Document downloaded from http://www.elsevier.es, day 03/10/2017. This copy is for personal use. Any transmission of this document by any media or format is strictly prohibited.

Sociedad Española de Nefrología

nefrología

Revista de la Sociedad Española de Nefrología

www.revistanefrologia.com

Original

Valor de los niveles urinarios de interleucina 6, factor de crecimiento epidérmico, proteína quimioatractante de monocitos de tipo 1 y factor de crecimiento transformante β1 para la predicción de la extensión de las lesiones de fibrosis en biopsias de enfermos con nefropatía IgA

Alfons Segarra-Medrano[a,*], *Clara Carnicer-Caceres*[b], *Naiara Valtierra-Carmeno*[a], *Irene Agraz-Pamplona*[a], *Natalia Ramos-Terrades*[a], *Elías Jatem Escalante*[a] y *Elena Ostos-Roldan*[a]

[a] *Servicio de Nefrología, Hospital Vall d'Hebron, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España*
[b] *Servicio de Bioquímica, Hospital Vall d'Hebron, Universidad Autónoma de Barcelona, Barcelona, España*

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:
Recibido el 14 de marzo de 2016
Aceptado el 17 de noviembre de 2016

Palabras clave:
Biomarcadores
Interleucina 6
Factor de crecimiento epidérmico
Proteína quimioatractante de monocitos de tipo 1
Factor de crecimiento transformante β1
Fibrosis intersticial
Nefropatía IgA

RESUMEN

Objetivo: Analizar las asociaciones entre el nivel urinario de IL-6, EGF, MCP-1 y TGFβ1 y las características clínicas, bioquímicas y anatomopatológicas en enfermos con nefropatía IgA primaria y determinar su capacidad para realizar una estimación de la extensión de las lesiones de esclerosis glomerular e intersticial.

Pacientes y métodos: Se estudió a 58 enfermos con nefropatía IgA. Se determinaron los niveles urinarios de IL-6, EGF, MCP-1 y TGFβ1 en el momento del diagnóstico. Tras realizar un análisis de la extensión de las lesiones renales mediante morfometría cuantitativa y mediante los criterios de Oxford, se analizó la capacidad de dichas moléculas para estimar la extensión de las lesiones glomerulares e intersticiales de fibrosis.

Resultados: La IL-6, MCP-1 y TGF-β1 se asociaron a glomeruloesclerosis focal y a la extensión de la fibrosis intersticial, pero no a la presencia de proliferación mesangial, intracapilar o extracapilar. EGF presentó una asociación negativa con la fibrosis intersticial. Al categorizar a los enfermos según la clasificación de Oxford, los enfermos con *scores* T1 y T2 presentaron niveles significativamente superiores de IL-6, MCP-1 y TGFβ1, y niveles de EGF significativamente inferiores que los enfermos con T0. Tanto mediante regresión múltiple como mediante regresión logística, los niveles de MCP-1, IL-6 y EGF fueron predictores independientes de la superficie de fibrosis, tras ajustar por edad y FGe.

* Autor para correspondencia.
Correo electrónico: alsegarr@gmail.com (A. Segarra-Medrano).

http://dx.doi.org/10.1016/j.nefro.2016.11.017

0211-6995/© 2017 Sociedad Española de Nefrología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Document downloaded from http://www.elsevier.es, day 03/10/2017. This copy is for personal use. Any transmission of this document by any media or format is strictly prohibited.

Conclusión: La determinación de la concentración urinaria de IL-6, EGF y MCP-1 proporciona una información adicional que mejora de forma significativa la estimación de la superficie de fibrosis intersticial.

© 2017 Sociedad Española de Nefrología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Value of urinary levels of interleukin-6, epidermal growth factor, monocyte chemoattractant protein type1 and transforming growth factor β1 in predicting the extent of fibrosis lesions in kidney biopsies of patients with IgA nephropathy

Keywords:
Biomarkers
Interleukin-6
Epidermal growth factor
Monocyte chemoattractant protein type1
Transforming growth factor β1
Interstitial fibrosis
IgA nephropathy

A B S T R A C T

Objective: To analyse the associations between urinary levels of IL-6 EGF, MCP-1 and TGFβ1 and clinical, biochemical and histopathological characteristics in patients with primary IgA nephropathy and their ability to predict the extent of lesions of glomerular and/or interstitial sclerosis.

Patients and methods: A total of 58 patients with IgA nephropathy were studied. We determined the urine levels of IL-6, EGF, MCP-1, and TGFβ1 at the time of diagnosis. The extent of glomerular and interstitial fibrosis was analyzed by quantitative morphometry and kidney biopsies were classified according to the Oxford criteria. We analysed the ability of these molecules to predict the extent of glomerular and interstitial fibrosis lesions.

Results: IL-6, TGFβ1 and MCP-1 were associated with focal glomerulosclerosis and interstitial fibrosis extension but not with the presence of mesangial, extracapillary or endocapillary proliferation. EGF showed a negative association with interstitial fibrosis. By categorising patients according to the Oxford classification, patients with T1 and T2 scores had significantly higher levels of IL-6, MCP-1, TGF-β1 and significantly lower levels of EGF than patients with T0 scores. By multiple regression and logistic regression analyses, the levels of MCP-1, IL-6 and EGF were independent predictors of the fibrosis surface, after adjusting for age and eGFR.

Conclusion: The urinary concentration of IL-6, EGF and MCP-1 provides additional information that significantly improves the estimation of the surface of interstitial fibrosis in patients with IgA nephropathy.

© 2017 Sociedad Española de Nefrología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/).

Introducción

La nefropatía mesangial IgA es una de las nefropatías primarias más frecuentes y tiene un curso clínico muy variable que incluye desde formas indolentes hasta formas con insuficiencia renal rápidamente progresiva[1–4]. Aproximadamente un 20-25% de los enfermos presenta evolución a insuficiencia renal crónica a largo plazo. Los factores de mal pronóstico identificados hasta la fecha son la presencia de insuficiencia renal, proteinuria persistentemente superior a 1 g/día, la hipertensión arterial y los depósitos mesangiales de C4d[5]. La extensión de las lesiones glomerulares e intersticiales tiene valor pronóstico en enfermos no tratados, pero no en enfermos que han recibido tratamiento con glucocorticoides u otros inmunomoduladores[6]. En la actualidad, se acepta que, tras el depósito mesangial de IgA, la lesión renal se inicia a través de la activación del complemento por la vía alternativa, por la vía de las lectinas o por ambas[7]. Este proceso resulta en la generación de diversas citocinas y factores de crecimiento que actúan como mediadores del daño renal, estimulando la proliferación celular y el aumento en la producción de la matriz mesangial[7,8]. Hay también datos que indican que las citocinas producidas por la célula mesangial pueden inducir alteraciones en la estructura y función de los podocitos y de las células del túbulo proximal, que se relacionan con la aparición de lesiones de glomeruloesclerosis y de fibrosis intersticial[9–11]. De las diferentes moléculas potencialmente implicadas, la interleucina-6 (IL-6)[12–15], el factor de crecimiento epidérmico (EGF)[16–18], la proteína quimioatractante de monocitos de tipo 1 (MCP-1)[19–23] y el factor de crecimiento transformante β1 (TGFβ1)[24] han sido objeto de estudios detallados. Los datos disponibles demuestran una correlación significativa entre la excreción urinaria y la expresión renal de IL-6[15] y de EGF[15] y de una correlación significativa entre los niveles urinarios de IL-6[15,16], EGF[15,17,18], MCP-1[22,23] y TGFβ1[24] y la extensión de las lesiones de fibrosis intersticial y atrofia tubular. Estos datos señalan que el nivel urinario de estas citocinas y factores de crecimiento podría proporcionar información funcional sobre la patogenia de la lesión renal o ser biomarcadores indirectos de la extensión de la fibrosis glomerular e intersticial.

Document downloaded from http://www.elsevier.es, day 03/10/2017. This copy is for personal use. Any transmission of this document by any media or format is strictly prohibited.

Tres estudios independientes han demostrado que la medición de la excreción urinaria de algunas de estas moléculas podría tener valor pronóstico en la nefropatía IgA[15,17,18]. En concreto, se ha descrito que el cociente IL-6/EGF[15] podría ser un indicador de la progresión hacia la fibrosis renal y que la relación MCP-1/EGF identificaría, en el momento del diagnóstico, a los pacientes con mayor riesgo de progresión a la insuficiencia crónica renal, con independencia de la función renal y de la proteinuria inicial[17,18]. Por otra parte, el potencial valor pronóstico de la excreción urinaria de EGF también se ha puesto de manifiesto en un reciente estudio que la identificó como predictor de progresión independiente en 3 cohortes de enfermos con enfermedades glomerulares[25]. Estos datos indican que la medición de la excreción urinaria de uno o varios de estos biomarcadores podría tener utilidad en la práctica clínica. Sin embargo, hasta la fecha, no se ha realizado ningún estudio comparativo para analizar cuál de ellos es el que se correlaciona mejor con las lesiones de fibrosis renal.

El objetivo del presente estudio fue analizar las asociaciones entre el nivel urinario de IL-6, EGF, MCP-1 y TGFβ1 y las características clínicas, bioquímicas y anatomopatológicas en enfermos con nefropatía IgA primaria, y cuáles de estas moléculas permiten una estimación más precisa de la extensión de las lesiones de fibrosis glomerular o intersticial.

Pacientes y métodos

Se estudió un total de 58 pacientes con nefropatía IgA idiopática diagnosticada por biopsia renal. En el momento de la biopsia renal y antes de iniciar cualquier tratamiento, se registraron las variables demográficas y clínicas, se realizaron determinaciones de creatinina sérica, filtrado glomerular estimado (FGe) mediante la ecuación CKD-EPI[26], excreción urinaria de sodio y cociente proteinuria/creatinina y se obtuvieron muestras de orina de la segunda micción de la mañana para medir los niveles de IL-6, EGF, MCP-1 y TGFβ1. En las muestras de orina, se descartó la presencia de piuria mediante estudio del sedimento urinario. Las muestras de orina se centrifugaron a 1.500 g durante 10 min y se almacenaron a −80 °C hasta su procesamiento.

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 con antagonistas de la aldosterona. Ningún paciente fue tratado con esteroides ni otros medicamentos inmunosupresores y ningún paciente recibió paricalcitol. La adecuación de la colección de 24 h se evaluó mediante la comparación de la creatinina total en la muestra con la creatinina predicha: 28 - (0,2 × edad) × kg en hombres y 23,8 - (0,17 × edad) × kg en mujeres en mg/día[27]. Los valores de creatinina se obtuvieron utilizando un compensado IDMS trazable (Hitachi Modular P-800 Roche Diagnostics, Berlín, Alemania).

Los niveles de a EGF, IL-6, MCP-1 y TGFβ1 en orina se midieron mediante análisis ELISA comerciales (Quantikine R & D Systems, Minneapolis, EE. UU.) siguiendo las instrucciones del fabricante. Para medir el TGFβ1 total (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[28]. Todos los análisis se realizaron por duplicado y fueron calibrados con estándares purificados y sueros de referencia de los fabricantes. La precisión intraanálisis se calculó realizando 10 determinaciones en la misma placa de 3 muestras con concentraciones conocidas y fueron <5% para todas las moléculas, tanto a baja como a alta concentración. La precisión interanálisis se estudió con 10 determinaciones en distintas placas de 3 muestras con concentraciones conocidas, que fueron <6,8% para todas las moléculas, tanto a bajas como a altas concentraciones. 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 TGFß1).

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.

Estudio anatomopatológico de las biopsias renales

El tejido renal se fijó en parafina, y se realizaron cortes de 4 μm, que se tiñeron con hematoxilina-eosina, tricrómico 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 y C3.

En las biopsias renales, se contabilizó la proporción de glomérulos con lesiones de proliferación mesangial y esclerosis segmentaria, la presencia de proliferación intra- y extracapilar y la extensión de la fibrosis intersticial mediante morfometría cuantitativa, utilizando un autoanalizador Olympus WCE2. Las biopsias renales fueron, además, clasificadas siguiendo el documento de consenso internacional de Oxford 2009[29].

Análisis estadístico

La comparación de 2 medias se realizó mediante la t de Student para datos independientes. La comparación de proporciones se realizó mediante la prueba de chi cuadrado o el test exacto de Fischer. Para el análisis de correlaciones entre variables cuantitativas se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson. 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 univariado, seguido de un análisis de regresión múltiple paso a paso, tomando la superficie de fibrosis como variable dependiente tras transformación logarítmica y tras 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 univariado 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[30]. 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.

Document downloaded from http://www.elsevier.es, day 03/10/2017. This copy is for personal use. Any transmission of this document by any media or format is strictly prohibited.

Tabla 1 – Características clínicas, bioquímicas y anatomopatológicas de la muestra de enfermos estudiada

N: 58	
Edad años	48,1 (26)
Sexo H/M	40 (68,9)/18 (31)
Creatinina mg/dL	1,18 (1)
FGe ml/min/1,73 m²	85,9 (16)
Proteinuria g/24 h	1,79 (1)
Hem cel/μl	99 (45)
Hematuria macroscópica	23 (39,6)
PAS mmHg	138 (18)
PAD mmHg	76 (19)
Clasificación de Oxford	
M1	15 (26)
E1	17 (29,3)
S1	17 (29,3)
T0	29 (50)
T1	16 (27,5)
T2	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]
TGFβ1 ng/mg o creatinina	28,4 [4,1-61,2]

EGF: factor de crecimiento epitelial; IL-6: interleucina 6; MCP-1: proteína quimioatractante de monocitos de tipo 1; PAD: presión arterial diastólica; PAS: presión arterial sistólica; TGFβ1: factor de crecimiento transformante β1.
Los datos cualitativos se expresan como frecuencia absoluta (porcentaje). Los datos cuantitativos representan la media ± DE o la mediana y [P25-P75].

Resultados

En la tabla 1 se resumen las características clínicas y anatomopatológicas de la muestra de enfermos incluida en el estudio. En la tabla 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 TGFβ1 y la extensión de la glomeruloesclerosis focal, pero no con la presencia de proliferación intra- o extracapilar. 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 TGFβ1 y negativa entre las lesiones de fibrosis intersticial y el nivel urinario de EGF. Al categorizar a los enfermos según la clasificación de Oxford (tabla 3), no se apreciaron diferencias significativas en ninguna de las moléculas estudiadas en función de los criterios M, E o S. Los enfermos con *scores* de fibrosis intersticial T1 y T2 presentaron niveles significativamente superiores de IL-6, MCP-1 y TGFβ1, y niveles de EGF significativamente inferiores que los enfermos T0, pero no se apreciaron diferencias significativas entre T1 y T2. Se apreció una correlación significativa entre niveles urinarios de IL-6, MCP-1, TGFβ1 y proteinuria. Los niveles de EGF solo tuvieron asociación con el grado de esclerosis intersticial y con el filtrado glomerular.

En la tabla 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. En el caso de la IL-6 y del TGFβ1, se aprecian también asociaciones significativas con la esclerosis glomerular y, en el de la IL-6 y MCP-1, con la proteinuria.

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 5).

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). El modelo tuvo una buena capacidad predictiva con un área bajo la curva de 0,87 ± 0,07 (p: 0,0001) y una buena calibración para todas las categorías de riesgo (tabla 7). Los niveles de TGFβ1,

Tabla 2 – Matriz de correlaciones entre variables

	FGe	FIB	GFS	ENDO	Infilt int	IL-6	EGF	TGFβ1	MCP-1
FIB	−0,46*								
GFS	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**			
TGFβ1	−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**

EGF: factor de crecimiento epitelial; ENDO: porcentaje de glomérulos con proliferación intracapilar; EXTRA: porcentaje de glomérulos con proliferación extracapilar; FGe: filtrado glomerular estimado por CKD- EPI; FIB: superficie total de fibrosis intersticial; GFS: porcentaje de glomérulos con esclerosis segmentaria; IL-6: interleucina 6; Int Infilt: superficie total de infiltrado intersticial; MCP-1: proteína quimioatractante de monocitos de tipo 1; Prot: proteinuria de 24 h; TGFβ1: factor de crecimiento transformante β1.
* P < 0,01.
** P < 0,05.

Document downloaded from http://www.elsevier.es, day 03/10/2017. This copy is for personal use. Any transmission of this document by any media or format is strictly prohibited.

Tabla 3 – Niveles urinarios de IL-6, MCP-1, TGFβ1 y EGF en los enfermos, clasificados según los criterios de Oxford

	n	IL-6	MCP-1	TGFβ1	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.

Tabla 4 – Predictores independientes de los concentraciones de IL-6, MCP-1, TGFβ1 y EGF en orina en los modelos de regresión múltiple

IL-6	Beta	IC 95%	t	Sig.
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
R^2: 0,56 ANOVA p < 0,0001				
MCP-1	**Beta**	**IC 95%**	**t**	**Sig.**
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
R^2: 0,49 ANOVA p: 0,026				
fTGFβ1	**Beta**	**IC 95%**	**t**	**Sig.**
Esclerosis glomerular	0,20	0,13-0,29	3,4	0,004
Fibrosis intersticial	0,18	0,05-0,27	1,8	0,041
R^2: 0,47 ANOVA p: 0,035				
EGF	**Beta**	**IC 95%**	**t**	**Sig.**
Fibrosis intersticial	0,25	0,16-0,31	17,7	0,000
R^2: 0,39 ANOVA p: 0,008				

además de asociarse con la esclerosis glomerular y con la fibrosis intersticial, tuvieron una asociación muy significativa con los de IL-6 y MCP-1. La introducción del nivel de TGFβ1 en los modelos, manteniendo MCP-1 e IL-6, causó colinealidad y, al introducir el nivel de TGFβ1 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.

Discusión

Los resultados de nuestro estudio indican que, en enfermos con nefropatía IgA, el nivel urinario de IL-6, EGF, MCP-1 y TFGβ1 se correlaciona de forma significativa con el grado de esclerosis glomerular e intersticial observado en las biopsias renales, pero no con las lesiones proliferativas intra- o extracapilares ni con el grado de proliferación mesangial. Los niveles

Document downloaded from http://www.elsevier.es, day 03/10/2017. This copy is for personal use. Any transmission of this document by any media or format is strictly prohibited.

Tabla 5 – Modelos predictivos de la extensión de la lesiones de fibrosis intersticial mediante análisis de regresión múltiple

	Modelo 1					Modelo 2								
	β	IC 95%	t	Sig.		β	IC95%	t	Sig		β	IC95%	t	Sig
FGe	0,11	0,06 - ,21	3,4	0,033	FGe	0,08	0,02 - 0,10	2,3	0,045	FGe	0,07	0,04 - 0,12	2,3	0,040
Edad	0,16	0,04 - ,19	3,7	0,028	Edad	0,09	0,03 - 0,13	2,7	0,036	Edad	0,10	0,06 - 0,15	2,4	0,042
					MCP-1	0,19	0,13 - 0,36	4,1	0,012	MCP-1	0,21	0,14 - 0,39	3,6	0,027
					EGF	0,16	0,09 - 0,31	3,9	0,041	IL-6	0,07	0,02 - 0,24	2,3	0,040
	R^2: 0,22 ANOVA p: 0,034					R^2: 0,38 ANOVA p: 0,016					R^2: 0,41 ANOVA p: 0,023			

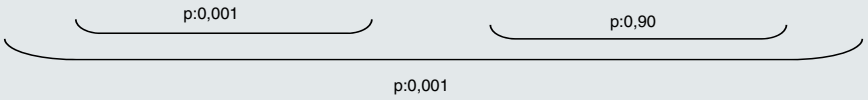

Tabla 6 – Modelo de regresión logística para estimar la probabilidad de presentar fibrosis grado T1-T2 de Oxford en la biopsia renal

	OR	IC 95%	Sig
FGe	0,70	0,68–0,91	0,001
Edad	1,03	1,02–1,04	0,003
EGF	0,59	0,36–0,96	0,034
MCP-1	1,34	1,07–1,68	0,009

Edad (por año). ABC: 0,87 ± 0,07.
P: 0,0001.
EGF: *epidermal growth factor* (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 m^2); MCP-1: proteína quimiotractante de monocitos de tipo 1 (por cada aumento en 1 ng/mg de creatinina).

Tabla 7 – Calibración del modelo logístico por categorías de riesgo, mediante la prueba de Hosmer-Lemeshow

*Categorías de riesgo	Fibrosis = 1		Total
	Observados	Esperados	
<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	7,0	7
>0,872	7	7,0	7

No se apreciaron diferencias significativas entre el número de enfermos con lesiones de fibrosis intersticial observados y esperados por el modelo en ninguna de las categorías de riesgo.
Fibrosis = 1: presencia de fibrosis de grado T1 o T2.
Chi^2: 6,98; p: 0,90.
* Categorías de riesgo: probabilidad de presentar fibrosis intersticial estimada por el modelo logístico.

de dichas moléculas no permitieron diferenciar entre subgrupos de la clasificación de Oxford en cuanto al grado de proliferación mesangial, proliferación intracapilar o esclerosis focal, pero fueron significativamente distintos en los enfermos con estadios de fibrosis T1 y T2 con relación a T0. En los modelos multivariados, el mejor predictor de la superficie de fibrosis intersticial fue el filtrado glomerular, pero los modelos que incluyeron FGe, edad, MCP-1 y EGF o IL-6 tuvieron capacidad predictiva significativamente superior, por lo que aportan una información adicional y más precisa sobre la superficie de fibrosis intersticial. Por otra parte, en los modelos de regresión logística, estas mismas variables tuvieron capacidad para identificar a los enfermos que presentaron niveles de fibrosis T1-T2 en las biopsias, con alto poder predictivo y con buena discriminación para cualquier categoría de riesgo. En conjunto, estos datos indican que la información que proporciona la medición de la excreción del nivel urinario de IL-6, MCP-1 y EGF permite la estimación de la superficie de fibrosis de forma más precisa que el filtrado glomerular de forma aislada y, en consecuencia, pueden aportar datos relevantes en la práctica clínica. Estudios previos, combinando técnicas de hibridación *in situ* e inmunohistoquimia, han demostrado que, en la nefropatía IgA, la síntesis de IL-6 está incrementada tanto en las células mesangiales como en las células del túbulo proximal y de las células del infiltrado intersticial[13–15]. El aumento en la expresión de IL-6 se ha correlacionado con la extensión de la fibrosis glomerular y con la de la fibrosis intersticial, con o sin lesión proliferativa mesangial[13–15]. Los niveles de IL-6 urinarios observados en nuestros enfermos y su correlación con las lesiones de fibrosis intersticial concuerdan con los datos previamente publicados[12–15] y, por tanto, corroboran la idea de que su determinación podría ser útil como indicador de la severidad de las lesiones renales. MCP-1 ha sido identificada como una de las moléculas directamente implicadas en el reclutamiento de células inflamatorias al intersticio renal tanto en modelos experimentales como en diversas enfermedades glomerulares, incluyendo la nefropatía IgA[20,22]. En nuestros enfermos, MCP-1 se correlaciona con el filtrado glomerular y con la extensión de la fibrosis e infiltrado intersticial y, en menor grado, con la proteinuria, lo que coincide con los datos descritos en estudios previos[19–23]. El TFGβ1 es considerado como uno de los moduladores claves en la reparación tras la lesión. Sin embargo, un exceso de producción se ha asociado a depósito de colágeno y cicatrización[31,32]. En diversas glomerulopatías crónicas, se ha demostrado que

Document downloaded from http://www.elsevier.es, day 03/10/2017. This copy is for personal use. Any transmission of this document by any media or format is strictly prohibited.

la expresión renal de TFGβ1 se encuentra incrementada y que los niveles urinarios de TFGβ1 reflejan su producción local a nivel renal[24,31]. Los datos de nuestros enfermos coinciden con los previamente publicados en la nefropatía IgA, en hallar una correlación entre los niveles urinarios de de TFGβ1 y en la severidad de las lesiones de esclerosis glomerular e intersticial. En los enfermos estudiados, los niveles de IL-6, MCP-1 y TFGβ1, además de estar correlacionados con la fibrosis glomerular e intersticial, están altamente correlacionados entre sí, lo que indica que probablemente reflejan aspectos de un proceso patogénico común. La elevada correlación entre el nivel de TFGβ1 y el de MCP-1 motiva que, en los modelos predictivos, la introducción de ambas variables resulte en colinealidad y, por ello, no sea posible introducir más que una de ellas. Los diferentes modelos analizados tienen mayor poder predictivo y mejor calibración al introducir el nivel de MCP-1 que el de TFGβ1. El EGF está considerado como un factor trófico para las células tubulares renales[33,34]. Diversos estudios indican que su excreción urinaria se halla reducida en presencia de lesiones tubulares crónicas que implican reducción del número de células tubulares[17,18] y recientemente se ha identificado como un predictor pronóstico independiente en enfermos con diversas glomerulopatías[25]. En nuestros enfermos, los niveles urinarios de EGF se correlacionaron con el filtrado glomerular y con la extensión de las lesiones de fibrosis intersticial y atrofia tubular, lo que concuerda con la evidencia previa e indica que podrían también ser un estimador indirecto de la extensión de las lesiones de fibrosis intersticial y de atrofia tubular. Nuestros datos, además, indican que la mejora en la predicción de la superficie de fibrosis puede también obtenerse mediante la determinación de la excreción de MCP-1 o de IL-6. Los niveles de MCP-1 contribuyen de forma significativa ya que, en los modelos multivariados, tras ajustar por edad y filtrado glomerular, o bien complementan la información que proporciona el nivel de EGF, o bien aparecen como predictor independiente, en asociación con IL-6, sin tener en cuenta los valores de EGF.

Los datos de nuestro estudio tienen la limitación de carecer de estudios preanalíticos que permitan definir con exactitud el tipo de muestras y la metodología más adecuada para su procesamiento, de haber utilizado una única técnica de medición y de no haber sido validados de forma independiente en otras cohortes de enfermos. 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. Hacer extensivos estos resultados a otros grupos de enfermos con nefropatía IgA requeriría previamente estandarizar los aspectos técnicos relacionados con las mediciones y analizar, de forma independiente, su reproductibilidad.

En resumen, nuestros datos indican que en la nefropatía IgA, la concentración urinaria de IL-6, EGF, MCP-1 y TFGβ1 no permite estimar adecuadamente la extensión de las lesiones de proliferación mesangial, intracapilar o extracapilar ni el grado de esclerosis glomerular, pero proporciona una información adicional, no invasiva, que complementa la que aporta el filtrado glomerular, tras ajustar por la edad, y mejora de forma significativa la estimación de la superficie de fibrosis intersticial. Entre los biomarcadores estudiados, la combinación de EGF y MCP-1 o de IL-6 y MCP-1 tiene un valor predictivo similar sobre la superficie de fibrosis y parecen las más adecuadas para realizar estudios en la práctica clínica.

Financiación

El presente estudio ha sido financiado mediante una ayuda del Fondo de Investigaciones Sanitarias FISS n.° de expediente: PI14/01831.

Conflicto de intereses

Ninguno de los autores declara tener conflictos de interés.

BIBLIOGRAFÍA

1. 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;18:12–9.
2. D'Amico G. Natural history of idiopathic IgA nephropathy: Role of clinical and histological prognostic factors. Am J Kidney Dis. 2000;36:227–37.
3. Bartosik LP, Lajoie G, Sugar L, Cattran DC. Predicting progression in IgA nephropathy. Am J Kidney Dis. 2001;38:728–35.
4. 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. 2011;22:752–61.
5. Espinosa M, Ortega R, Sánchez M, Segarra A, Salcedo MT, González F, et al., Spanish Group for Study of Glomerular Diseases (GLOSEN). Association of C4d deposition withclinical outcomes in IgA nephropathy. Clin J Am Soc Nephrol. 2014;9:897–904.
6. Coppo R, Troyanov S, Bellur S, Cattran D, Cook HT, Feehally J, et al., 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. 2014;86:828–36.
7. Boyd JK, Cheung CK, Molyneux K, Feehally J, Barratt J. An update on the pathogenesis and treatment of IgA nephropathy. Kidney Int. 2012;81:833–43.
8. Suzuki H, Kiryluk K, Novak J, Moldoveanu Z, Herr AB, Renfrow MB, et al. The pathophysiology of IgA nephropathy. J Am Soc Nephrol. 2011;10:1795–803.
9. Gesualdo L, Di Paolo S, Ranieri E, Schena FP. Growth factors and their receptors in the progression of renal damage. Contrib Nephrol. 1995;11:38–44.
10. Lai KN, Chan LY, Leung JC. Mechanisms of tubulointerstitial injury in IgA nephropathy. Kidney Int Suppl. 2005;94:S110–5.
11. 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. 2009;24:62–72.
12. 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. 1990;38:249–57.
13. 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;11:459–64.
14. Taniguchi Y, Yorioka N, Kumagai J, Katsutani M, Kuratsune M, Amimoto D, et al. Interleukin-6 localization and the prognosis of IgA nephropathy. Nephron. 1999;81:94–8.

Document downloaded from http://www.elsevier.es, day 03/10/2017. This copy is for personal use. Any transmission of this document by any media or format is strictly prohibited.

15. Ranieri E, Gesualdo L, Petraluro F, Schena F. Urinary IL-6/EGF ratio: A useful pronostic marker for the progression of renal damage in IgA nephropathy. Kidney Int. 1996;50:1990–2001.
16. 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. 1999;33:243–7.
17. 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. 2008;73:327–33.
18. 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;14:613–20.
19. 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;12:1–5.
20. 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;63:493–9.
21. Morii 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;25:439–44.
22. 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;34:1023–8.
23. Kim MJ, Tam FW. Urinary monocyte chemoattractant protein-1 in renal disease. Clin Chim Acta. 2011;412:2022–30.
24. Meng XM, Chung AC, Lan HY. Role of the TGF-β/BMP-7/Smad pathways in renaldiseases. Clin Sci (Lond). 2013;124:243–54.
25. Ju W, Nair V, Smith S, Zhu L, Shedden K, Song PX, et al., 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. 2015;7:316ra193.
26. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, et al., CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). A new equation to estimate glomerular filtration rate. Ann Intern Med. 2009;150:604–12.
27. Cockroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. Nephron. 1976;16:31–41.
28. 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. 1998;44:950–6.
29. Roberts IS, Cook HT, Troyanov S, Alpers CE, Amore A, Barratt J, et al. 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. 2009;76:546–56.
30. Hosmer DW, Lemeshow S. Confidence interval estimates of an index of quality performance based on logistic regression models. Stat Med. 1995;106:565–70.
31. 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;17:2145–52.
32. 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;21:53–63.
33. 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. 1989;84:1757–61.
34. 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. 2015;19:463–73.