion of kidney injury molecule-1 is an independent predictor of end-stage renal disease in patients with IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2011;26(11):3581-8.

Pirulli D, Crovella S, Ulivi S, Zadro C, Bertok S, Rendine S, et al. Genetic variant of C1GalT1 contributes to the susceptibility to IgA nephropathy. *J Nephrol*. 2009;22:152-9.

Plebani M, Lippi G. Biological variation and reference change values: an essential piece of the puzzle of laboratory testing. *Clin Chem Lab Med*. 2012;50(2):189-90.

Price CP, Newall RG, Boyd JC. Use of protein:creatinine ratio measurements on random urine samples for prediction of significant proteinuria: a systematic review. *Clin Chem [Internet]*. 2005;51(9):1577-86. [Consulta 9 junio 2017]. Doi: 10.1373/clinchem.2005.049742

Qin W, Zhou Q, Yang LC, Li Z, Su BH, Luo H, et al. Peripheral B lymphocyte beta1,3-galactosyltransferase and chaperone expression in immunoglobulin A nephropathy. *J Intern Med [Internet]*. 2005;258:467-77. [Consulta 27 septiembre 2016]. Doi: 10.1111/j.1365-2796.2005.01558.x

Ranieri E, Gesualdo L, Petraluro F, Schena F. Urinary IL-6/EGF ratio: A useful prognostic marker for the progression of renal damage in IgA nephropathy. *Kidney Int [Internet]*. 1996;50(6):1990-2001. [Consulta 17 febrero 2017]. Disponible en: [http://www.kidney-international.theisn.org/article/S0085-2538\(15\)59815-3/pdf](http://www.kidney-international.theisn.org/article/S0085-2538(15)59815-3/pdf)

Rauta V, Finne P, Fagerudd J, Rosenlof K, Törnroth T, Grönhagen-Riska C. Factors associated with progression of IgA nephropathy are related to renal function: A model for estimating risk of progression in mild disease. *Clin Nephrol*. 2002;58(2):85-94.

Rauterberg EW, Lieberknecht HM, Wingen AM, Ritz E. Complement membrane attack (MAC) in idiopathic IgA-glomerulonephritis. *Kidney Int [Internet]*. 1987;31(3):820-9. [Consulta 15 diciembre 2016]. Disponible en: [http://www.kidney-international.theisn.org/article/S0085-2538\(15\)33942-9/pdf](http://www.kidney-international.theisn.org/article/S0085-2538(15)33942-9/pdf)

Registro de Glomerulonefritis Sociedad Española de Nefrología. Barcelona: Sociedad Española de Nefrología; 5 de octubre de 2014 [consulta el 1 de marzo de 2017]. Datos 2013. Disponible en: <http://www.senefro.org>

Remuzzi G. Nephropathic nature of proteinuria. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 1999;8(6):655-63.

Ricós C, Cava F, Garcia-Lario JV, Hernandez A, Iglesias N, Jimenez CV, et al. The reference change value: a proposal to interpret laboratory reports in serial testing based on biological variation. *Scand J Clin Lab Invest*. 2004;64(3):175-84.

Ricós C, Iglesias N, Garcia-Lario JV, Simón M, Cava F, Hernández A, et al. Within-subject biological variation in disease: collated data and clinical consequences. *Ann Clin Biochem*. 2007;44(Pt 4):343-52

Robert T, Berthelot L, Cambier A, Rondeau E, Monteiro RC. Molecular Insights into the Pathogenesis of IgA Nephropathy. *Trends Mol Med*. 2015;21(12):762-75.

Roberts AB, Sporn MB. Physiological actions and clinical applications of transforming growth factor-beta (TGF-beta). *Growth Factors*. 1993;8(1): 1–9.

Roberts IS, Cook HT, Troyanov S, Alpers CE, Amore A, Barratt J.; Working Group of the International IgA Nephropathy Network and the Renal Pathology Society. The Oxford classification of IgA nephropathy: Pathology definitions, correlations, and reproducibility. *Kidney Int* [Internet]. 2009;76(5):546–56. [Consulta 2 abril 2017]. Doi: 10.1038/ki.2009.168

Roos A, Bouwman LH, van Gijlswijk-Janssen DJ, Faber-Krol MC, Stahl GL, Daha MR. Human IgA activates the complement system via the mannan-binding lectin pathway. *J Immunol* [Internet]. 2001;167(5):2861–8. [Consulta 11 noviembre 2016]. Disponible en: <http://www.jimmunol.org/content/167/5/2861.long>

Roos A, Rastaldi MP, Calvaresi N, Oortwijn BD, Schlagwein N, van Gijlswijk-Janssen DJ, et al. Glomerular activation of the lectin pathway of complement in IgA nephropathy is associated with more severe renal disease. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2006;17(6):1724–34. [Consulta 8 abril 2017]. Doi: 10.1681/ASN.2005090923

Roraas T, Petersen PH, Sandberg S. Confidence intervals and power calculations for within-person biological variation: effect of analytical imprecision, number of replicates, number of samples, and number of individuals. *Clin Chem* [Internet]. 2012;58(9):1306-13. [Consulta 5 marzo 2017]. Doi: 10.1373/clinchem.2012.187781

Rostoker G, Delprato S, Petit-Phar M, Ben Maadi A, Laurent J, Lang P, et al. IgA antiigliadin antibodies as a possible marker for IgA mesangial glomerulonephritis in adults with pri-mary glomerulonephritis. *N Engl J Med*. 1989;320(19):1283–4.

Ruef C, Budde K, Lacy J, Northemann W, Baumann M, Sterzel RB, et al. Interleukin 6 is an autocrine growth factor for mesangial cells. *Kidney Int* [Internet]. 1990;38(2):249–57. [Consulta 17 abril 2017]. Disponible en: [http://www.kidney-international.theisn.org/article/S0085-2538\(15\)34955-3/pdf](http://www.kidney-international.theisn.org/article/S0085-2538(15)34955-3/pdf)

Sahin OZ, Yavas H, Tasli F, Gibyeli DG, Ersoy R, Uzum A, et al. Prognostic value of glomerular C4d staining in patients with IgA nephritis. *Int J Clin Exp Pathol* [Internet]. 2014;7(6):3299–304. [Consulta 9 abril 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4097253>

Saitoh A, Suzuki Y, Takeda M, Kubota K, Itoh K, Tomino Y. Urinary levels of monocyte chemoattractant protein (MCP)-1 and disease activity in patients with IgA nephropathy. *J Clin Lab Anal*. 1998;12(1):1–5.

Sato F, Narita I, Goto S, Kondo D, Saito N, Ajiro J, et al. Transforming growth factor-beta1 gene polymorphism modifies the histological and clinical manifestations in Japanese patients with IgA nephropathy. *Tissue Antigens*. 2004;64(1):35-42.

Schulze M, Donadio JV, Pruchno CJ, Baker PJ, Johnson RJ, Stahl RA, et al. Elevated urinary excretion of the C5b-9 complex in membranous nephropathy. *Kidney Int* [Internet]. 1991; 40(3):533–8. [Consulta 24 febrero 2017]. Disponible en: [http://www.kidney-international.theisn.org/article/S0085-2538\(15\)57332-8/pdf](http://www.kidney-international.theisn.org/article/S0085-2538(15)57332-8/pdf)

Seedat YK, Nathoo BC, Parag KB, Naiker IP, Ramsaroop R. IgA nephropathy in blacks and Indians of Natal. *Nephron* 1988;50(2):137-41.

Serino G, Sallustio F, Cox SN, Pesce F, Schena FP. Abnormal miR-148b expression promotes aberrant glycosylation of IgA1 in IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2012;23(5):814-24. [Consulta 12 diciembre 2016]. Doi: 10.1681/ASN.2011060567

Shweke N, Boulos N, Jouanneau C, Vandermeersch S, Melino G, Dussaule JC, et al. Tissue transglutaminase contributes to interstitial renal fibrosis by favoring accumulation of fibrillar collagen through TGF-beta activation and cell infiltration. *Am J Pathol* [Internet]. 2008;173(3): 631-42. [Consulta 1 noviembre 2016]. Doi: 10.2353/ajpath.2008.080025

Shima Y, Nakanishi K, Hama T, Mukaiyama H, Togawa H, Sako M, et al. Spontaneous remission in children with IgA nephropathy. *Pediatr Nephrol*. 2013;28:71-6.

Siezenga MA, van der Geest RN, Mallat MJ, Rabelink TJ, Daha MR, Berger SP. Urinary properdin excretion is associated with intrarenal complement activation and poor renal function. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25(4):1157-61.

Silva FG, Chander P, Pirani CL, Hardy MA. Disappearance of glomerular mesangial IgA deposits after renal allograft transplantation. *Transplantation*. 1982;33(2):241-46.

Sironi M, Breviario F, Proserpio P, Biondi A, Vecchi A, Van Damme J, et al. IL-1 stimulates IL-6 production in endothelial cells. *J Immunol*. 1989;142(2):549-53.

Smerud HK, Fellström B, Hällgren R, Osagie S, Venge P, Kristjánsson G. Gluten sensitivity in patients with IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24(8):2476-81.

Smith AC, Molyneux K, Feehally J, Barratt J. O-glycosylation of serum IgA1 antibodies against mucosal and systemic antigens in IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2006;17(12):3520-28. [Consulta 12 noviembre 2016]. Doi: 10.1681/ASN.2006060658

Smith SM, Tung KS. Incidence of IgA-related nephritides in American Indians in New Mexico. *Hum Pathol* 1985;16:181-4.

Stangou M, Alexopoulos E, Papagianni A, Pantzaki A, Bantis C, Dovas S, et al. Urinary levels of epidermal growth factor, interleukin-6 and monocyte chemoattractant protein-1 may act as predictor markers of renal function outcome in immunoglobulin A nephropathy. *Nephrology (Carlton)*. 2009;14(6):613-20.

Staples AO, Greenbaum LA, Smith JM, Gipson DS, Filler G, Warady BA, et al. Association between clinical risk factors and progression of chronic kidney disease in children. *Clin J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2010;5(12):2172-9. [Consulta 9 enero 2017]. Doi: 10.2215/CJN.07851109

Sun Y, Yuan S, Xu X. Expression of MCP-1 in renal tissues of patients with IgA nephropathy. *Zhong Nan Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban*. 2009;34(10):1023-8.

Suzuki H, Fan R, Zhang Z, Brown R, Hall S, Julian BA, et al. Aberrantly glycosylated IgA1 in IgA nephropathy is recognized by IgG ab with restricted heterogeneity. *J Clin Invest* [Internet]. 2009;119(6):1668-77. [Consulta 29 septiembre 2016]. Doi: 10.1172/JCI38468

Suzuki H, Moldoveanu Z, Hall S, Brown R, Vu HL, Novak L, et al. IgA1-secreting cell lines from patients with IgA nephropathy produce aberrantly glycosylated IgA1. *J Clin Invest* [Internet]. 2008;118(2):629-39. [Consulta 29 septiembre 2016] Doi: 10.1172/JCI33189

Suzuki H, Raska M, Yamada K, Moldoveanu Z, Julian BA, Wyatt RJ, et al. Cytokines alter IgA1 O-glycosylation by dysregulating C1GalT1 and ST6GalNAc-II enzymes. *J Biol Chem* [Internet]. 2014 Feb 21;289(8):5330-9. [Consulta 20 julio 2016]. Doi: 10.1074/jbc.M113.512277

Szeto CC, Li PK. Micro RNAs in IgA nephropathy. *Nat Rev Nephrol*. 2014;10(5):249–56.

Tamouza H, Chemouny JM, Raskova Kafkova L, Berthelot L, Flamant M, Demion M, et al. The IgA1 immune complex-mediated activation of the MAPK/ERK kinase pathway in mesangial cells is associated with glomerular damage in IgA nephropathy. *Kidney Int* [Internet]. 2012;82(12):1284–96. [Consulta 1 octubre 2016]. Doi: 10.1038/ki.2012.192

Tang Z, Lu B, Hatch E, Sacks SH, Sheerin NS. C3a mediates epithelial-to-mesenchymal transition in proteinuric nephropathy. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2009;20(3):593–603. [Consulta 2 marzo 2017]. Doi: 10.1681/ASN.2008040434

Taniguchi Y, Yorioka N, Kumagai J, Katsutani M, Kuratsune M, Amimoto D, et al. Interleukin-6 localization and the prognosis of IgA nephropathy. *Nephron*. 1999b;81(1):94–8.

Taniguchi Y, Yorioka N, Masaki T, Asakimori Y, Yamashita K, Yamakido M. Localization of transforming growth factors beta1 and beta2 and epidermal growth factor in IgA nephropathy. *Scand J Urol Nephrol*. 1999a;33(4):243–7.

Tarelli E, Smith AC, Hendry BM, Challacombe SJ, Pouria S. Human serum IgA1 is substituted with up to six O-glycans as shown by matrix assisted laser desorption ionisation time-of-flight mass spectrometry. *Carbohydr. Res*. 2004;339: 2329–35.

Tomana M, Novak J, Julian BA, Matousovic K, Konecny K, Mestecky J. Circulating immune complexes in IgA nephropathy consist of IgA1 with galactose-deficient hinge region and antiglycan antibodies. *J Clin Invest* [Internet]. 1999;104(1):73–81. [Consulta 29 septiembre 2016]. Doi: 10.1172/JCI5535

Tomino Y, Endoh M, Nomoto Y, Sakai H. Activation of complement by renal tissues from patients with IgA nephropathy. *J Clin Pathol* [Internet]. 1981; 34(1): 35-40. [Consulta 20 diciembre 2016]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1146405>

Tomino Y, Funabiki K, Ohmuro H, Shimizu M, Yokoyama K, Shirato I, et al. Urinary levels of interleukin-6 and disease activity in patients with IgA nephropathy. *Am J Nephrol*. 1991;11(6):459–64.

Torres DD, Rossini M, Manno C, Mattace-Raso F, D'Altri C, Ranieri E, et al. The ratio of epidermal growth factor to monocyte chemotactic peptide-1 in the urine predicts renal prognosis in IgA nephropathy. *Kidney Int* [Internet]. 2008;73(3):327–33. [Consulta 2 marzo 2017]. Doi: 10.1038/sj.ki.5002621

van den Dobbelaan ME, van der Woude FJ, Schroeijers WE, van den Wall Bake AW, van Es LA, Daha MR. Binding of dimeric and polymeric IgA to rat renal mesangial cells enhances the release of interleukin 6. *Kidney Int* [Internet]. 1994a;46(2): 512–9. [Consulta 4 octubre 2016]. Disponible en: [http://www.kidney-international.theisn.org/article/S0085-2538\(15\)58583-9/pdf](http://www.kidney-international.theisn.org/article/S0085-2538(15)58583-9/pdf)

van den Dobbelaan ME, Verhasselt V, Kaashoek JG, Timmerman JJ, Schroeijers WE, Verweij CL, et al. Regulation of C3 and factor H synthesis of human glomerular mesangial cells by IL-1 and interferon-gamma. *Clin Exp Immunol* [Internet]. 1994b;95(1):173–80. [Consulta 8 abril 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC1534640>

van den Wall Bake AW, Kirk KA, Gay RE, Switalski LM, Julian BA, Jackson S, et al. Binding of serum immunoglobulins to collagens in IgAN and HIV infection. *Kidney Int* [Internet]. 1992;42(2):374-82. [Consulta 4 diciembre 2016]. Disponible en: [http://www.kidney-international.theisn.org/article/S0085-2538\(15\)57727-2/pdf](http://www.kidney-international.theisn.org/article/S0085-2538(15)57727-2/pdf)

Van Snick J, Cayphas S, Vink A, Uyttenhove C, Coulie PG, Rubira MR, et al. Purification and NH₂-terminal amino acid sequence of a T-cell-derived lymphokine with growth factor activity for B-cell hybridomas. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1986;83(24):9679-83. [Consulta 6 febrero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC387204>

Vuong MT, Hahn-Zoric M, Lundberg S, Gunnarsson I, van Kooten C, Wramner L, et al. Association of soluble CD89 levels with disease progression but not susceptibility in IgA nephropathy. *Kidney Int*. [Internet]. 2010;78(12):1281–7. [Consulta 5 julio 2016]. Doi: 10.1038/ki.2010.314

Waanders F, Vaidya VS, van Goor H, Leuvenink H, Damman K, Hamming I, et al. Effect of renin-angiotensinaldosterone system inhibition, dietary sodium restriction, and/or diuretics on urinary kidney injury molecule 1 excretion in nondiabetic proteinuric kidney disease: a post hoc analysis of a randomized controlled trial. *Am J Kidney Dis* [Internet]. 2009;53(1):16–25. [Consulta 5 abril 2017]. Doi: 10.1053/j.ajkd.2008.07.021

Wakai K, Kawamura T, Endoh M, Kojima M, Tomino Y, Tamakoshi A, et al. A scoring system to predict renal outcome in IgA nephropathy: from a nationwide prospective study. *Nephrol Dial Transplant*. 2006; 21(10):2800–8.

Wan JX, Fukuda N, Endo M, Tahira Y, Yao EH, Matsuda H, et al. Complement 3 is involved in changing the phenotype of human glomerular mesangial cells. *J Cell Physiol*. 2007;213(2):495–501.

Wang N, Bu R, Duan Z, Zhang X, Chen P, Li Z, et al. Profiling and initial validation of urinary microRNAs as biomarkers in IgA nephropathy. *PeerJ* [Internet]. 2015;3:e990. [Consulta 12 mayo 2017]. Doi: 10.7717/peerj.990

Wang Y, Zhao MH, Zhang YK, Li XM, Wang HY. Binding capacity and pathophysiological effects of IgA1 from patients with IgA nephropathy on human glomerular mesangial cells. *Clin Exp Immunol* [Internet]. 2004;136(1):168–75. [Consulta 3 diciembre 2016]. Doi: 10.1111/j.1365-2249.2004.02408.x

Watschinger B, Pascual M. Capillary C4d deposition as a marker of humoral immunity in renal allograft rejection. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2002;13(9): 2420–3. [Consulta 23 marzo 2017]. Disponible en: <http://jasn.asnjournals.org/content/13/9/2420.long>

Weissenbach J, Chernajovsky Y, Zeevi M, Shulman L, Soreq H, Nir U, et al. Two interferon mRNAs in human fibroblasts: In Vitro translation and Escherichia coli cloning studies. *Proc Natl Acad Sci U S A* [Internet]. 1980;77(12):7152-6. [Consulta 26 enero 2017]. Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC350459>

Westerhuis R, Van Zandbergen G, Verhagen NA, Klar-Mohamad N, Daha MR, van Kooten C. Human mesangial cells in culture and in kidney sections fail to express Fc α receptor (CD89). *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 1999;10(4):770–8. [Consulta 8 diciembre 2016]. Disponible en: <http://jasn.asnjournals.org/content/10/4/770.long>

Woo KT, Lau YK, Lee GSL, Wei SS, Lim CH. Pattern of proteinuria in IgA nephritis by SDS-PAGE: Clinical significance. *Clin Nephrol*. 1991;36(1):6-11.

Woof JM, Kerr MA. The function of immunoglobulin A in immunity. *J Pathol*. 2006;208: 270–82.

Worawichawong S, Worawichawong S, Radinahamed P, Muntham D, Sathirapongsasuti N, Nongnuch A., et al. Urine Epidermal Growth Factor, Monocyte Chemoattractant Protein-1 or Their Ratio as Biomarkers for Interstitial Fibrosis and Tubular Atrophy in Primary Glomerulonephritis. *Kidney Blood Press Res* [Internet]. 2016;41(6):997-1007. [Consulta 3 marzo 2017]. DOI:10.1159/000452595

Wyatt RJ. The complement system in IgA nephropathy and Henoch-Schönlein purpura: Functional and genetic aspects. *Contrib Nephrol*. 1993;104:82–91.

Wyatt RJ, Julian BA. IgA nephropathy. *N Engl J Med*. 2013;368(25):2402-14.

Wyatt RJ, Kanayama Y, Julian BA, Negoro N, Sugimoto S, Hudson EC, et al. Complement activation in IgA nephropathy. *Kidney Int* [Internet]. 1987;31(4):1019–23. [Consulta 20 diciembre 2016]. Disponible en: [http://www.kidney-international.theisn.org/article/S0085-2538\(15\)33952-1/pdf](http://www.kidney-international.theisn.org/article/S0085-2538(15)33952-1/pdf)

Wyatt RJ, Kritchovsky SB, Woodford SY, Miller PM, Roy S 3rd, Holland NH, et al. IgA nephropathy: Long-term prognosis for pediatric patients. *J Pediatr*. 1995; 127(6):913-9.

Xie J, Kiryluk K, Wang W, Wang Z, Guo S, Shen P, et al. Predicting progression of IgA nephropathy: new clinical progression risk score. *Plos One* [Internet]. 2012;7(6):e38904. [Consulta 23 enero 2017]. doi: 10.1371/journal.pone.0038904

Xu PC, Zhang JJ, Chen M, Lv JC, Liu G, Zou WZ, et al. Urinary kidney injury molecule-1 in patients with IgA nephropathy is closely associated with disease severity. *Nephrol Dial Transplant*. 2011;26(10):3229-36.

Yavas H, Sahin OZ, Ersoy R, Taşlı F, Gibyeli Genek D, et al. Prognostic value of NGAL staining in patients with IgA nephropathy. *Ren Fail*. 2013;35(4):472-6.

Yamada K, Kobayashi N, Ikeda T, Suzuki Y, Tsuge T, Horikoshi S, et al. Down-regulation of core 1 beta1,3-galactosyltransferase and Cosmc by Th2 cytokine alters O-glycosylation of IgA1. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 2010;25(12):3890–7. [Consulta 27 septiembre 2016]. Doi: 10.1093/ndt/gfq325

Yanagawa H, Suzuki H, Suzuki Y, Kiryluk K, Gharavi AG, Matsuoka K, et al. A panel of serum biomarkers differentiates IgA nephropathy from other renal diseases. *PLoS One* [Internet]. 2014;9(5):e98081. [Consulta 22 marzo 2017]. Doi: 10.1371/journal.pone.0098081

Yen TH, Alison MR, Goodlad RA, Otto WR, Jeffery R, Cook HT, et al. Epidermal growth factor attenuates tubular necrosis following mercuric chloride damage by regeneration of indigenous, not bone marrow-derived cells. *J Cell Mol Med* [Internet]. 2015;19(2):463–73. [Consulta 20 marzo 2017]. Doi: 10.1111/jcmm.12478

Yokoyama T, Fujita H, Narita T, Koshimura J, Shimotomai T, Fujishima H, et al. Increased urinary excretion of monocyte chemoattractant protein-1 in proteinuric renal diseases. *Ren Fail*. 2003; 25(3):439–44.

Yokoyama H, Wada T, Furuichi K, Segawa C, Shimizu M, Kobayashi K, et al. Urinary levels of chemokines (MCAF/MCP-1, IL-8) reflect distinct disease activities and phases of human IgA nephropathy. *J Leukoc Biol*. 1998;63(4):493–9.

Yu XQ, Li M, Zhang H, Low HQ, Wei X, Wang JQ, et al. A genome-wide association study in Han Chinese identifies multiple susceptibility loci for IgA nephropathy. *Nat Genet*. 2012;44(2):178–82.

Zaferani A, Vivès RR, van der Pol P, Hakvoort JJ, Navis GJ, van Goor H, et al. Identification of tubular heparan sulfate as a docking platform for the alternative complement component properdin in proteinuric renal disease. *J Biol Chem* [Internet]. 2011;286(7):5359–67. [Consulta .9 abril 2017]. Doi: 10.1074/jbc.M110.167825

Zhang J, Jacobi AM, Wang T, Berlin R, Volpe BT, Diamond B. Polyreactive autoantibodies in systemic lupus erythematosus have pathogenic potential. *J Autoimmun* [Internet]. 2009;33(3-4):270–4. [Consulta .2 octubre 2016]. Doi: 10.1016/j.jaut.2009.03.011

Zhang J, Wang C, Tang Y, Peng H, Ye ZC, Li CC, et al. Serum immunoglobulin A/C3 ratio predicts progression of immunoglobulin A nephropathy. *Nephrology (Carlton)* 2013;18(2):125–31.

Zhang JJ, Jiang L, Liu G, Wang SX, Zou WZ, Zhang H, et al. Levels of urinary complement factor H in patients with IgA nephropathy are closely associated with disease activity. *Scand J Immunol* [Internet]. 2009;69(5):457-64. [Consulta 1 abril 2017]. Doi: 10.1111/j.1365-3083.2009.02234.x

Zhao N, Hou P, Lv J, Moldoveanu Z, Li Y, Kiryluk K, et al. The level of galactose-deficient IgA1 in the sera of patients with IgA nephropathy is associated with disease progression. *Kidney Int* [Internet]. 2012;82(7):790–6. [Consulta 21 marzo 2017]. DOI: 10.1038/ki.2012.197

Zhu L, Tang W, Li G, Lv J, Ding J, Yu L, et al. Interaction between variants of two glycosyltransferase genes in IgA nephropathy. *Kidney Int*. 2009;76(2):190-8.

Zwirner J, Burg M, Schulze M, Brunkhorst R, Götze O, Koch KM, et al. Activated complement C3: a potentially novel predictor of progressive IgA nephropathy. *Kidney Int*. 1997;51(4):1257-64.

Certificado de dirección

Título de la tesis

Utilidad clínica de biomarcadores de severidad y pronóstico de la nefropatía IgA en el adulto

Departamento

Medicina

Doctorando

Clara Carnicer Cáceres

Directores

Vicent Fonollosa Pla

Alfons Segarra Medrano