

UNIVERSIDAD JAIME I
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
Servicio de Anatomía Patológica

VASCULITIS ASOCIADA A ANCA CON AFECTACIÓN
RENAL: CAMBIOS HISTOLÓGICOS Y SU VALOR
PRONÓSTICO



TRABAJO FINAL DE GRADO 2017/2018

Autora

Lara Foresi Crowther

Tutora

Esther Roselló Sastre

ÍNDICE

- Lista de abreviaturas.....pág.3
- Resumen.....pág.4
- Extended summary.....pág.6
- Introducción.....pág.8
- Objetivos.....pág.12
- Material y métodos.....pág.13
- Resultados.....pág.16
- Discusión.....pág.23
- Conclusiones.....pág.26
- Bibliografía.....pág.27
- Anexo.....pág.28

LISTA DE ABREVIATURAS

ANCA: Anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos

ANOVA: Análisis de la varianza

CANCA: Patrón citoplasmático

CD20: Cúmulo de diferenciación 20

C3: Complemento 3

C4: Complemento 4

EGPA: Granulomatosis eosinofílica con poliangeítis

ELISA: Ensayo por inmunoadsorción ligado a enzimas

ERC: Enfermedad renal crónica

ERT: Enfermedad renal terminal

GN: Glomerulonefritis

GPA: Granulomatosis conpoliangeítis

HD: Hemodiálisis

HGUC: Hospital general universitario de Castellón

IRT: Insuficiencia renal terminal

IVIG: Inmunoglobulina intravenosa

MPA: Poliangeítis microscópica

MPO: Mieloperoxidasa

PANCA: Patrón perinuclear

PAS: Ácido peryódico de Schiff

PF: Plasmaféresis

PR3: Proteinasa 3

TFG: Trabajo fin de grado

VAA: Vasculitis asociadas a anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos

VLR: Vasculitis limitada al riñón

RESUMEN

Introducción: La vasculitis sistémica es un proceso clínico-patológico caracterizado por la inflamación y necrosis vascular. El objetivo de este estudio es analizar que parámetros histológicos renales están implicados en una mayor afectación de la función renal. *Material y métodos:* Se realizó un análisis retrospectivo de pacientes diagnosticados de vasculitis sistémica entre 2011 y 2016. Se seleccionaron 23 pacientes con un diagnóstico histológico concordante con vasculitis ANCA+. *Resultados:* De los datos generales que se obtuvieron: la edad media debut fue 64 ± 13 años. Los signos y síntomas más frecuentes fueron: hematuria y proteinuria; síndrome constitucional, artromialgia y clínica pulmonar, respectivamente. En cuanto al análisis ANCA por IF hubo mayor prevalencia en los PANCA. Los resultados histológicos se clasificaron según el proceso de Berden: Focal (15.4%), crescéntica (26.1%), mixta (34.8%) y esclerótica (30.4%). Los subgrupos crescéntico y esclerótica, presentaron mayor deterioro de la función renal tanto al inicio del diagnóstico, como durante el seguimiento; con mayor tendencia a requerir hemodiálisis. El exitus se relacionó con subgrupos mixta y crescéntica. *Discusión:* el porcentaje de glomérulos sanos es el mejor predictor de la función renal. El sistema de clasificación de Berden explica la relación con el pronóstico evolutivo de la enfermedad.

Palabras clave: Anticuerpo anti-citoplasma de neutrófilo (ANCA), vasculitis sistémica, afectación histopatológica renal, Berden, pronóstico, hemodiálisis

ABSTRACT

Introduction: Systemic vasculitis is a clinical-pathological process characterized by inflammation and vascular necrosis. The objective of this study is to analyze which renal histological parameters are involved in a greater affectation of renal function. *Material and methods:* A retrospective analysis of patients diagnosed with systemic vasculitis between 2011 and 2016 was carried out. Twenty-three patients with a histological diagnosis concordant with ANCA + vasculitis was selected. *Results:* Of the general data that were obtained: the average age of debut was 64 ± 13 years. The most frequent signs and symptoms were: hematuria and proteinuria; constitutional syndrome, arthromyalgia and pulmonary clinic, respectively. Regarding the ANCA analysis by SI, there was a higher prevalence in the PANCA. The histological results were classified according to the Berden process: Focal (15.4%), crescentic (26.1%), mixed (34.8%) and sclerotic (30.4%). The crescentic and sclerotic subgroups, showed major deterioration of renal function both at the beginning of the diagnosis and during

follow-up; more likely to require hemodialysis. The death was related to the mixed and crescentic subgroups. *Discussion:* the percentage of healthy glomeruli is the best predictor of renal function. Berden's classification system explains the relationship with the evolutionary prognosis of the disease.

Key words: Anti-neutrophil cytoplasmic antibody (ANCA), systemic vasculitis, renal histopathological involvement, Berden, prognosis, hemodialysis

EXTENDED SUMMARY

Vasculitis of small vessels associated with antineutrophil cytoplasmic antibodies is an uncommon clinical-pathological process, characterized by the infiltration of inflammatory cells and necrosis of the walls of blood vessels. With a very varied and non-specific clinical presentation; from mild manifestations to serious involvement of vital organs. It is unknown what are the factor that initiate vasculitis associated with ANCA.

For its diagnosis, classically was measured by indirect immunofluorescence, two patterns were recognized: cytoplasmic (c ANCA) and perinuclear (p ANCA). Currently measured by ELISA. The main target antigen for cANCA is serine PR3, and dor pANCA it is MPO.

Given the repercussion of renal involvement in ANCA+ vasculitis, we present the objective of this study to analyze which histological criteria were involved in a greater impairment of renal function and to assess the usefulness of the Berden classification as a tool for prognosis at the time of diagnosis.

Histologically, it may present a varied morphology, but it is the most frequent cause of extracapillary glomerulonephritis. It is characterized by a pauciimmune pattern (absence of immune deposits in the immunofluorescence).

A retrospective study was carried out, selecting the patients followed in the neprology service for a systemic vasculitis according to Chapel Hill, in the 2011-2016 period. Of the total, those 23 patients who had a biopsy were selected, with a diagnosis consistent with their vasculitis.

Once the sample was defined, they were reviewed by optical microscopy and immunofluorescence, studying the following histological data: healthy glomeruli, presence of crescents, presence of sclerosis, presence of both glomerular and vascular fibrinoid necrosis, degree of tubular atrophy, arteriosclerosis, deposits of C3 and Subsequently, they were classified according to the Berden process.

For the statistical study of the qualitative and quantitative variables, we use the SPSS * program.

From the general data that was obtained: the average age of debut was 64 ± 13 years. The most frequent signs were: hematuria and proteinuria and in terms of symptoms: constitutional syndrome, arthromyalgia and pulmonary symptoms.

Regarding the ANCA analysis by IF, there was a higher prevalence in the pANCA. The follow-up time from the biopsy to the present time was an average of 39 (ranging from 19-74 months).

The histological results were classified according to the Berden process obtaining the following distribution: Focal (15.4%), crescentic (26.1%), mixed (34.8%) and sclerotic (30.4%).

The crescentic and sclerotic subgroups showed greater deterioration of renal function both at the beginning of the diagnosis and during follow-up; with greater tendency to require hemodialysis and also presented a pattern of moderate-severe tubulo-interstitial nephritis. The exitus was related to mixed and crescentic subgroups, highlighting a case in the focal category.

These data ultimately show that there is a correlation between the greater proportion of healthy glomeruli and an important improvement of renal function, in contrast to those with sclerotic glomeruli, related to renal failure. There is a wide degree of variability in the histological characteristics that are considered to be of great prognostic relevance. The idea of active lesions with recovery potential, such as interstitial inflammation, was confirmed. The Berden classification system is the variable that best explained the relationship with the evolutionary prognosis of the disease.

The presence of C3 deposits can be considered as a tracking technique to obtain more accurate forecasts.

It is concluded that the best predictor of renal function is the percentage of normal glomeruli at the time of diagnosis. And the prognostic importance of the Berden classification present at the time of diagnosis.

INTRODUCCIÓN

La vasculitis asociada a anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA) es un proceso clínico-patológico poco común caracterizado por la infiltración de células inflamatorias y la necrosis de las paredes de los vasos sanguíneos de diferentes órganos¹. Su presentación clínica es muy variada, desde manifestaciones leves en piel, articulaciones o sistema nervioso periférico hasta el compromiso grave de órganos vitales². La incidencia anual es de 16 a 20 casos por millón de habitantes, más frecuentes en USA y Europa³.

En el año 2012 se publicaron los resultados del consenso de Chapel Hill (CHCC), en donde la etiología, características clínicas, patológicas y patogénicas son las bases de la nueva nomenclatura de las vasculitis, con reconocimiento en esta clasificación del potencial valor del ANCA y de las vasculitis asociadas a ANCA (VAA)⁵. Así, se reconocen varias entidades: granulomatosis con poliangeítis, poliangeítis microscópica, vasculitis limitada al riñón y granulomatosis eosinofílica con poliangeítis como se observa en la siguiente tabla 1.

Tabla 1: Definiciones de VAA según CHCC 2012*.

GPA (Granulomatosis con poliangeítis, previamente enfermedad de Wegener).	Vasculitis necrotizante de pequeños vasos, es decir, capilares, vénulas o arteriolas. Inflamación granulomatosa necrotizante de vías aéreas superior e inferior. La glomerulonefritis necrotizante crescéntica pauciinmune es común.
MPA (Poliangeítis microscópica)	Vasculitis necrotizante que afecta predominantemente a los pequeños vasos. La glomerulonefritis necrotizante pauciinmune es muy frecuente, también la capilaritis pulmonar. Ausencia de inflamación granulomatosa.
VLR (Vasculitis limitada al riñón)	Forma de MPA localizada. Glomerulonefritis necrotizante, asociadas a ANCA: 90% se presentan con semilunas
EGPA (Granulomatosis eosinofílica con poliangeítis, previamente Síndrome de Churg-Strauss)	Inflamación granulomatosa necrotizante rica en eosinófilos del tracto respiratorio, vasculitis necrotizante de vasos pequeños. Está asociada con el asma y la eosinofilia.

Adaptado de 2012 Revised International Chapel Hill Consensus Conference Nomenclature of vasculitides⁵

Se desconoce cuales son los factores que inician las VAA; se han implicado factores genéticos, infecciosos y/o ambientales. Sin embargo, se acepta que el sistema inmune participa en su patogenia, y que el daño tisular se produce como resultado de un proceso inflamatorio que se manifiesta por la infiltración de polimorfonucleares, y linfocitos en las paredes de los vasos sanguíneos y mediante la síntesis de autoanticuerpos (ANCA) dirigidos frente a antígenos presentes en los polimorfonucleares¹.

Para su diagnóstico, clásicamente se reconocían dos patrones principales de tinción usando inmunofluorescencia indirecta: citoplásmica (cANCA), una tinción granular gruesa del citoplasma y perinuclear (pANCA), con tinción principalmente alrededor del núcleo, dejando el citoplasma sin teñir⁴. Actualmente, se puede medir mediante ELISA, el principal antígeno diana para cANCA que es la serina PR3, localizada en gránulos azurófilos, y para pANCA es MPO, una enzima de gránulos azurófilos que cataliza la peroxidación de cloruro a hipoclorito. Los anticuerpos anti-PR3 son altamente específicos para GPA. Los anticuerpos MPO se encuentran más típicamente en MPA y EGPA, pero son mucho menos específicos. El nivel de ANCA a menudo se correlaciona con la actividad de la enfermedad, y hay evidencia creciente para apoyar su papel en la patogénesis³.

La afectación renal es la manifestación más severa, presente en más del 50% de los casos en el momento del diagnóstico. Histológicamente puede presentar una morfología variada, con o sin semilunas, pero es la causa más frecuente de glomerulonefritis extracapilar. Sea cual sea su histología, se caracteriza por la ausencia de depósitos inmunes en la inmunofluorescencia (patrón pauciinmune)¹.

Según la clasificación histológica descrita por Berden, se compone de cuatro categorías: la categoría FOCAL, en la que más del 50% de los glomérulos aún no están afectados por la enfermedad; la CRESCÉNTICA (semilunas), en la que más del 50% de glomérulos presentan semilunas celulares; la categoría MIXTA, con una combinación de glomérulos normales, glomérulos con semilunas y escleróticos, todos ocurriendo en <50% de los glomérulos y la categoría ESCLERÓTICA, cuando existen al menos un 50% de los glomérulos esclerosados^{3,4}.

Esta clasificación es de ayuda para determinar un pronóstico al momento del diagnóstico. Los pacientes con glomerulonefritis focal presentan una función renal relativamente conservada y una evolución renal relativamente favorable. Los pacientes

con glomerulonefritis crescéntica se presentan con una nefropatía muy activa y función renal gravemente reducida, pero tienen una buena probabilidad de recuperación de la función renal. Los pacientes con un fenotipo mixto tienen un perfil de resultado intermedio. Los pacientes con glomerulonefritis esclerótica, en el momento de la biopsia, corren el mayor riesgo de no recuperar la función renal, así como un mayor riesgo de muerte dentro del primer año después del diagnóstico⁵.

Hace unos años atrás el papel del complemento era mínimo. Actualmente, basándose en los recientes modelos experimentales, se postula que la activación de la vía alternativa del complemento podría contribuir a la patogenia de esta enfermedad⁶.

El tratamiento de las VAA está en estricta relación con el momento evolutivo y con la gravedad de la enfermedad y ha ido variando con el tiempo. Consiste en las siguientes fases:

- Fase de inducción, basada en:
 - Corticoides + Ciclofosfamida (droga alquilante citotóxica), que es la pauta clásica.
 - Corticoides + Rituximab (un anticuerpo monoclonal contra el CD20 linfocitario), que es la pauta más moderna o la que se utiliza para aquellos que presentan recaídas.

- Fase de mantenimiento, la cual consiste en:
 - Azatioprina, derivado imidazólico con efecto inmunosupresor,
 - Micofenolato, agente inmunosupresor en desuso por el alto número de recaídas.
 - Rituximab, muy eficaz para los refractarios¹².

Ante la presencia de VAA graves, con compromiso de órganos vitales se utilizan otras intervenciones terapéuticas en etapas tempranas a fin de alcanzar un control precoz de la enfermedad, como es la plasmaféresis (PF) o intercambio de plasma, que consiste en la remoción de macromoléculas patógenas (en este caso,

eliminación de anticuerpos ANCA), permitiendo a su vez la adición de inmunoglobulinas IVIG².

A todo esto, hemos de añadir las medidas de sostén, como hemodiálisis, que son necesarias muchas veces en los pacientes que tienen grave afectación renal. Por tanto, el manejo de las vasculitis con afectación renal predominante requiere un diagnóstico rápido de la enfermedad y la pronta instauración de un tratamiento inmunosupresor dirigido a controlar la enfermedad evitando la alta frecuencia de complicaciones sépticas y mejorar el pronóstico⁷.

OBJETIVOS

- Objetivo general:
 - Analizar qué criterios histológicos están implicados en una mayor afectación de la función renal, y por tanto peor pronóstico.

- Objetivos específicos:
 - Determinar cuál es el mejor predictor de la función renal.

 - Establecer qué otras lesiones asociadas están implicadas en la respuesta al tratamiento.

 - Valorar la utilidad de la clasificación de Berden como herramienta para el pronóstico al momento del diagnóstico.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un estudio retrospectivo de los pacientes seguidos en el Servicio de Nefrología del Hospital General Universitario de Castellón (HGUC) por una vasculitis sistémica según los criterios de Chapel Hill en el periodo 2011-2016, encontrándose 24 pacientes. De todos ellos, se seleccionaron 23 pacientes que tenían biopsia renal en el Servicio de Anatomía Patológica del HGUC, con un diagnóstico histológico concordante con su Vasculitis.

Una vez la muestra quedó definida, se procedió a revisar las biopsias renales de los pacientes. Todas estas muestras histológicas fueron estudiadas mediante Microscopía Óptica e Inmunofluorescencia. Las biopsias diagnósticas se realizaron en el Servicio de Radiología, extrayendo 2 o 3 cilindros renales (Biopsia con aguja gruesa de 18 G), guiados por ecografía, que fueron remitidos en fresco al Servicio de Anatomía, para poder confirmar la presencia o no de glomérulos en la muestra. Uno de los cilindros se procesó para morfología sobre material parafinado y el segundo para Inmunofluorescencia sobre corte congelado, remitiéndose material para estudio ultraestructural cuando fue posible. El cilindro para morfología se fijó en formol tamponado y se incluyó en parafina, realizándose posteriormente técnicas de Hematoxilina-Eosina, Plata Metenamina, ácido peryódico de Schiff (PAS) y Tricómico de Masson. En algunos cilindros se estudió también la actividad del complemento mediante técnicas inmunohistoquímicas para C4d, C3d y C5b-9. El cilindro de congelación se cortó al criostato y se efectuaron técnicas de Inmunofluorescencia para IgA, IgG, IgM, C3, C1q y cadenas ligeras Kappa y Lambda.

De cada biopsia se estudiaron y evaluaron las siguientes variables histológicas (ver imagen 1 en Anexos):

- Número total de glomérulos.
- % glomérulos normales.
- % con semilunas (formación variable de células epiteliales, monocitos, polimorfonucleares y fibrina).
- % focalmente esclerosado.
- % totalmente esclerosado (retracción y colapso del glomérulo rodeado de tejido fibrótico).
- Necrosis fibrinoide (complejos de antígenos y anticuerpos depositados dentro de las paredes arteriales junto con fibrina) vascular y glomerular:

- SI/NO.
- Grado de infiltrado inflamatorio intersticial/atrofia tubular:
 - (leve-moderado-severo).
- Vasculitis (infiltrado de la pared vascular por polimorfonucleares):
 - SI/NO.
- Vasos arterioescleróticos:
 - SI/NO.
- Hematíes intratubulares:
 - SI/NO.
- Depósitos C3 u otros:
 - SI/NO.
- Los casos se agruparon siguiendo los criterios de Berden en:
 - Focal.
 - Crescéntico.
 - Mixto.
 - Esclerótico.

Posteriormente se cotejó los pacientes de las biopsias seleccionadas, con sus historias clínicas respectivas en el servicio de nefrología. Seleccionando la siguiente información:

- Características generales:
 - Edad, sexo y tabaquismo (fumador activo, no fumador, exfumador).
- Síntomas y signos más frecuentes:
 - Edema.
 - Disnea.
 - Artromialgia (dolor a nivel muscular y articular de carácter inespecífico).
 - Fiebre.
 - Vómito o diarrea.
 - Clínica pulmonar.
 - Proteinuria.
 - Hematuria (> 10 hematíes/campo).
 - Glucosuria a mediante análisis sedimento urinario.

- Datos de laboratorio:
 - Creatinina sérica al ingreso (residuo de la masa muscular que permite conocer el funcionamiento renal, patológico > 1,3 mg/dl en mujeres y >1,5 en varones).
 - Creatinina máxima y la última creatinina registrada medida en mg/dl.
 - Títulos ANCA, determinados mediante inmunofluorescencia indirecta (patrón citoplasmático o perinuclear).

- Tiempo desde el inicio de los síntomas hasta diagnóstico clasificado en meses:
 - < 1 mes.
 - De 1 a 3 meses.
 - De 3 a 6 meses.
 - > 6 meses.

- Aquellos pacientes que necesitaron hemodiálisis.

Para el estudio estadístico, se hizo un estudio descriptivo de las variables cuantitativas (media \pm desviación estándar) y cualitativas (distribución de frecuencia). Con la prueba Chi Cuadrado se analizó la relación entre las variables categóricas, y para estudiar la asociación entre una variable cuantitativa y más de dos cualitativas, fue mediante la prueba ANOVA. Se consideró significativo un valor de $p < 0,05$. Para ello, nos ayudamos del programa SPSS*.

RESULTADOS

Descripción de datos clínicos

Se recogieron los datos de un total de 23 pacientes: 13 (56.5%) varones y 10 (43.5%) mujeres. La edad media \pm desviación estándar fue de 64.09 ± 12.83 años. Un 12.5% de ellos eran fumadores, un 25.0% no lo eran, y un 37.5% eran exfumadores.

De los 23 pacientes, un 82.6% fueron diagnosticados como vasculitis tipo poliangeítis microscópica, y el resto como granulomatosis con poliangeítis (ver Figura 1 en Anexos). En cuanto a la estimación de títulos, 22 pacientes presentaban títulos ANCA positivos, y solo uno de ellos negativo.

En un 17,4% de los casos, el tiempo de la aparición de los síntomas hasta su diagnóstico fue de menos de un mes, en un 26.1%, entre un mes y tres meses, en un 13.0% entre tres y seis meses, y en un 43.3% más de seis meses.

Los síntomas y signos renales más frecuentes fueron los siguientes: el 100% de los pacientes presentaron un sedimento urinario anómalo (100% hematuria y 70,8% proteinuria) (ver Figura 2 en Anexos); un 54,2% presentó síndrome constitucional, un 25,0% artromialgia, un 20,8% experimentó clínica pulmonar y un 4,2% clínica gastrointestinal (vómito y/o diarrea).

En cuanto a los datos de laboratorio de la creatinina:

- La creatinina media del grupo al diagnóstico fue de 3.11 ± 1.86 mg/dl, con una mínima de 0.9 mg/dl y la máxima 7 mg/dl.
- La creatinina media del grupo al seguimiento (última determinación de cada paciente) fue de $2,41 \pm 2.19$ mg/dl, oscilando entre 0.63-8.99 mg/dl.
- El pico de creatinina durante la enfermedad osciló entre 1-9.78 mg/dl, siendo la media 4.44 ± 2.86 mg/dl.

El tiempo de seguimiento, desde que se realizó la biopsia hasta la actualidad fue de una media 39 ± 14 meses, oscilando entre 19 -74 meses.

Del total de la muestra: durante el tiempo de seguimiento 6 pacientes (26.1%) llegaron a insuficiencia renal terminal sometiéndose a hemodiálisis. Y 5 pacientes (21.7%) fallecieron por el proceso de la enfermedad (2 de ellos estaban en HD): un

paciente por edema agudo de pulmón, otro por infección y tres pacientes por otras causas de etiología no conocida.

Tabla 2: Características clínicas de los pacientes.

N		23
Sexo (M:F)		13 (56.5%):10 (43.5%)
Edad (años)		64.1 ±12.8 (rango 39-84 años)
Tipo de Anca (PAM:GPA)		19 (82.6%):3 (GPA)
Manifestaciones		
Extrarenales		
	Clínica pulmonar	5 (20.8%)
	Artromialgia	6 (25%)
	Sdr. constitucional	14(54.2%)
Cr. Inicial		3.11±1.86mg/dl (rango 0.9-7mg/dl)
Cr. Final		2.41±2.19mg/dl (rango 0.63-8.9mg/dl)
Hematuria		23 (100%)
Proteinuria		16 (70.8%)
Tiempo		39 ±14 (rango 19-74 meses)
Seguimiento(meses)		

Descripción de datos Histológicos

Los hallazgos histológicos de las biopsias renales de los 23 pacientes aportaron los siguientes resultados: el rango de glomérulos total obtenidos en las 23 biopsias fue de un mínimo de 5 glomérulos y un máximo de 30 encontrando una media de 14,26 glomérulos.

En general, los cilindros mostraron un patrón mixto de glomérulos sanos (media de 4.35± 4.91), glomérulos con semilunas (4.22± 2.83) y glomérulos esclerosados (4.39 ± 3.16).

En conjunto, aplicando la clasificación de Berden obtuvimos la siguiente distribución:

- Categoría **FOCAL** en 2 pacientes (15.4%): el 92,5% de los glomérulos eran sanos, y el 7,5 % presentaban semilunas (Figura 3).
- Categoría **CRESCÉNTICA** en 6 pacientes (26,1%): un 12,6% glomérulos eran sanos, un 62,5% presentaban semilunas, y un 26.2% esclerosis (Figura 4) .
- Categoría **MIXTA** con 8 pacientes (34.8%): mostraron glomérulos sanos en un 34,7%, con semilunas en un 22.6%, y un 42,5% presentaron esclerosis (Figura 5).
- Categoría **ESCLERÓTICA** en 8 pacientes (30,4%): mostraron un 13,1% glomérulos sanos, un 14,9% semilunas, y un 72% esclerosis (Figura 6).

El 26.1% de los pacientes presentaron un infiltrado inflamatorio crónico intersticial, valorado como nefritis intersticial leve, un 56.5% infiltrado inflamatorio moderado y un 17.4% severo. Los subgrupos crescéntico y esclerótico mostraron un mayor daño túbulo-intersticial.

Del total de la muestra, 3 de los pacientes mostraron necrosis fibrinoide (13%), cada uno estaba presente en la categoría mixta (12.5%), crescéntica (16.7%) y esclerótica. (14.3%).

Un 52.2% de los pacientes presentaron vasos arterioescleróticos, un 56.5% necrosis fibrinoide del glomérulo y tan sólo un 13% vasculitis necrotizante. Ninguno de los casos presentó microangiopatía trombótica.

En cuanto a los depósitos inmunes, ninguno de los casos presentó depósitos de inmunoglobulinas, pero en el 47.8% de los casos si tenían depósitos de C3. Los depósitos de C3 se encontraron en mayor frecuencia en la categoría crescéntica (67%) y mixta (50%), sin identificarse en la focal.

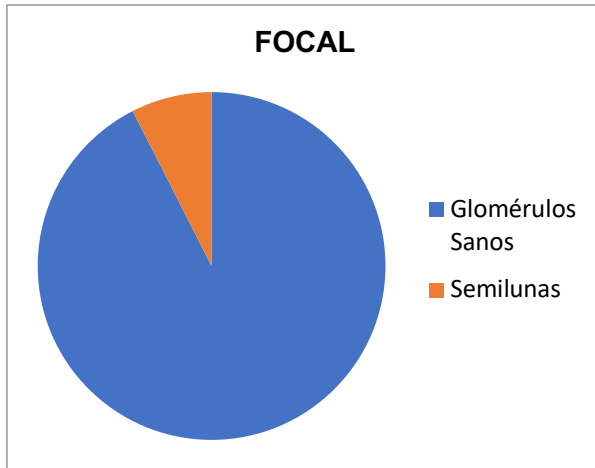


Figura 3: Distribución glomérulos en la categoría Focal de Berden.

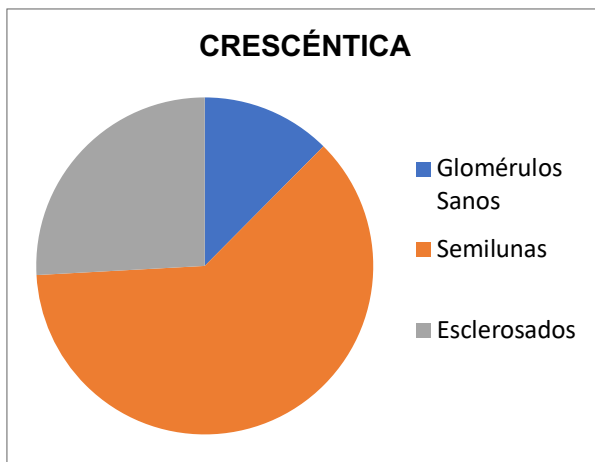


Figura 4: Distribución glomérulos según la categoría crescéntica.

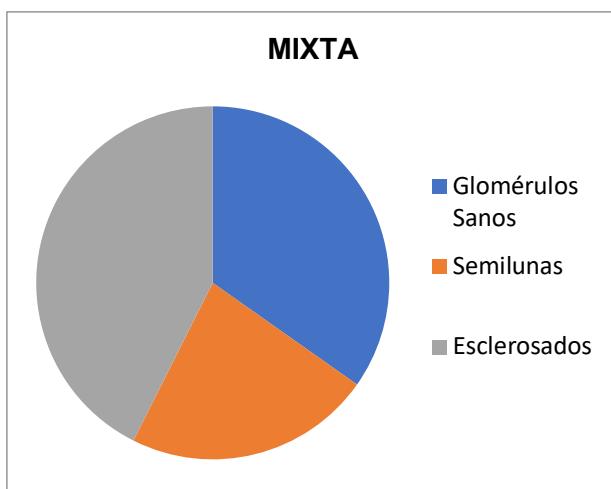


Figura 5: Distribución glomérulos según categoría mixta.

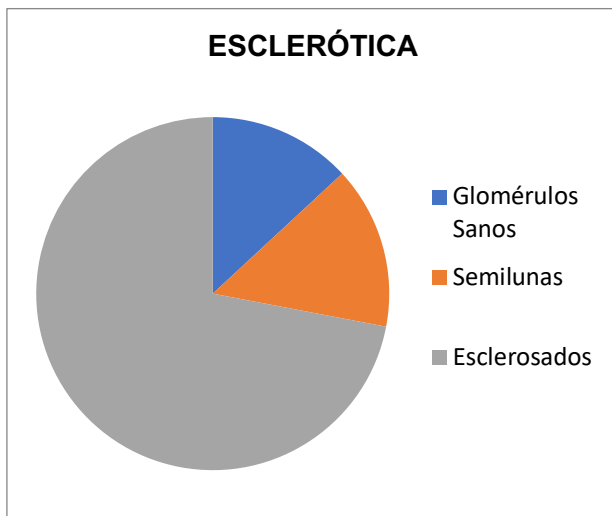


Figura 6: Distribución glomérulos según categoría esclerótica.

Al relacionar los datos clínicos con los histológicos, encontramos los siguientes datos:

- Relación con la edad: La edad media de debut de la enfermedad fue similar en las cuatro categorías de Berden (64 ± 13 años).
- Relación con el sexo: Se observó que las categorías focal, mixta y esclerótica de Berden afectaban de igual manera tanto a varones como a mujeres: de los 2 pacientes situados dentro de la categoría focal, uno era hombre y otra mujer; en la mixta: 4 de los pacientes eran hombres y 4 mujeres; en la esclerótica: 3 eran varones (42.9%) y 4 mujeres (57.1%). En cambio, destacó una mayor frecuencia de varones en la categoría crescéntica del 83.3% frente a un 16.7% de mujeres.
- Relación con el tabaquismo: No se encontró relación entre las diferentes categorías de Berden con el tabaco. Tampoco de la presencia de necrosis fibrinoide con Tabaquismo.
- Relación con Insuficiencia renal terminal: De los 6 pacientes que requirieron diálisis por enfermedad renal terminal, el 43% estaba en la categoría de Esclerótica y el 33% en la categoría de Crescéntica; todos mostraron en su biopsia un patrón de nefritis túbulo-intersticial moderada-severa.

- Relación con afectación pulmonar: Del mismo modo respecto a la clínica pulmonar, de los 5 casos que presentaron cuadro pulmonar se encontró una mayor prevalencia en los subtipos crescéntico (40%) y esclerótico (40%). También (80%) presentaron una infiltración inflamatoria moderada en el intersticio tubular.
- Relación con exitus: En el transcurso de la enfermedad, 5 de los pacientes (21.7%) fallecieron por causas relacionadas con su proceso. De ellos, la mayoría estaban en el grupo de Mixta (40%) o Crescéntica (40%). Hubo también un exitus en el grupo de Focal y ninguno en el grupo de Esclerótica. Estos casos presentaron un patrón moderado-severo de inflamación túbulo-intersticial (80%).
- Relación con Creatinina sérica:
 - Nivel de Creatinina al ingreso:
 - Según la clasificación de Berden: en la categoría focal, la creatinina media al ingreso fue de 1.95 ± 1.13 mg/dl conservando la función renal; en la mixta se hizo notable un aumento: 2.35 ± 1.62 mg/dl, hasta 3.38 ± 1.63 mg/dl en la crescéntica y en la esclerótica, niveles máximos, con una creatinina de 4.08 ± 1.76 mg/dl.
 - Según el infiltrado túbulo-intersticial: Ante una nefritis leve la creatinina fue $2,61 \pm 1,27$ mg/dl, aumentando con una nefritis moderada a una creatinina media $3.28 \pm 2,11$ mg/dl y de igual manera con una infiltración severa, obteniendo una creatinina de $3.31 \pm 2,11$ mg/dl.
 - Pico máximo de Creatinina: De igual manera, observando la creatinina máxima registrada durante la evolución de la enfermedad, en la categoría focal llegó hasta 3.17 ± 0.83 mg/dl, en la mixta $2,35 \pm 1.24$ mg/dl, alcanzando la crescéntica y la esclerótica cifras similares (5.4 ± 3.58 mg/dl y 5.6 ± 2.90 mg/dl).
 - Última determinación de Creatinina:

- Aquellas categorías focal y mixta presentaban como la última registrada una creatinina de 1.1 mg/dl y 1.6mg/dl (cerca a la normalidad); la crescética (media de 2.77mg/dl) y la esclerótica (media de 3.15 mg/dl) quedaron en niveles muy elevados.
- Relación demora diagnóstica con Berden: Aquellos 3 pacientes que les llevaron menos de un mes en diagnosticar la vasculitis, presentaron la categoría crescética (50%); entre 1 y 3 meses: fue prevalente en la categoría esclerótica en 3 pacientes (42,9%). El mayor número de casos tuvieron un tiempo de diagnóstico mayor de 6 meses, destacando 5 pacientes en la categoría mixta (71.4%), seguida de 2 en la focal y 2 en la esclerótica (100% y 28.6%). Por tanto, no se observó una asociación entre grupo Berden y tiempo de diagnóstico.

Pese a la relevancia de estos resultados, ninguna de estas correlaciones es significativa ($p > 0.05$), encontrando como una posible explicación el pequeño tamaño de la muestra ($n=23$).

DISCUSIÓN

En este estudio, analizamos factores histológicos para determinar predictores de cambios de la función y supervivencia renal en pacientes diagnosticados de vasculitis ANCA+. Nuestros resultados demuestran que el esquema de clasificación de Berden proporcionó información como predictor del cambio en la función renal; con la proporción de glomérulos que contienen semilunas y esclerosis. Aquellos que presentaron nefritis túbulo-intersticial mejoraron la función renal al progreso de la enfermedad, demostrando la reversibilidad del daño. También se observó mayores depósitos de C3 en la categoría crescéntica y mixta, destacando la ausencia en la focal.

Recientes estudios analizaron pacientes con glomerulonefritis asociados a ANCA para determinar la asociación entre la histología y los resultados clínicos, destacando entre ellos el de Ellis et al [9] donde examinaron una cohorte estadounidense de 76 pacientes con glomerulonefritis ANCA y encontraron, en la misma línea que nuestros resultados, que las biopsias categorizadas como focales se asociaron con la mayor función renal conservada, mientras que las biopsias escleróticas se asociaron con una importante pérdida de la función renal y peor mejoría, llegando a enfermedad ERC, o ERT, requiriendo estos últimos pacientes: hemodiálisis. De forma similar al estudio de Nohr et al [4], observaron la asociación de los pacientes con histología de semilunas y esclerótica con un empeoramiento de la función renal. Por otro lado, encontramos un estudio (Chang et al [7]) realizado con una cohorte china de 121 pacientes donde al igual que estudios nombrados previamente, se encontró el mejor pronóstico renal asociado con biopsias en categorías focales y el peor en categorías escleróticas. Sin embargo, en la misma línea que nuestros resultados, es destacable un peor pronóstico en pacientes categorizados como crescéntico, que en aquellos clasificados como mixto.

La asociación de la histología de semilunas con tasas más altas de recuperación renal en algunos estudios podría deberse a la posibilidad de que estas "lesiones activas" puedan ser curadas con el tiempo, en contraste con los glomérulos escleróticos. La distinción entre lesiones activas y crónicas y la importancia de estas diferencias en el resultado clínico han sido sugeridas por muchos autores, como Neumann et al [2]). Esta afirmación es cuestionada por los estudios chinos y

japoneses que demostraron, del mismo modo que en nuestro estudio, mejores resultados en aquellas biopsias clasificadas como mixta que en la crescéntica [7,8]. Según lo observado por Togashi et al [7] este conflicto puede deberse a diferencias en los antecedentes genéticos y ambientales o en el comportamiento de la enfermedad entre las cohortes de Asia, Europa y América del Norte o diferentes regímenes de tratamiento utilizados en respuesta a diferentes subtipos histopatológicos en todos los estudios. Así mismo, la idea de lesiones activas con potencial de recuperación, también se confirma en nuestros hallazgos, así como de otras lesiones asociadas con inflamación activa (como la inflamación intersticial) que fueron un pronóstico de la función renal.

En nuestro análisis vimos que, al inicio, aquellos pacientes con nefritis intersticial moderada-severa tenían niveles de creatinina altos, mejorando sus niveles y, por tanto, la función renal con el tratamiento óptimo a lo largo del seguimiento.

Hay mucha heterogeneidad dentro de la clase mixta por la cantidad de lesiones crescénticas y escleróticas presentes y la cantidad de glomérulos normales que quedan. Esto puede contribuir a sus diferentes resultados en distintos estudios. Otros, han sugerido que la proporción de glomérulos normales es una característica pronostica útil en sí misma [11]. En nuestro análisis, encontramos que las proporciones de glomérulos con semilunas y escleróticas eran pronósticos del potencial de recuperación renal independiente de la clasificación.

En general, aunque todos los estudios hasta la fecha han respaldado que la histología focal se asocia con los mejores resultados y la esclerótica con la peor, no hay una respuesta clara acerca de cuál de las histologías de semilunas o mixto tiene un mejor pronóstico. Por tanto, concluimos que existe un amplio grado de variabilidad en las características histológicas que se considera de gran importancia pronostica en glomerulonefritis asociado ANCA+.

Por otro lado, en la patogénesis de esta enfermedad hay diversos factores etiológicos que no están aclarados. Años atrás, el papel del complemento era mínimo, ya que las vasculitis renales asociadas a ANCA se han caracterizado por el escaso depósito glomerular de factores de complemento y de inmunoglobulinas. En nuestro estudio encontramos que aquellos pacientes con presencia de depósitos de C3, pertenecían a la categoría crescéntica, mixta y esclerótica, siendo destacable la ausencia de estos depósitos en el subgrupo focal y por tanto una función renal

conservada. Dicho fenómeno va en la línea de un estudio retrospectivo que dice que los neutrófilos son una fuente de factores de complemento en zonas de daños glomerular, confirmando que aquellos pacientes con depósitos C3 tuvieron una creatinina al ingreso alta, precisaron diálisis en mayor proporción y se asociaron a un peor pronóstico de la función renal [6]. Consideramos la relevancia de plantear esta técnica como protocolo de seguimiento, con el fin de realizar unos pronósticos más exactos. Además, sería interesante de cara a futuras líneas de investigación analizar si el uso de uno de estos métodos proporcionaría un resultado más consistente entre los estudios.

Sin embargo, como limitaciones de este estudio habría que destacar la pequeña muestra, que puede explicar la nula significación de las correlaciones.

En resumen, este TFG apoya el uso del esquema de clasificación para determinar el pronóstico renal de pacientes con glomerulonefritis asociada a ANCA. Además, muestra la asociación entre la mayor proporción glomérulos sanos y la mejora en la función renal y la asociación entre los glomérulos escleróticos e insuficiencia renal. Estos hallazgos confirman la relevancia pronóstica del sistema de clasificación de Berden y respaldan la generalización de este esquema. Es necesario seguir esforzándose para identificar los predictores de los resultados renales de GN asociados a ANCA para ayudar a guiar el manejo clínico y la selección de pacientes para el uso de tratamientos inmunosupresores.

CONCLUSIONES

A partir del presente estudio, concluimos que el mejor predictor de la función renal es el porcentaje de glomérulos normales en la biopsia renal inicial. Las lesiones intersticiales crónicas pueden conllevar un mayor riesgo de no respuesta. Y la relevancia pronóstica del sistema de clasificación Berden presente en el momento del diagnóstico, puede ser una herramienta útil en la estratificación de riesgo.

Por tanto, el manejo de las vasculitis con afectación renal predominante requiere un diagnóstico rápido y la pronta instauración de un tratamiento inmunosupresor dirigido a controlar la enfermedad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Teresa Pin-Godos M, Hernández-Jaras J, Torregrosa-de-Juan E, Calvo-Gordo C, Pons-Prades R, García-Pérez H et al. Análisis retrospectivo de pacientes con vasculitis sistémica generalizada y severa: experiencia de un centro. *Diálisis y Trasplante*. 2009;30(2):42-45
2. Neumann I, Kain R, Regele H, Soleiman A, Kandutsch S, Meisl F. Histological and clinical predictors of early and late renal outcome in ANCA-associated vasculitis. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2004;20(1):96-104.
3. Watts R, Mooney J, Skinner J, Scott D, MacGregor A. The contrasting epidemiology of granulomatosis with polyangiitis (Wegener's) and microscopic polyangiitis. *Rheumatology*. 2012;51(5):926-931.
4. Nohr E, Girard L, James M, Benediktsson H. Validation of a histopathologic classification scheme for antineutrophil cytoplasmic antibody-associated glomerulonephritis. *Human Pathology*. 2014;45(7):1423-1429.
5. Bielsa I. Actualización en la nomenclatura de las vasculitis. Conferencia de Consenso Internacional de Chapel Hill, 2012. *Actas Dermo-Sifiliográficas*. 2015;106(8):605-608.
6. Sánchez-Agosta Martínez M, Rabasco Ruiz C, Sánchez Sánchez R, Ortega Salas R, López Andreu M, Aljama García P et al. El depósito de C3 en la glomerulonefritis extracapilar de tipo iii condiciona un mal pronóstico. *Nefrología*. 2017;38(2):213-219.
7. Chang D, Wu L, Liu G, Chen M, Kallenberg C, Zhao M. Re-evaluation of the histopathologic classification of ANCA-associated glomerulonephritis: a study of 121 patients in a single center. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2011;27(6):2343-2349.
8. Iwakiri T, Fujimoto S, Kitagawa K, Furuichi K, Yamahana J, Matsuura Y et al. Validation of a newly proposed histopathological classification in Japanese patients with anti-neutrophil cytoplasmic antibody-associated glomerulonephritis. *BMC Nephrology*. 2013;14(1):119-125.
9. Ellis C, Manno R, Havill J, Racusen L, Geetha D. Validation of the new classification of pauci-immune glomerulonephritis in a United States cohort and its correlation with renal outcome. *BMC Nephrology*. 2013;14(1):210-216.
10. Bajema I, Hagen E, Hermans J, Noël L, Waldherr R, Ferrario F et al. Kidney biopsy as a predictor for renal outcome in ANCA-associated necrotizing glomerulonephritis. *Kidney International*. 1999;56(5):1751-1758.
11. Hilhorst M, Wilde B, van Breda Vriesman P, van Paassen P, Cohen Tervaert J. Estimating Renal Survival Using the ANCA-Associated GN Classification. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2013;24(9):1371-1375.
12. Yates M, Watts RA, Bajema IM, et al EULAR/ERA-EDTA recommendations for the management of ANCA-associated vasculitis *Annals of the Rheumatic Diseases* 2016;75(2):1583-1594.

ANEXO

Imágenes

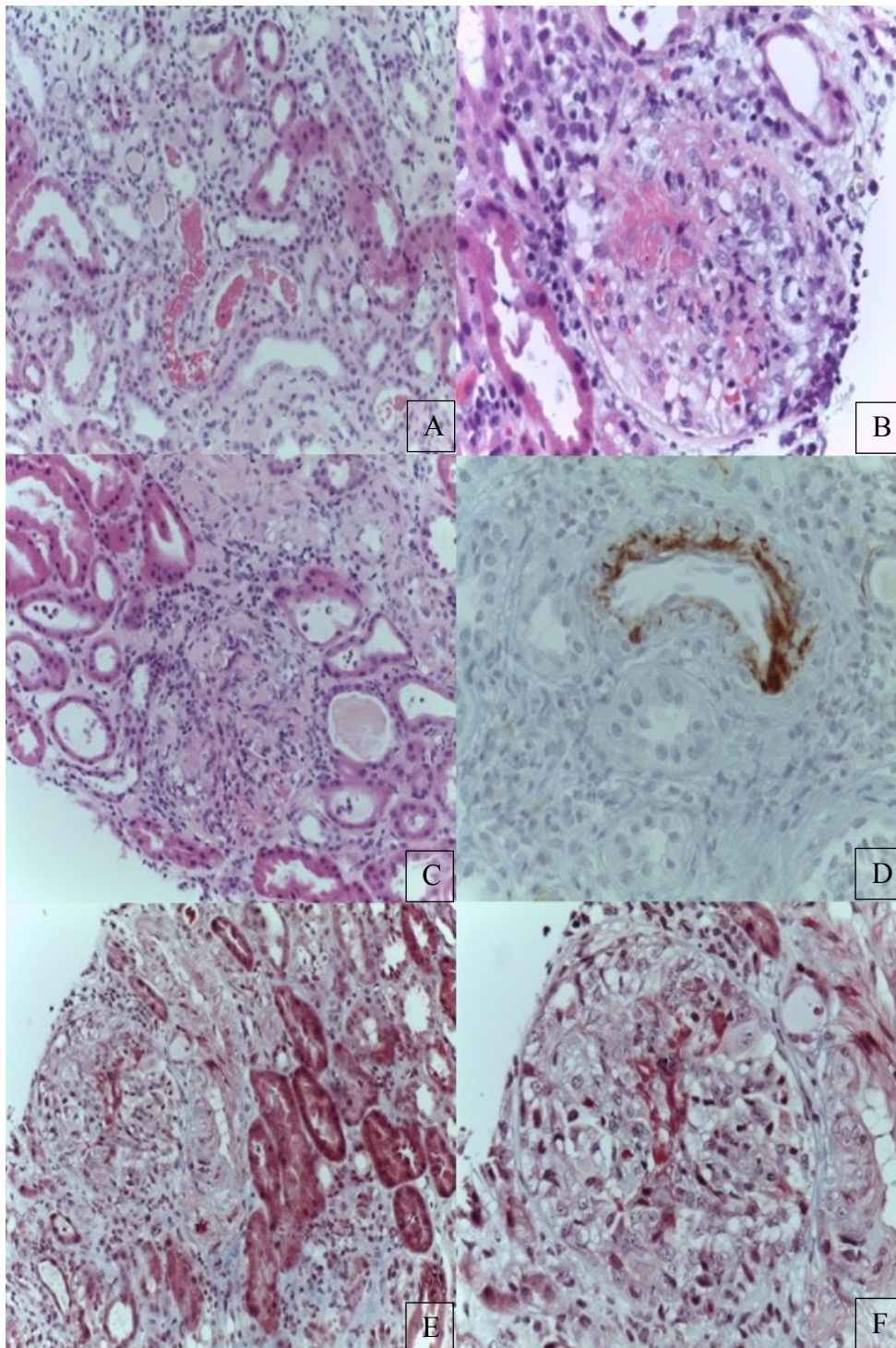


Imagen 1. A) Infiltrado inflamatorio intersticial, atrofia tubular y hematíes intratubulares (hematoxilina-eosina) B) Glomérulo con severo infiltrado inflamatorio intersticial y presencia de necrosis fibrinoide glomerular (hematoxilina-eosina) C) Glomérulo con formación de semiluna celular y atrofia tubular (hematoxilina-eosina) D) Inmunohistoquímica de C5b-9 (Complejo final de ataque de membrana), depositado en un vaso. E) Cambios vasculares de arteriosclerosis (tricromica de Masson) y F) Glomérulo con semiluna celular y necrosis fibrinoide (tricromico de Masson).

Figuras

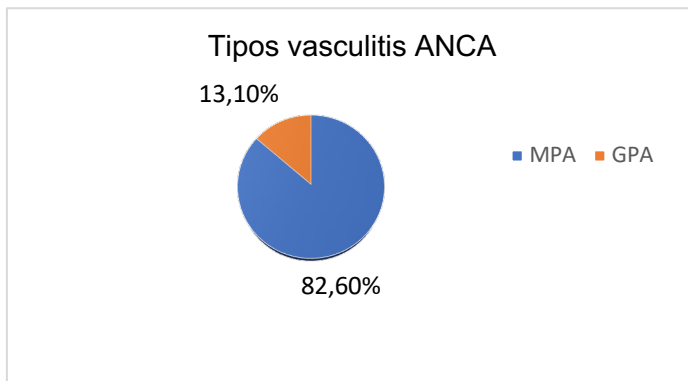


Figura 1: Distribución de la frecuencia según tipo de vasculitis ANCA (siguiendo Clasificación de Chapel-Hill).

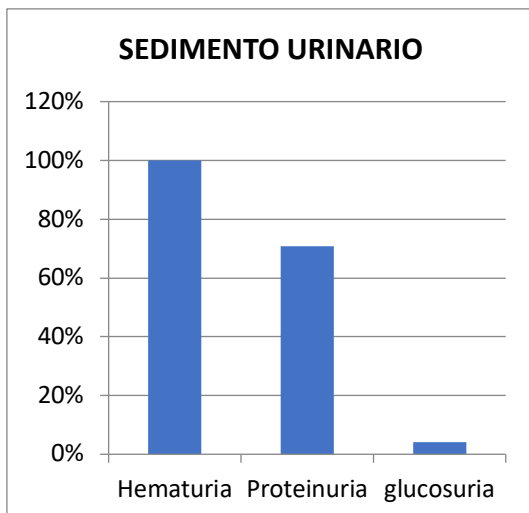


Figura 2: Distribución en la presencia de sedimento activo anómalo en orina.