

UNIVERSIDAD DE GRANADA  
FACULTAD DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE PEDIATRIA



TESIS DOCTORAL

**VALORACIÓN DE LAS INTERLEUCINAS 6 Y 8 Y EL  
PROCOLÁGENO TIPO III COMO MARCADORES  
BIOLÓGICOS URINARIOS DE NEFROPATÍA POR  
REFLUJO EN LA INFANCIA**

**MAGDALENA PUERTA VILCHEZ**

**GRANADA, 2003**

D. DAVID BARAJAS DE FRUTOS, DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA  
POR LA UNIVERSIDAD DE GRANADA Y MÉDICO ADJUNTO DEL SERVICIO  
DE PEDIATRÍA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO “VIRGEN DE LAS NIEVES”  
DE GRANADA:

CERTIFICA:

Que Dña. Magdalena Puerta Vílchez ha realizado bajo mi dirección el trabajo de Tesis Doctoral sobre el tema: **“VALORACIÓN DE LAS INTERLEUCINAS 6 Y 8 Y EL PROCOLÁGENO TIPO III COMO MARCADORES BIOLÓGICOS URINARIOS DE NEFROPATÍA POR REFLUJO EN LA INFANCIA”**, el cual ha finalizado con aprovechamiento, habiendo sido revisado y estando conforme con su presentación para obtener el Grado de Doctor, siempre que así lo considere el Tribunal que designe la Universidad de Granada.

Granada, a 26 de Junio de 2003

Fdo.: D. David Baraja de Frutos

D. ANTONIO MUÑOZ HOYOS, DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA POR LA UNIVERSIDAD DE GRANADA Y PROFESOR TITULAR DE LA CÁTEDRA DE PEDIATRÍA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE GRANADA:

CERTIFICA:

Que Dña. Magdalena Puerta Vilchez ha realizado bajo mi dirección el trabajo de Tesis Doctoral sobre el tema: **“VALORACIÓN DE LAS INTERLEUCINAS 6 Y 8 Y EL PROCOLÁGENO TIPO III COMO MARCADORES BIOLÓGICOS URINARIOS DE NEFROPATÍA POR REFLUJO EN LA INFANCIA”**, el cual ha finalizado con aprovechamiento, habiendo sido revisado y estando conforme con su presentación para obtener el Grado de Doctor, siempre que así lo considere el Tribunal que designe la Universidad de Granada.

Granada, a 26 de Junio de 2003

Fdo.: D. Antonio Muñoz Hoyos

Dña. BEATRIZ BRAVO MANCHEÑO, DOCTOR EN MEDICINA Y CIRUGÍA POR LA UNIVERSIDAD DE GRANADA Y MÉDICO ADJUNTO DEL SERVICIO DE PEDIATRÍA DEL HOSPITAL UNIVERSITARIO “VIRGEN DE LAS NIEVES” DE GRANADA:

CERTIFICA:

Que Dña. Magdalena Puerta Vílchez ha realizado bajo mi dirección el trabajo de Tesis Doctoral sobre el tema: **“VALORACIÓN DE LAS INTERLEUCINAS 6 Y 8 Y EL PROCOLÁGENO TIPO III COMO MARCADORES BIOLÓGICOS URINARIOS DE NEFROPATÍA POR REFLUJO EN LA INFANCIA”**, el cual ha finalizado con aprovechamiento, habiendo sido revisado y estando conforme con su presentación para obtener el Grado de Doctor, siempre que así lo considere el Tribunal que designe la Universidad de Granada.

Granada, a 26 de Junio de 2003

Fdo.: Dña. Beatriz Bravo Mancheño

*A mis padres*

*A Manuel*

*A nuestro pequeño Manuel*

# AGRADECIMIENTOS

Al Dr. D. David Barajas de Frutos, pilar básico en la realización de esta tesis, por sus continuas orientaciones, su buena disposición y su entusiasmo permanente.

Al Dr. D. Antonio Muñoz Hoyos, por el interés prestado y sus oportunas indicaciones en el desarrollo de este estudio.

A la Dra. Dña. Beatriz Bravo Mancheño, por su espíritu crítico y su apoyo en la realización de este trabajo.

Al Dr. D. Juan de Dios Luna del Castillo, por su desinteresada participación en el desarrollo del estudio estadístico de esta tesis, por su paciencia y su buen talante en todo momento.

A Rosa Baena, Fermina Casares, Teresa Checa, Paqui Bueno, Pilar Rodríguez y al resto del personal de la consulta de Nefrología Pediátrica, por su quehacer diario y su ayuda inestimable en la realización de este trabajo.

Al Dr. Angel Ramírez Navarro, radiofarmacéutico del Servicio de Medicina Nuclear del Hospital Universitario Virgen de las Nieves, por su entusiasta y siempre bien dispuesta colaboración en la realización de las determinaciones de IL-6 y 8 y Procolágeno tipo III en orina.

Al Dr. José Antonio Arrebola Nacle, analista del Laboratorio de Inmunología del Hospital Universitario Virgen de las Nieves por su importante colaboración en las determinaciones analíticas de microalbuminuria y alfa1-microglobulina en orina.

Al servicio de pediatría del Hospital Universitario Virgen de las Nieves, y especialmente a su Jefe de Servicio, Dr. D. Luis Ortega Martos, por su apoyo y estímulo en la realización de esta tesis.

Al Dr. José María López Ruiz, por su importante participación y disposición en el estudio gammagráfico renal.

Al Dr. José Luis García Espona y a todo el equipo del Servicio de Radiología Infantil del Hospital Materno-Infantil, por su colaboración en la realización de las exploraciones radiológicas.

A los Dres. Javier Ruiz Castejón y Ricardo Fernández Valadés, por sus acertados consejos y apoyo en el campo de la informática.

A todo el personal de los laboratorios de Inmunología y de Medicina Nuclear por su colaboración en las determinaciones analíticas.

Al personal de las consultas de Cirugía y Ortopedia Infantil por su colaboración en la recogida de muestras.

A D. Juan Manuel Puerta Vílchez, por su importante apoyo en la realización de las figuras y esquemas.

A D. Manuel Melguizo Prieto, por su apoyo y continuo ánimo y por su paciencia diaria.

A los niños, objetivo final de este estudio, sin cuya participación no hubiera sido posible su desarrollo y culminación.

## **ABREVIATURAS**



- ▶ **α1-M:** alfa1-microglobulina
- ▶ **AT-1:** Angiotensina 1
- ▶ **AT-2:** Angiotensina 2
- ▶ **BBA:** Antígenos del borde en cepillo
- ▶ **bFGF:** Factor de crecimiento de los fibroblastos básico
- ▶ **β2-M:** beta2-microglobulina
- ▶ **C:** Cirugía
- ▶ **CTGF:** Factor de crecimiento del tejido conectivo
- ▶ **CUMS:** Cisto-uretrografía miccional seriada
- ▶ **Dco:** Diagnóstico
- ▶ **DMSA:** Acido dimercaptosuccínico
- ▶ **DTPA:** Acido diamino-tetraetil pentacético
- ▶ **ECA-1:** Enzima convertidora de la angiotensina tipo 1
- ▶ **EGF:** Factor de crecimiento Epidermoide
- ▶ **ELAM-1:** Molécula de adhesión leucocitaria
- ▶ **ELISA:** Enzimoinmunoanálisis
- ▶ **EPU:** Estenosis pieloureteral
- ▶ **ET-1:** Endotelina 1
- ▶ **EUV:** Estenosis ureterovesical
- ▶ **FG:** Filtrado glomerular
- ▶ **FRR:** Función Renal Relativa
- ▶ **FSP-1:** Proteína específica de los fibroblastos
- ▶ **g:** gramo
- ▶ **GN:** Glomerulonefritis
- ▶ **HTA:** Hipertensión arterial
- ▶ **ICS:** Sociedad internacional de continencia
- ▶ **IFN-γ:** Interferón gamma
- ▶ **IL-1:** Interleucina 1
- ▶ **IL-2:** Interleucina-2
- ▶ **IL-6:** Interleucina-6
- ▶ **IL-8:** Interleucina-8
- ▶ **IR:** Insuficiencia renal
- ▶ **IRC:** Insuficiencia renal crónica
- ▶ **IRMA:** Análisis Inmunorradiométrico
- ▶ **IRT:** Insuficiencia Renal Terminal
- ▶ **ITU:** Infección del tracto urinario
- ▶ **MA:** microalbuminuria
- ▶ **MAG-3:** Mercapto-acetil triglicina
- ▶ **μg:** microgramo
- ▶ **MEC:** Matriz Extracelular
- ▶ **mg:** miligramo
- ▶ **mRNA:** Acido ribonucleico mensajero
- ▶ **NAG:** N-acetil-glucosamina
- ▶ **Nº:** número
- ▶ **O2:** Oxígeno
- ▶ **P:** Percentil
- ▶ **PAD:** Percentil arterial de la tensión diastólica
- ▶ **PAI-1:** Inhibidor del activador del plasminógeno tipo 1
- ▶ **PAS:** Percentil arterial de la tensión sistólica
- ▶ **PDGF-BB:** Factor de crecimiento derivado de plaquetas recombinante

- ▶ **pg:** picograma
- ▶ **PIII:** Procolágeno tipo III
- ▶ **PNA:** Pielonefritis aguda
- ▶ **RAA:** Renina angiotensina Aldosterona
- ▶ **RBP:** Proteína ligada al retinol
- ▶ **RIA:** Radioinmunoanálisis
- ▶ **RIR:** Reflujo intrarrenal
- ▶ **RVU:** Reflujo vesico-ureteral
- ▶ **SMA:** Alfa-actina del músculo liso
- ▶ **TA:** Tensión arterial
- ▶ **TAD:** Tensión arterial diastólica
- ▶ **TAS:** Tensión arterial sistólica
- ▶ **TBC:** Tuberculosis
- ▶ **TGF- $\beta$ :** Factor de crecimiento transformante beta
- ▶ **TIMP-1:** Inhibidor tisular de las metaloproteinasas tipo 1
- ▶ **TNF- $\alpha$ :** Factor de necrosis tumoral alfa
- ▶ **T°:** Tiempo
- ▶ **Tto:** Tratamiento
- ▶ **UC:** Ureterocele
- ▶ **UIV:** Urografía intravenosa
- ▶ **VU:** Válvulas de uretra

# INDICE

---

<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>1.- ANTECEDENTES HISTÓRICOS</b> .....	<b>2</b>
<b>2.- CONTROVERSIAS TERMINOLÓGICAS</b> .....	<b>2</b>
<b>3.- FACTORES ETIOLÓGICOS</b> .....	<b>3</b>
<b>3.1- Uropatías</b> .....	<b>3</b>
<b>3.1.1. RVU</b> .....	<b>3</b>
3.1.1.a) Concepto.....	3
3.1.1.b) Clínica.....	4
3.1.1.c) Diagnóstico.....	5
3.1.1.d) Historia Natural.....	7
3.1.1.e) Complicaciones.....	7
3.1.1.f) Tratamiento.....	8
<b>3.1.2.- Otras uropatías y la disfunción vesical</b> .....	<b>9</b>
3.1.2.a) Malformaciones renales .....	10
3.1.2.b) Malformaciones ureterales.....	10
3.1.2.c) Uropatía Obstructiva.....	10
3.1.2.d) Disfunción vesical.....	12
3.1.2.e) Diagnóstico de las uropatías.....	13
3.1.2.f) Tratamiento de las uropatías.....	14
<b>3.2.- La infección del tracto urinario</b> .....	<b>15</b>
<b>3.3.- Factores genéticos</b> .....	<b>16</b>
<b>4.- PATOGENIA</b> .....	<b>18</b>
<b>4.1.- Fase de activación celular</b> .....	<b>20</b>
<b>4.2.- Fase de señalización fibrogénica</b> .....	<b>21</b>
<b>4.3.- Fase de formación de la cicatriz</b> .....	<b>21</b>
<b>4.4.- Fase de destrucción</b> .....	<b>22</b>
<b>5.- ANATOMIA PATOLÓGICA</b> .....	<b>23</b>
<b>6.- DIAGNÓSTICO POR LA IMAGEN DE LA NR</b> .....	<b>23</b>
<b>6.1.- Urografía intravenosa</b> .....	<b>23</b>
6.1.1.- Ventajas.....	24
6.1.2.- Inconvenientes.....	24
<b>6.2.- Gammagrafía renal</b> .....	<b>24</b>
6.2.1.- Manejo renal del DMSA.....	24
6.2.2.- Imagen gammagráfica normal.....	25

---

6.2.3.- Diagnóstico gammagráfico de la cicatriz renal.....	25
6.2.4.- Clasificación de la NR según la gammagrafia DMSA.....	25
6.2.5.- Diagnóstico gammagráfico de PNA.....	26
6.2.6.- Inconvenientes del DMSA.....	27
<b>6.3.- Comparación de la UIV y la gammagrafia DMSA.....</b>	<b>27</b>
<b>6.4.- Ecografía.....</b>	<b>27</b>
<b>7.- DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO DE LA NR: MARCADORES BIOLÓGICOS DE LESIÓN RENAL.....</b>	<b>28</b>
<b>7.1.- Marcadores biológicos urinarios de lesión glomerular: microalbuminuria.....</b>	<b>29</b>
7.1.1.- Causas de proteinuria glomerular.....	29
7.1.2.- Definición de albuminuria/microalbuminuria y valores de referencia.....	29
7.1.3.- Proteinuria glomerular en la NR.....	30
<b>7.2.- Marcadores biológicos urinarios de lesión túbulo-intersticial.....</b>	<b>30</b>
7.2.1.- Beta2-microglobulina.....	31
7.2.2.- N-acetil-glucosaminidasa.....	32
7.2.3.- Proteína ligada al retinol.....	32
7.2.4.- Alfa1-microglobulina.....	33
<b>8.-NUEVOS MARCADORES DE LESIÓN TÚBULO-INTERSTICIAL.....</b>	<b>34</b>
<b>8.1.- Endotelina-1.....</b>	<b>34</b>
8.1.1.- Síntesis tubular.....	35
8.1.2.- Acciones de las endotelinas.....	35
<b>8.2.- Factor de Necrosis Tumoral.....</b>	<b>36</b>
<b>8.3.- Interferón Gamma.....</b>	<b>36</b>
<b>8.4.- Molécula de Adhesión Leucocitaria Endotelial-1.....</b>	<b>37</b>
<b>8.5.- Factor de Crecimiento Epidermoide.....</b>	<b>37</b>
<b>8.6.- Interleucina-2.....</b>	<b>38</b>
<b>8.7.- Antígenos del Borde en Cepillo.....</b>	<b>38</b>
<b>8.8.- Factor de Crecimiento del Tejido Conectivo.....</b>	<b>38</b>
<b>8.9.- Factor de Crecimiento Transformante Beta 1.....</b>	<b>39</b>
a) Biología.....	39
b) Mecanismo de actuación.....	39
c) Acciones biológicas.....	40
d) Acciones profibróticas.....	40
e) Acciones protectoras contra el daño tisular.....	41

---

f) Interrelación del TGF- $\beta$ 1 con otros factores.....	41
g) Futuras perspectivas como factor terapéutico.....	42
<b>8.10.- Colágeno.....</b>	<b>42</b>
a) Biología.....	42
b) Su papel en la NR.....	43
c) Acciones del TGF- $\beta$ 1 sobre la síntesis de colágeno.....	44
<b>8.11.- Interleucinas 6 y 8.....</b>	<b>44</b>
a) Biología.....	44
b) Papel de las IL-6 y 8 en la NR.....	45
<b>9.-FACTORES PREDICTIVOS DE DESARROLLO DE LA NR.....</b>	<b>46</b>
<b>10.- COMPLICACIONES DE LA NR A LARGO PLAZO.....</b>	<b>46</b>
<b><i>HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....</i></b>	<b>48</b>
<b>1.-HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN .....</b>	<b>49</b>
<b>2.-OBJETIVOS.....</b>	<b>50</b>
<b>2.1.-Generales.....</b>	<b>50</b>
<b>2.2.-Específicos.....</b>	<b>50</b>
<b><i>MATERIAL Y MÉTODO.....</i></b>	<b>51</b>
<b>1.- CASUÍSTICA.....</b>	<b>52</b>
<b>1.1.- Grupo control.....</b>	<b>52</b>
1.1.1.- Criterios de exclusión.....	52
<b>1.2.- Grupo de casos.....</b>	<b>52</b>
1.2.1.- Criterios de inclusión.....	53
<b>2.-DISEÑO DEL ESTUDIO.....</b>	<b>53</b>
<b>2.1.- Variables clínicas.....</b>	<b>53</b>
2.1.1.- Grupo control.....	53
2.1.2.- Grupo de casos.....	53
<b>2.2.-Variables bioquímicas.....</b>	<b>54</b>
<b>2.3.- Variables funcionales.....</b>	<b>54</b>
<b>2.4.- Valoración de la presencia de uropatía.....</b>	<b>55</b>
2.4.1.- Diagnóstico del RVU.....	56
2.4.2.- Diagnóstico de las Estenosis Obstructivas y No obstructivas.....	56
2.4.3.- Diagnóstico de las Hipoplasias, Displasias y Agencias Renales.....	58
<b>2.5.- Estudio de la Función Vesical.....</b>	<b>58</b>
<b>2.6.- Valoración de la presencia de NR.....</b>	<b>58</b>

---

<b>3.- RECOGIDA DE LOS DATOS Y DE LAS MUESTRAS.....</b>	<b>59</b>
<b>4.- MÉTODOS DE DETERMINACIÓN BIOQUÍMICA.....</b>	<b>60</b>
4.1.- Creatinina en sangre y en orina.....	60
4.2.- Alfa1-microglobulina en orina.....	60
4.3.- Microalbuminuria.....	60
4.4.- Procolágeno tipo III en orina.....	61
4.5.- Interleucina-6 en orina.....	61
4.6.- Interleucina-8 en orina.....	61
<b>5.-MÉTODO ESTADÍSTICO.....</b>	<b>61</b>
5.1.- Estadística descriptiva.....	61
5.2.-Análisis inferencial.....	61
5.2.1.- Test Exacto de Fisher.....	61
5.2.2.- Coeficiente de correlación de Spearman.....	61
5.2.3.- Test de Kruskal-Wallis.....	61
5.2.4.- Regresión lineal múltiple.....	62
<b>6.- MÉTODO BIBLIOGRÁFICO.....</b>	<b>62</b>
<b>RESULTADOS.....</b>	<b>63</b>
<b>1.-ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA.....</b>	<b>64</b>
1.1.- Distribución por edad y sexo de los grupos.....	64
1.2.- Antecedentes familiares de uropatía.....	64
1.3.- Percentiles tensionales por grupo de lesión.....	64
1.4.- Edad al diagnóstico.....	65
1.5.- Tiempo de evolución.....	65
1.6.- Número de ITUs y profilaxis antibiótica.....	65
1.7.- Presencia de uropatía.....	66
1.7.1.- Con respecto al grado de lesión renal.....	66
1.7.2.- Por riñón.....	67
1.7.3.- Otros.....	67
1.8.- Cirugía.....	68
1.8.1.- En el conjunto de pacientes.....	68
1.8.2.- En relación al grupo de lesión.....	68
1.9.- Función vesical.....	69
1.10.-Grado de lesión renal determinado por la gammagrafía DMSA .....	69
1.10.1.- Presencia de NR por riñón en cada grupo.....	69

---

1.10.2.- Grado de NR en cada riñón.....	70
<b>1.11.- Lateralidad de la lesión renal.....</b>	<b>71</b>
<b>1.12.- Complicaciones.....</b>	<b>71</b>
1.12.1.- HTA.....	71
1.12.2.- IRC.....	71
<b>1.13.- Marcadores de lesión y FG en los casos y controles.....</b>	<b>72</b>
<b>2.-DIFERENCIAS DE LAS DISTINTAS VARIABLES CATEGÓRICAS POR GRUPOS DE LESIÓN.....</b>	<b>73</b>
<b>2.1.-Relación entre el sexo y los grupos de lesión.....</b>	<b>73</b>
<b>2.2.- Relación entre la profilaxis antibiótica y los grupos de NR.....</b>	<b>74</b>
<b>2.3.- Relación entre la cirugía y los grupos de lesión.....</b>	<b>74</b>
<b>2.4.- Relación entre la presencia de uropatía y los grupos de NR por paciente.....</b>	<b>75</b>
<b>2.5.- Relación entre la función vesical y el grupo de lesión.....</b>	<b>76</b>
<b>2.6.- Relación entre la lateralidad de la cicatriz y el grupo de NR.....</b>	<b>76</b>
<b>3.- CORRELACIÓN ENTRE LOS MARCADORES DE LESIÓN Y EL FG CON DISTINTAS VARIABLES Y ENTRE SÍ, EN EL CONJUNTO DE PACIENTES.....</b>	<b>77</b>
<b>3.1.- Correlaciones entre los marcadores de lesión, el FG, la edad, la TAS y la TAD.....</b>	<b>77</b>
<b>3.2.- Correlaciones de los marcadores de lesión y el FG entre sí.....</b>	<b>77</b>
<b>4.-RELACIÓN ENTRE LA LATERALIDAD DE LA NR, LOS MARCADORES DE LESIÓN Y EL FG.....</b>	<b>78</b>
<b>5.- COMPARACIONES ENTRE GRUPOS DE NR DE LOS MARCADORES DE LESIÓN.....</b>	<b>79</b>
<b>5.1.- Excreción de microalbuminuria en los controles y en los grupos de lesión.....</b>	<b>79</b>
<b>5.2.- Excreción urinaria de alfa1-microglobulina en los controles y en los grupos de lesión.....</b>	<b>80</b>
<b>5.3.- Excreción urinaria de IL-8 en los controles y en los grupos de lesión.....</b>	<b>81</b>
<b>5.4.- Excreción urinaria de IL-6 en los controles y en los grupos de lesión.....</b>	<b>82</b>
<b>5.5.- Excreción urinaria de PIII en los controles y en los grupos de lesión.....</b>	<b>83</b>
<b>5.6.- Comparaciones entre grupos de lesión y el FG.....</b>	<b>84</b>
<b>DISCUSIÓN.....</b>	<b>85</b>
<b>1.-COMENTARIOS AL ESTUDIO ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO.....</b>	<b>86</b>
<b>1.1.- Sexo.....</b>	<b>86</b>
<b>1.2.- Antecedentes familiares.....</b>	<b>86</b>
<b>1.3.- Edad.....</b>	<b>87</b>



---

1.4.- Edad al diagnóstico y tiempo de evolución.....	87
1.5.-Número de ITUs y profilaxis antibiótica.....	87
1.6.- Presencia de uropatía.....	88
1.7.- Tratamiento quirúrgico.....	89
1.8.- Función vesical.....	89
1.9.- Lateralidad y grado de lesión renal.....	90
1.10.- Presencia de complicaciones.....	91
2.-DISCUSIÓN ACERCA DE LA RELACIÓN ENTRE LOS MARCADORES DE LESIÓN Y DISTINTAS VARIABLES.....	91
2.1.- Correlación entre los marcadores de lesión, el FG, la TAS y la TAD en el conjunto de pacientes.....	92
2.2.- Correlaciones de los distintos marcadores de lesión y el FG entre sí.....	92
3.- DISCUSIÓN ACERCA DE LA RELACIÓN ENTRE LOS MARCADORES DE LESIÓN, EL FG Y LA LATERALIDAD DE LA LESIÓN.....	93
4.- COMENTARIOS ACERCA DE LA COMPARACIÓN ENTRE LOS GRUPOS DE LESIÓN, LOS MARCADORES URINARIOS Y EL FG.....	94
4.1.- Excreción de microalbuminuria en los controles y en los grupos de lesión.....	94
4.2.- Excreción de alfa1-microglobulina urinaria en los controles y en los grupos de lesión.....	95
4.3.- Excreción urinaria de IL-8 en los controles y en los grupos de lesión.....	96
4.4.- Excreción urinaria de IL-6 en los controles y en los grupos de lesión.....	98
4.5.- Excreción urinaria de PIII en los controles y en los grupos de lesión.....	99
4.6.- Comparación del FG con los distintos grupos de lesión.....	101
<i>CONCLUSIONES</i> .....	103
<i>FIGURAS</i> .....	105
<i>BIBLIOGRAFÍA</i> .....	127

# INTRODUCCIÓN

Se denomina **nefropatía por reflujo (NR)** a la lesión córtico-medular renal cicatricial, irreversible, frecuentemente ligada al reflujo vesicoureteral (RVU) (Bailey 1973). Su importancia radica en que puede producir hipertensión arterial y/o insuficiencia renal cuando las lesiones son extensas.

## **1. -ANTECEDENTES HISTÓRICOS**

La existencia en el humano del fenómeno de reflujo vesicoureteral se conoce desde el siglo pasado, quedando establecida como entidad nosológica a partir de que Bumpus, en 1924, describiera su asociación a diversos trastornos urológicos. El interés por el reflujo se incrementó en la década de 1950, cuando se reconoció como complicación frecuente en pacientes parapléjicos con la introducción del tratamiento quirúrgico correctivo por Politano y Leadbetter.

Durante mucho tiempo se desconoció el reflujo primario; se consideraba siempre secundario a trastornos urológicos distales, como la estenosis del cuello vesical.

Los estudios radiológicos y experimentales de Hodson y Edwards establecieron la relación entre el reflujo y la pielonefritis crónica, sugiriéndose que la presión ureteral retrógrada o “golpe de martillo de agua” provocado por el reflujo sea la causa de las lesiones (Hodson y Edwards 1960).

La observación de cicatrices renales, demostradas por urografía intravenosa, en pacientes con reflujo hizo que Bailey (1973) propusiera el término “nefropatía por reflujo”.

Observaciones clínicas y trabajos prospectivos de varios autores encuentran en niños la asociación de reflujo a pielonefritis crónica y señalan la presencia de cicatrices renales en niños con infección urinaria, las cuales son más frecuentes en los riñones con reflujo (Drachman y cols 1984, Hodson y Edwards 1960).

## **2.-CONTROVERSIAS TERMINOLÓGICAS**

El término “Nefropatía por reflujo” resalta la relación clínica entre el daño renal demostrado radiológicamente y la muy frecuente presencia de RVU en pacientes con hipertensión arterial (HTA), insuficiencia renal crónica (IRC) y proteinuria (Bailey 1973).

Realmente, la NR puede producirse por cualquier uropatía malformativa, asociada o no al RVU, con o sin displasia renal y/o disfunción vesical severa (Steinhardt 1985), así como por pielonefritis aguda sin RVU demostrable (Winter y cols 1983). Por esto el término empieza a considerarse confuso (Mathieu y Guedeney 1883, Arant 1991, Roberts 1992, Gordillo y de la

Cruz 1996). Debido a esta confusión, no se conoce con exactitud la prevalencia de la nefropatía por reflujo (Cochat y cols 1998).

Según Bailey el término más apropiado sería el de Pielonefritis crónica no-obstruiva atrófica (Bailey 1993).

Conceptos como nefropatía por reflujo, pielonefritis crónica, nefropatía obstructiva y cicatriz renal se encuentran en la literatura refiriéndose al mismo proceso de lesión renal: fibrosis intersticial a la cual se ha llegado por distintos mecanismos.

En este trabajo se utilizan indistintamente los términos “nefropatía por reflujo” y cicatriz o lesión renal.

### **3.- FACTORES ETIOLÓGICOS**

Son varios los factores etiológicos que intervienen en el desarrollo y progresión de la cicatriz renal (Steinhardt 1985 y Roberts 1992):

- Uropatías
- Infección del tracto urinario
- Factores genéticos

#### **3.1.- Uropatías**

##### **3.1.1.- Reflujo vesicoureteral**

###### **3.1.1.a.- Concepto**

Es la uropatía más frecuente en la infancia y va asociado frecuentemente con infección del tracto urinario. Consiste en la regurgitación de orina a través de la unión ureterovesical hacia cualquier nivel del tracto urinario, y puede producirse de forma congénita (RVU primario) o adquirida (RVU secundario) (Bueno y cols 2001).

El *RVU primario* se debe a una unión ureterovesical incompetente debido a un defecto congénito de longitud, diámetro, muscular o de la inervación del segmento intravesical del uréter.

El trayecto intravesical del uréter es el factor clave en el mecanismo antirreflujo. El consenso general es que el defecto consiste en un acortamiento del segmento submucoso debido a una ectopia congénita lateral del orificio ureteral. Durante la infancia el uréter intravesical se alarga. De aquí la tendencia del reflujo a disminuir o desaparecer con la edad (Bailey 1993).

Actualmente se acepta la existencia del factor hereditario en el RVU primario. Se han publicado varios estudios en ese sentido.

Miller y Caspari (1972) encuentran un aumento de la frecuencia de reflujo en el estudio de diez familias, con una herencia dominante con expresión incompleta. Posteriormente, Noe y cols (1995) obtienen resultados similares.

El riesgo de padecer RVU para un familiar de primer grado de un paciente afectado es de 8 a 50 veces más elevado que para un sujeto en el que ningún miembro de su familia está afectado (Aggarwal y Verrier-Jones 1989).

Según estos hallazgos, es importante la investigación del RVU en familiares asintomáticos (Heale 1997, Puri y cols 1998).

Cuando se diagnostica un RVU sintomático en hermanos de pacientes con reflujo, este es habitualmente de mayor grado, se da en niños más pequeños y es más frecuente en varones. Se asocia a mayor incidencia de NR (Puri y cols 1998).

El *RVU secundario* se debe a una alteración adquirida de la unión ureterovesical. Esto puede ocurrir como consecuencia del aumento de presión intravesical, como ocurre en la Bilharziasis y la tuberculosis (TBC) urinaria (Bailey 1973). Más común es la infección urinaria, en la que se produce un edema del segmento intravesical del uréter y cierta rigidez del mismo (Bailey 1992).

También son reflujos secundarios los que pueden aparecer en el lado contralateral, tras una reimplantación ureterovesical unilateral (Faure y cols 1986) o en caso de obstrucción infravesical orgánica (válvulas de uretra posterior, estenosis uretral, obstrucción de cuello vesical) o funcional (vejiga neurógena, disinergia vesicoesfinteriana) y también en los que tienen un divertículo paraureteral (Jund y Vernet 1992, Bailey 1992).

El RVU puede asociarse con otras anomalías congénitas urológicas (estenosis pielouretrales, ureterovesicales, etc).

#### 3.1.1.b) Clínica del RVU

La manifestación clínica más frecuente e importante es la infección del tracto urinario, sobre todo en lactantes. Del 15 al 60% de los lactantes y escolares con ITU presentan algún grado de reflujo, y entre el 8 y el 13% tendrán evidencias radiológicas de NR (Bailey 1993).

A veces una ITU no da síntomas hasta que ya hay un daño renal irreversible. ( Bailey 1973).

Otras manifestaciones clínicas son:

- Enuresis nocturna
- Dolor lumbar

También puede ser asintomático y hallarse de modo casual (Bailey 1993, Bueno y cols 2001).

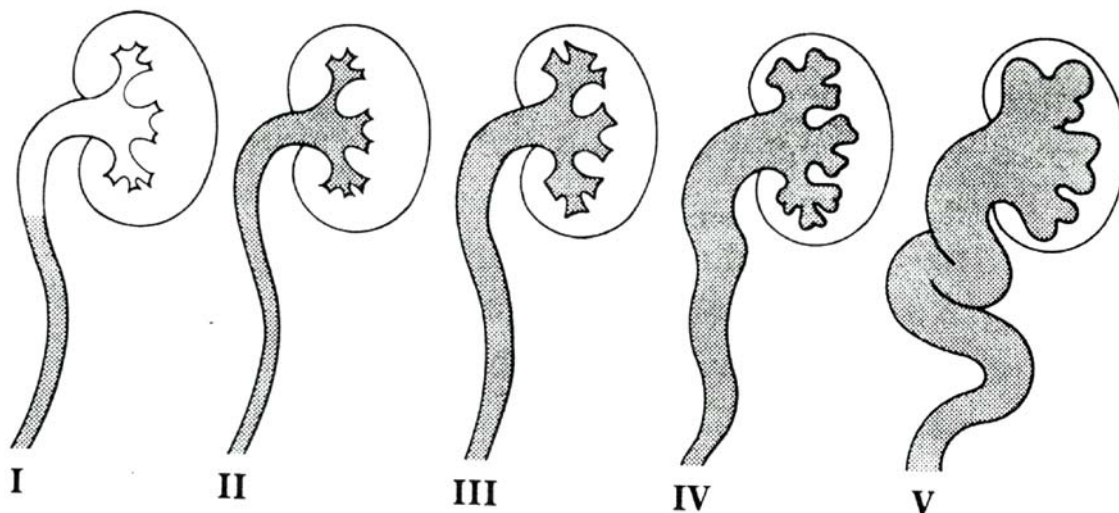
### 3.1.1.c) Diagnóstico del RVU

El RVU se puede diagnosticar por varias técnicas, pero los métodos más seguros son la cistouretrografía miccional seriada (CUMS) con monitorización fluoroscópica y la cistografía isotópica (Smellie y Ridgen 1995, Andrich y Majd 1992).

La *CUMS* es el método habitual de diagnóstico y el que proporciona mayor información, siendo actualmente el patrón de referencia con el que deben compararse las nuevas técnicas (Bailey 1992). Consiste en la introducción de contraste en la vejiga a través de la uretra, permitiendo visualizar la opacificación retrógrada del uréter y/o sistema pieloureteral en caso de RVU, así como algunas anomalías asociadas (ureteroceles, válvulas de uretra, etc.) y valorar el residuo postmiccional (Smellie y Ridgen 1995).

Existen varias clasificaciones según el grado de llenado ureteral y la dilatación del sistema colector, pero la más aceptada es la elaborada por el Comité Internacional para el estudio del Reflujo (International Reflux Study Committee 1981), que distingue cinco grados (Fig.A):

- *Grado I:* El contraste rellena únicamente el uréter
- *Grado II:* Alcanza la pelvis renal y cálices, sin dilatación
- *Grado III:* Leve dilatación de uréter y pelvis. Nulo abombamiento de los fórnixes.
- *Grado IV:* Moderada dilatación y/o tortuosidad del uréter y moderada dilatación de pelvis y cálices. Pérdida del ángulo del fórnix pero mantenimiento de las impresiones papilares en la mayoría de los cálices.
- *Grado V:* Gran dilatación y tortuosidad del uréter, pelvis globulosa y pérdida total de la morfología calicial. Las impresiones papilares no son visibles en la mayoría de los cálices.



**Fig.A.- Clasificación Internacional del Reflujo Vesicoureteral**

Aunque no incluido en la clasificación, es de gran importancia el reflujo intrarrenal (RIR). Consiste en el paso retrógrado de contraste hacia los túbulos colectores intrapapilares de Bellini. Se suele observar en los RVU grado IV o V y se considera un factor de gravedad (Blázquez y Escudero 1984, Bueno y cols 2001).

La *cistografía isotópica directa* se realiza introduciendo en vejiga un radiofármaco, que suele ser el pernectato sódico de tecnecio 99. Cualquier actividad que se capte por la gammacámara en el uréter o en el sistema pielocalicial indica reflujo. Con esta técnica la monitorización es continua y se puede detectar cualquier reflujo por fugaz que sea, siendo muy baja la radiación recibida. Su principal inconveniente es que no puede compararse con la clasificación radiológica pero sí puede definirse el RVU como leve, moderado y severo. Tampoco detecta anomalías ureterovesicales asociadas (Barajas 1997, Peláez 2001). Está indicada en el seguimiento de pacientes con RVU tratados médica o quirúrgicamente (Bailey 1992), en el estudio de familiares de pacientes con RVU y en la evaluación de pacientes con pielonefritis aguda de repetición en los que el RVU no se pudo demostrar en la CUMS.

Otras técnicas diagnósticas son:

- Cistografía isotópica indirecta: se inyecta un radiofármaco por vía intravenosa, como son el DTPA (ácido diaminotetraetil pentacético) o bien MAG-3 (mercaptoacetilglicina), marcados con tecnecio 99. Ambos son excretados por el riñón. En presencia de RVU la cuantificación del radiofármaco se incrementa durante la micción en el área pieloureteral, una vez desaparecida la radiactividad en

las vías altas (fase vesical) (Pedrero y cols 2001).

- Ecografía: en caso de RVU puede detectarse una dilatación piélica o del uréter terminal durante la micción. No es un buen método porque algunos pacientes con RVU severo no muestran signos de dilatación, no permite visualizar bien la uretra y depende mucho de la colaboración del paciente (Blane y cols 1993, Peláez 2001).
- Eco-Doppler Color y Ecocistografía Retrógrada: para mejorar la sensibilidad y especificidad del diagnóstico del reflujo se han realizado estudios con el uso de eco-doppler color y utilizando eco-realzadores (levovist) o albúmina introducidos por vía retrógrada (ecocistografía retrógrada); sin embargo requieren cateterismo vesical, no permiten clasificar el grado de reflujo y tienen elevado coste (Atala y cols, 1998).

#### 3.1.1.d) Historia natural del RVU

Durante el seguimiento de niños diagnosticados prenatalmente de hidronefrosis, se ha observado que desarrollan un RVU de grado III-IV y que este es más prevalente en varones. El 40% se resuelven espontáneamente a los 2 años. Un 20% de estos riñones, aun no habiendo presentado ninguna ITU, presentan hipocaptación global en la gammagrafía DMSA y son riñones lisos, pequeños y sin defectos focales (Bailey 1993).

Los períodos de preescolar y sobre todo el de lactante son los más críticos en la historia natural del daño renal asociado con RVU. La severidad del RVU es el factor determinante del daño renal que puede ocurrir en ausencia de ITU (Bailey 1993).

#### 3.1.1.e) Complicaciones

La principal complicación del RVU es el desarrollo de cicatrices renales.

Tradicionalmente se postulan tres hipótesis para el desarrollo de la cicatriz renal cuando existe RVU congénito (Steinhardt 1985):

- La hipótesis embriológica, según la cual el reflujo es una manifestación del desarrollo embriológico anormal de la yema ureteral. Esta induce un desarrollo renal anormal con la consiguiente displasia. Radiológicamente la displasia es similar a la cicatriz renal.
- Reflujo estéril intrarrenal: puede dañar el riñón a través de la activación de la respuesta inmune. El antígeno más comúnmente implicado es la proteína de Tamm-Horsfall, constituyente habitual de la orina (Mayrer y cols 1983). Recientemente se ha especulado sobre el posible efecto lesivo directo de la orina vesical sobre los túbulos renales. Esta es más rica en electrolitos que la orina piélica, lo que



comprometería al funcionamiento de la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  de la célula tubular provocando su destrucción (Mouriquand 1995).

- Reflujo de orina infectada: el grado de NR parece ser el resultado directo de la respuesta inflamatoria a la bacteria en el interior del parénquima renal. Se acepta actualmente que el reflujo intrarrenal de orina infectada en el interior de las papilas compuestas produce una cicatriz focal.

#### 3.1.1.f) Tratamiento

El objetivo del tratamiento del RVU consiste en la prevención de pielonefritis recurrentes y en un tratamiento agresivo de las mismas cuando se presenten, para evitar, en lo posible, la lesión renal y sus complicaciones (Cochat y cols 1998).

El tratamiento preventivo se hará con un antimicrobiano que logre una alta concentración en la orina, cubra gérmenes patógenos urinarios, altere lo menos posible la flora fecal, tenga pocos o ningún efecto secundario y se tolere por el niño. Los fármacos que mejor cumplen estas características son el trimetoprim, el cotrimoxazol, el ácido nalidíxico, la nitrofurantoina y la nitroxolina. Se usan a  $\frac{1}{4}$  de la dosis habitual cada 12-24 horas. (Barajas y cols 1988, Bueno y cols 2001).

El tratamiento de la ITU debe realizarse de forma precoz, con antibióticos que logren una buena concentración tisular y urinaria durante 7-10 días, y teniendo en cuenta el antibiograma y las características del paciente. Posteriormente se seguirá un tratamiento preventivo (Barajas y cols 1988, Bueno y cols 2001, Peláez 2001, Kassir y cols 2001).

Otra alternativa es la cirugía antirreflujo. Se basa en la reimplantación quirúrgica del uréter en la vejiga (Peláez 2001). Todavía no hay acuerdo sobre sus indicaciones. El objetivo principal de la cirugía es prevenir las ITUs y en lo posible el daño del parénquima renal que se desarrolla en riñones sanos sometidos a RVU continuo y reducir el riesgo de progresión del daño renal en aquellos riñones que ya tienen cicatriz (Bailey 1993).

Pero muchos autores defienden que la cirugía no es útil si ya existen proteinuria, HTA o insuficiencia renal (IR) (Bailey 1993).

Existen varios estudios que ponen de manifiesto que la cirugía tiene pocos beneficios sobre el tratamiento conservador (Weiss y cols 1992, Jodal y cols 1992).

Actualmente, las indicaciones del tratamiento quirúrgico en el RVU son (Pedrero y cols 1996):

- RVU primario de grado IV-V en niños mayores de 2 años.

- RVU primario con pielonefritis de repetición a pesar del tratamiento preventivo.

Una indicación relativa serían los reflujos de grado II-III en mayores de 5 años en los que la probabilidad de resolución espontánea es baja, evitando así una profilaxis demasiado prolongada y los numerosos estudios radiológicos, isotópicos y bacteriológicos a los que son sometidos estos pacientes.

En los últimos años ha surgido otra alternativa terapéutica que consiste en la inyección endoscópica de una pequeña cantidad de una masa inerte en la submucosa del meato ureteral, paralelo a la dirección del uréter. Con ello se pretende disminuir el diámetro del meato ureteral y reforzar la pared posterior para que el contenido vesical comprima el uréter intramural (Piepsz y cols 1998). El material que más se ha venido utilizando ha sido el teflón, pero su uso se ha visto frenado por la comprobación del desarrollo de lesiones granulomatosas. En la actualidad se describe la utilización de otros materiales como Deflux<sup>®</sup>, colágeno o Macroplástico<sup>®</sup>, con resultados diversos (Peláez 2001). Es una válida alternativa a la profilaxis antibiótica prolongada y a la cirugía en pacientes seleccionados. Actualmente se está indicando en niños con RVU de grado II y III. Se cuestiona en casos de RVU grado IV (Capozza y cols 2001).

### **3.1.2.- Otras Uropatías y la disfunción vesical**

La NR no solamente la produce el RVU sino diversas uropatías malformativas asociadas o no al reflujo, con o sin displasia renal y/o disfunciones vesicales severas (Steinhardt 1985).

Las uropatías malformativas representan la causa más frecuente de Insuficiencia Renal Terminal (IRT), según reflejan datos registrados en nuestro país y en el informe correspondiente al año 1.992 de la Asociación Europea de diálisis y Transplante (EDTA) donde se comunicaba que el 36% de los pacientes con IRT y en programa de diálisis-transplante, presentaban como causa primaria de la enfermedad una uropatía obstructiva y/o una hipoplasia renal y/o una pielonefritis crónica (Loirat y cols 1992). En Granada, entre los años 1981 a 1991 en la casuística recogida sobre 35 niños con IRT se encuentra que un 34% está causada por uropatías (Pedrero y cols 1993).

En general, las uropatías malformativas actúan sobre el parénquima renal aumentando la presión urinaria y produciendo alteraciones del flujo de orina.

Cuando una o ambas actúan de forma crónica sobre el parénquima aparece la lesión renal y posteriormente el proceso de fibrosis (Bravo 1997, Palmieri 2002). El efecto lesivo es mayor en los niños menores de tres años y sobre todo, menores de un año (Pylkanen y cols

1981, Bailey 1993).

A continuación se describen las principales uropatías malformativas:

### 3.1.2.a) Malformaciones renales

Entre ellas encontramos como más representativas la agenesia renal, la hipoplasia y la displasia renal.

La agenesia renal se cree que depende de la degeneración temprana de la yema ureteral (Bard y Wolf 1992). Cuando es bilateral no es compatible con la vida. Puede asociarse a anomalías en otros órganos (testiculares, pulmonares, extremidades inferiores, dermis, etc). La agenesia renal unilateral tiene una frecuencia estimada en 1 por cada 1000 nacimientos (Garat y cols 1987).

La hipoplasia renal consiste en el desarrollo incompleto de uno o ambos riñones. Se diagnostica cuando se encuentra una reducción de la masa renal mayor del 65% de lo normal en ausencia de enfermedad adquirida (Becker y Avner 1995).

La displasia renal consiste en diversas anomalías de la estructura histológica renal ocasionada por detención del desarrollo embrionario, por trastornos en el proceso de diferenciación y por la persistencia de las estructuras mesonéfricas (Bernstein 1968).

### 3.1.2.b) Malformaciones ureterales

Incluimos aquí la duplicidad ureteral, la duplicidad pieloureteral y el ureteroceles.

La anomalía ureteral más frecuente es la duplicidad del sistema pieloureteral, que puede ser uni o bilateral, completa o incompleta (Garat y cols 1987). Es frecuente que los uréteres tengan desembocaduras anómalas: el uréter inferior, ortotópico, suele presentar reflujo vesicoureteral, y el uréter superior puede tener una desembocadura ectópica y se asocia frecuentemente a ureteroceles (Garat y cols 1987, Gordillo y cols 1996 b).

El ureterocel consiste en la dilatación del extremo distal del uréter, en forma de quiste o sáculo, congénito o adquirido (Garat y cols 1987). Se debe a una expansión anormal del extremo distal del uréter intravesical y suele conllevar, en caso de ser obstructivo, una displasia del parénquima correspondiente (Langman 1976).

### 3.1.2.c) Uropatía Obstructiva

Se trata de un grupo complejo de malformaciones que representan una resistencia estructural al flujo de orina y pueden situarse en cualquier punto del tracto urinario: pieloureteral, ureterovesical o infravesical (Walsh y cols 1998). La obstrucción provoca una importante dilatación por encima de ella (Palmieri 2002) y hace que aumente la presión del flujo

urinario, que se transmite hacia el riñón, dañándose el parénquima renal y produciéndose una nefropatía obstructiva con afectación parenquimatosa de diverso grado (Klahr 1998).

Recientemente se han descrito los mecanismos fisiopatológicos a través de los cuales la uropatía obstructiva conduce al daño renal, y por tanto a la nefropatía obstructiva. El acúmulo de orina hace que se incremente la presión y se dilaten pelvis, cálices y uréteres dependiendo del punto de obstrucción. El intersticio tubular, el área externa del glomérulo, los túbulos y los conductos colectores parecen ser las primeras estructuras en dañarse. En el intersticio dañado se liberan mediadores bioquímicos (factores de crecimiento, TGF- $\beta$ , óxido nítrico, factor activador de plaquetas,...) y sustancias vasoactivas (prostaglandinas, angiotensina II, péptido natriurético atrial). La acción de estas sustancias conduce a un desequilibrio entre las proteínas que favorecen el depósito de matriz extracelular (MEC) y las que intervienen en su degradación a favor de las primeras, produciéndose la fibrosis intersticial (Palmieri 2002, Klahr y Morrissey 1998).

La *estenosis pieloureteral* es la obstrucción de vías urinarias altas más frecuente en la infancia (Koff 1993, Gordillo y cols 1996). Generalmente es de naturaleza congénita, por fallo en la recanalización de la porción superior del uréter, que tiene lugar en el primer mes de gestación (Ruano-Gil y cols 1975). Puede estar causada por lesiones extrínsecas a la unión pieloureteral (pliegues, vasos aberrantes) o por defectos intrínsecos (estrechamientos focales, áreas segmentarias de peristalsis anormal) (Koff 1993, Gordillo y cols 1996).

La *estenosis vesicoureteral*, produce una importante dilatación ureteral (megauréter). Constituye la segunda causa de hidronefrosis en el neonato después de la estenosis pieloureteral (Becker y Avner 1995). Se considera que se debe a un trastorno de la embriogénesis que origina el desarrollo de fibras musculares circulares en exceso. Estudios ultraestructurales han mostrado exceso de colágeno con hipertrofia muscular e hiperplasia en el segmento dilatado (Gordillo y cols 1996).

Las *válvulas de uretra posterior* representan la causa más frecuente de obstrucción infravesical en los niños y un 10% de las causas de hidronefrosis en el recién nacido (Brown y cols 1991). Consisten en un engrosamiento excesivo de los repliegues de uroepitelio existentes en la uretra posterior, que conforman un diafragma y producen obstrucción a la salida de orina. La vejiga y el sistema urinario superior sufren los efectos de la obstrucción distal crónica, representados por hipertrofia y trabeculaciones vesicales, divertículos vesicales, dilatación y tortuosidad de los uréteres e hidronefrosis y suele acompañarse de RVU severo (Gordillo y cols

1996).

El *Síndrome de la Triada* o de “vientre en ciruela pasa” se produce casi exclusivamente en varones. Se caracteriza por criptorquidia, ausencia de musculatura abdominal y uropatía severa. Ésta consiste en ureterohidronefrosis importante, vejiga grande, no trabeculada, RVU, cuello vesical abierto, dilatación uretral, sin obstrucción orgánica pero sí funcional. Los riñones pueden tener diversos grados de displasia (Williams 1976).

#### 3.1.2.d) Disfunción vesical

La disfunción vesical puede causar una obstrucción funcional del tracto urinario que inicie o perpetúe un RVU y facilite la ITU (Koff 1992). Puede ser leve, moderada o grave (Homsy 1994, Nijman 2001).

La disfunción *leve* engloba, entre otras, a la incontinencia por la risa y al síndrome de frecuencia diurna.

La disfunción *moderada* incluye a la vejiga inestable (la más frecuente) y a la vejiga perezosa (micciones infrecuentes).

La vejiga inestable es secundaria a un retraso en la desaparición de las contracciones no inhibidas y se caracteriza porque los pacientes presentan micciones frecuentes, urgencia miccional, incontinencia urinaria diurna (a veces nocturna), posición en cuclillas para evitar los escapes de orina y suele asociarse a estreñimiento. La urodinámica muestra una obstrucción del flujo urinario durante el llenado vesical debida a una contracción voluntaria del esfínter en un intento apropiado de mantener la continencia durante las contracciones no inhibidas del músculo detrusor que se producen en este trastorno (Homsy 1994, Nijman 2001).

La vejiga perezosa muestra en el estudio urodinámico una gran capacidad, distensibilidad normal y no hay contracción del detrusor durante la micción, siendo la prensa abdominal la fuerza motriz de la micción (Homsy 1994).

La *disfunción severa* se acompaña de afectación renal de diverso grado e incluye:

- a) Vejiga neurógena. La mayoría de los casos en niños es secundaria a lesión de vías nerviosas lumbosacras. Da lugar a ITUs de repetición, incontinencia urinaria y fecal, RVU y vejiga trabeculada. Puede presentar cinco patrones urodinámicos, de los cuales uno puede considerarse de bajo riesgo para el parénquima renal. El patrón más grave es el que asocia hiperreflexia del detrusor, baja distensibilidad vesical y obstrucción uretral (disinergia vesicoesfinteriana), con altas presiones intravesicales.
- b) Síndrome de Hinman (vejiga neurógena no neurogénica), caracterizado por

ureterohidronefrosis, RVU, vejiga trabeculada o de lucha, ITUs de repetición, estreñimiento y/o encopresis y va asociada a trastornos psicógenos graves. En el estudio urodinámico presenta una gran capacidad vesical e inestabilidad vesical y durante la micción hiperactividad de la musculatura del suelo pélvico, contracción voluntaria del esfínter externo, con disinergia vesicoesfinteriana (obstrucción urinaria durante el vaciado vesical) y altas presiones vesicales (Koff 1992, Homsy 1994, Nijman 2001).

- c) Síndrome de Ochoa (urofacial), caracterizado por una inversión de la expresión facial durante la sonrisa y severa disfunción vesical. Se hereda con carácter autosómico recesivo. Presentan ITUs de repetición, ureterohidronefrosis, RVU y vejiga trabeculada. La urodinámica muestra contracciones no inhibidas del detrusor y mal vaciamiento vesical, así como presiones elevadas (Homsy 1994, Nijman 2001).

### 3.1.2.e) Diagnóstico de las uropatías: principales técnicas empleadas

#### ◆ Ecografía

Permite diagnosticar las malformaciones renales y ureterales. Aunque la mayoría de los casos de hidronefrosis se diagnostican fácilmente por ecografía, la imagen por sí misma no puede distinguir entre dilatación obstructiva y no obstructiva. Sin embargo, la demostración de hidronefrosis progresiva en exámenes seriados puede sugerir obstrucción (Garat y cols 1987, Koff 1993).

◆ Eco-doppler color y Ecocistografía retrógrada: como ya se ha mencionado anteriormente, mejoran la sensibilidad y especificidad de la ecografía convencional y es una técnica en desarrollo en el momento actual (Hübner y cols 1997).

#### ◆ Urografía intravenosa

Muestra la imagen de las vías urinarias dilatadas por encima del nivel de la obstrucción. Cuando se sospeche uropatía obstructiva se forzará la diuresis con furosemida para ponerla de manifiesto: en caso de obstrucción, el contraste no se elimina en el lado afecto y se observará lavado del mismo en el contralateral (Garat y cols 1987, Koff 1993).

#### ◆ CUMS

Se realiza para identificar un posible reflujo asociado a la uropatía. Con frecuencia es causa de hidronefrosis (Garat y cols 1987, Koff 1993). También permite diagnosticar las válvulas de uretra posterior, que a su vez se asocian a RVU severo.

#### ◆ Renograma isotópico

Consiste en evaluar la captación, excreción renal y eliminación a través de las vías

urinarias de un radiofármaco emisor de radiación gamma. El isótopo más utilizado es el Tecnecio 99 metaestable ( $Tc^{99m}$ ), que se utiliza unido bien al ácido diamino-tetraetil-pentacético (DTPA), excretado por secreción tubular y filtración glomerular, o bien a la mercaptoacetil-triglicina (MAG3), que se excreta casi exclusivamente por secreción tubular (Sheldon y cols 2000). Provee imágenes secuenciales de la distribución del radioisótopo en el riñón durante un período de 20-30 minutos y genera curvas de actividad en función del tiempo sobre cada riñón a fin de demostrar la captación y la excreción del radioisótopo (Sheldon y cols 2000). Está particularmente indicado en el diagnóstico de uropatías obstructivas (Piepsz 2002). Si tras diez minutos de la inyección intravenosa del radiofármaco no se produce eliminación, se administra furosemda. Existen tres patrones distintos de respuesta al diurético que diferencian las estenosis no obstructivas de las obstructivas (Bravo y cols 1991).

◆ Estudio urodinámico y cistomanometría

Se utiliza para diagnosticar la disfunción vesical a través del análisis de la fase de llenado vesical (cistomanometría) y la fase de vaciado vesical mediante el estudio de la secuencia miccional (flujometría y test de presión-flujo).

3.1.2.f) Tratamiento de las uropatías

De modo general, y si no hay asociado reflujo u obstrucción, se adoptará una actitud conservadora con seguimiento clínico y con técnicas de imagen e isotópicas. Asimismo debe aplicarse profilaxis antibiótica para evitar las infecciones asociadas (Koff y Campbell 1992, King 1993).

Si hay obstrucción se procederá a realizar tratamiento quirúrgico: pieloplastia en el caso de las estenosis pieloureterales y extirpación del segmentoestenótico del uréter y reimplantación del mismo en la vejiga en el caso de las estenosis ureterovesicales (Garat y cols 1987, Koff 1993).

El tratamiento del RVU se expuso anteriormente.

Las válvulas de uretra posterior se tratan mediante resección endoscópica. Se realiza un seguimiento periódico para detectar posibles re-estenosis uretrales y un control de la función vesical y renal (Koff 1993, Ross 1996).

El tratamiento conservador de la disfunción vesical está basado en mejorar los hábitos de micción, administrar anticolinérgicos (oxibutinina) que relajan el músculo detrusor y mejoran la sinergia véscico-esfinteriana, y en prevenir la infección urinaria con profilaxis antibacteriana y evitando el estreñimiento. En la vejiga neurógena casi siempre se precisa tratamiento con

anticolinérgicos y cateterismo vesical intermitente (Pedrero y cols 1996).

### **3.2.- La infección del tracto urinario**

Constituye una de las enfermedades infecciosas más frecuentes en el niño y con relativa frecuencia puede dar lugar a nefropatía por reflujo. Diversos estudios han demostrado que el diagnóstico y tratamiento precoz de la pielonefritis aguda disminuye la incidencia de cicatrices ( Winberg y cols 1982, Kassir y cols 2001).

La prevalencia de la ITU varía con la edad y el sexo y es difícil de conocer con exactitud ya que muchas de ellas no son diagnosticadas. Aproximadamente, puede decirse que el 3-5% de las niñas y el 1-2% de los niños presentarán al menos una ITU sintomática a lo largo de su infancia (Jodal y Winberg 1987). La asociación entre ITU y las anomalías del tracto urinario puede ocurrir hasta en el 40-50% de los casos, siendo el RVU la más frecuente (Drachman y cols 1984). El 15-60% de los niños que presentan ITU tienen algún grado de reflujo. Entre el 8 y 13% de los niños con ITU presentan manifestaciones radiológicas de NR. (Bailey 1993).

El germen más frecuentemente implicado en la pielonefritis aguda es el E. Coli. Representa el 90-95% de las etiologías. El Proteus o la Pseudomona son más probables en infección nosocomial y en pacientes con anomalías subyacentes del tracto urinario (Espinosa y Navarro 1998).

Entre los factores de virulencia del E. Coli se ha demostrado que algunas cepas están provistas de fimbrias tipo P, que se adhieren a receptores específicos uroteliales y son capaces de ascender por el uréter, en presencia o en ausencia de RVU. Estos gérmenes liberan endotoxinas (Polisacárido del Ag O) que anulan la peristalsis ureteral produciendo dilatación del uréter y aplanamiento de las papilas con el consiguiente reflujo intrarrenal y adherencia de las bacterias a los túbulos renales (Barajas 1997).

La respuesta inmunológica del organismo a la ITU es compleja y está influenciada por distintas variables: la edad, el lugar de la infección, la exposición previa al mismo germen y la virulencia del germen invasor. El daño renal permanente puede ser causado más por la respuesta inflamatoria del tejido renal que por el organismo invasor en sí mismo (Espinosa y Navarro 1998).

Una vez que la bacteria se ha inoculado en el parénquima renal se inicia una respuesta inflamatoria e isquemia, con producción (entre otras sustancias) de superóxidos que destruyen las células. La infiltración celular produce un diverso repertorio de productos lesivos que



incluyen citocinas, factores de crecimiento, autacoides, radicales libres de oxígeno (O<sub>2</sub>) y endotelina-1 (ET-1), entre otros (Ong 1996). Estas sustancias pueden ejercer efectos vasculares y tóxicos que producen una isquemia local, favorecen las lesiones tubulares e incrementan la síntesis de componentes de la matriz extracelular en el intersticio. El resultado final es la expansión de la MEC, la fibrogénesis y la atrofia celular. (Mahan y cols 1994).

Se ha observado que los niños que presentan determinados fenotipos de los grupos sanguíneos (especialmente el fenotipo P<sub>1</sub> y receptor glicolípidico) pueden tener NR en ausencia de reflujo demostrable. (Steinhardt 1985).

En el trabajo de Köhler sobre una serie de 115 pacientes con RVU y NR entre 16 y 60 años, en el que se determina la incidencia de ITU, hipertensión, dolor lumbar y litiasis, se pone de manifiesto el hecho de que haber presentado la primera pielonefritis aguda a edad temprana (3-4 años), es un importante factor para el desarrollo de NR. (Köhler y cols 1997).

### **3.3.- Factores genéticos**

Actualmente sigue siendo motivo de debate la etiología de la nefropatía por reflujo debido fundamentalmente a que no todos los pacientes con RVU, incluso los severos, desarrollan cicatrices renales; del mismo modo que muchos niños con cicatrices renales no presentan RVU. (Bailey 1992, Barajas 1997).

En los últimos años empiezan a adquirir relevancia los factores genéticos en la etiología y patogenia de la NR, comenzando a aparecer numerosos trabajos en este campo.

Son muchas las enfermedades renales que conducen a inflamación y fibrosis intersticial tubular, independientemente de su etiología. Se postula que cuando el tejido se altera existen cambios en los mecanismos de transcripción de determinados genes implicados en la inflamación y el desarrollo de fibrosis. Ejemplo de esto es la alteración de la transcripción del factor Kappa B nuclear (NF-Kappa B), que regula genes involucrados en la inflamación, la diferenciación y la proliferación celular, durante la obstrucción ureteral. (Morrissey y Klahr 1998).

Las obstrucciones del tracto urinario aumentan la presión hidrostática celular, que conlleva lesión celular, alterándose la expresión de genes. Se produce un desequilibrio entre los factores inhibidores y promotores del crecimiento celular, un aumento en la apoptosis celular alrededor de las nefronas obstruidas que expresan el gen bcl-2, fenómenos de proliferación o hipoplasia celular (gen PAX-2) y de división celular incontrolada (gen PCNA).

En lactantes varones afectados de NR, que tuvieron su primera ITU a edad muy temprana, con

RVU grado III o IV, se han observado polimorfismos génicos en el material situado en el cromosoma X, como el gen de la angiotensina 2 (AT2).

También se han observado polimorfismos génicos en familias con RVU que afectan a zonas donde están los genes PAX2, RET y el gen del receptor del factor de crecimiento fibroblástico tipo II.

Los polimorfismos génicos desencadenantes de displasia renal primaria y muerte celular precoz producen fenómenos obstructivos que interfieren en la expresión de genes y en el desarrollo tisular normal, lo cual a su vez provoca más lesión tisular, que se traduce en las alteraciones morfofuncionales de la nefropatía por reflujo en ausencia de ITU previa. (Baraibar y Porta 2000).

En el desarrollo de las anomalías congénitas del riñón y del tracto urinario se han implicado defectos en múltiples genes. Uno de los más estudiados es el gen que codifica el receptor de la AT2 (Pope y cols 2001).

Recientemente se ha estudiado la relación existente entre mutaciones y alteración en la expresión de determinados genes y la aparición de malformaciones en dos síndromes conocidos:

- En el síndrome renal-coloboma, en el cual aparece una mutación en el factor de transcripción PAX-2, responsable del trastorno en el crecimiento renal.
- En el síndrome de Kallman, en el que la mutación en una molécula de señalización celular se asocia a ausencia del tracto urinario. (Wolf 2000).

Los genes PAX son los más estudiados. Codifican un factor de transcripción ligado al DNA cuya expresión es esencial para el desarrollo del epitelio renal. Se asocian con mutaciones en ratones y en humanos. Tanto la ganancia como la pérdida de mutaciones funcionales en el ratón demuestran la importancia del PAX-2 en la diferenciación de células precursoras del mesénquima metanéfrico al epitelio tubular diferenciado de la nefrona.

Portadores humanos de un alelo mutante del PAX-2 presentan hipoplasia renal, coloboma del nervio óptico y RVU.

En determinadas enfermedades renales displásicas y en aquellas en que existe proliferación continua de las células renales epiteliales se ha constatado una expresión anómala persistente del gen PAX-2.

La alteración en la expresión del gen PAX-2, tanto por exceso como por defecto, puede ser determinante en la iniciación y progresión de enfermedades renales marcadas por aumento o disminución de la proliferación celular (cicatrización o hipoplasia). (Dressler y Woolf 1999).

En el trabajo de Ozen y cols, en niños con NR se estudia la influencia del polimorfismo de delección e inserción del gen que codifica la enzima convertidora de la angiotensina 1 (ECA-1) y de otros marcadores polimórficos del sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (RAA) y del inhibidor del activador del plasminógeno 1 (PAI-1) sobre el desarrollo de la cicatriz renal. Estudian la ECA, el gen de la ECA y los siguientes polimorfismos: el del receptor de la angiotensina 1 (AT-1) A1166C, AT M235T y PAI-1 4G/5G en niños con NR y sin ella. Obtuvieron los siguientes resultados: en el grupo de niños con NR los pacientes homocigotos para el alelo DD de la AT fueron significativamente más numerosos que en los que no tenían cicatriz. No hallaron correlación entre los pacientes homocigotos para el alelo DD y la presencia de HTA, IR, proteinuria o sexo. Tampoco encontraron correlación entre los polimorfismos AT1, AT y PAI-1 con el desarrollo de cicatrices. Concluyen que el genotipo DD es un factor de mal pronóstico en la NR. (Ozen y cols 1999).

Sin embargo Park y cols estudian el polimorfismo génico de delección en el gen de la ECA-1 como factor de riesgo de nefropatía crónica y enfermedad cardiovascular, concluyendo que no existe asociación significativa con la NR en niños con RVU. (Park y cols 2000).

Existen suficientes evidencias de la intervención del factor genético en el desarrollo y progresión de la cicatriz renal, aunque actualmente todavía es un campo en desarrollo.

#### **4.- PATOGENIA**

La MEC se compone de glucosaminoglicanos y de una red fibrilar de colágeno intersticial (tipo I, III y VI) y de glucoproteínas (fibronectina y vitronectina). Estas están conectadas a los componentes de la membrana basal, la cual contiene colágeno IV y V, laminina, entactina y tenascina (El-Nahas y cols 1997).

La base patogénica de la NR es la expansión de la MEC y la fibrogénesis.

La progresión del fallo renal se caracteriza histológicamente por glomeruloesclerosis, fibrosis tubulo-intersticial y esclerosis vascular. En el desarrollo de estas lesiones intervienen mecanismos comunes. Así, se han implicado la infiltración del tejido por monocitos, la activación de células renales intrínsecas y la interacción entre ambos. Esta interacción depende de la liberación por estas células de citocinas y factores de crecimiento que están involucrados en la síntesis y depósito de colágeno en la matriz extracelular y en la inhibición de su degradación (El-Nahas y cols 1997).

En modelos experimentales de fibrosis renal crónica en ratas se ha observado la

presencia intrarrenal de inhibidores de proteinasas y de sus receptores derivados del plasma. (Van-Goor y cols 1999). Asimismo en pacientes con enfermedad renal crónica se ha evidenciado una elevación en orina y plasma de proteínas de la MEC (tenascina) y del inhibidor tisular de las metaloproteinasas tipo 1 (TIMP-1) (Hosrtrup y cols 2002).

La fibrosis tubulo-intersticial se caracteriza por la pérdida de túbulos renales y capilares intersticiales y el acúmulo de proteínas de la MEC, como son el colágeno tipo I, III, IV, V y VII, fibronectina y laminina.

En el desarrollo de la fibrosis renal, los fibroblastos intersticiales, los miofibroblastos, los túbulos y las células inflamatorias han sido identificados como fuentes de las proteínas de la matriz.

De estos tipos celulares revisten especial importancia los *miofibroblastos*. Se identifican porque expresan  $\alpha$ -actina del músculo liso (SMA). Su origen es incierto. Se postula que las células epiteliales tubulares desempeñan un importante papel en la fibrosis tubulo-intersticial. Pueden sintetizar colágeno *in vitro* e *in vivo*. Recientes estudios, como el de Ng YY y cols (1998) han demostrado que son capaces de expresar de *novo* una proteína específica de los fibroblastos (FSP-1) en modelos de nefritis de ratón, lo cual aporta evidencias fenotípicas acerca de su capacidad de diferenciarse a fibroblastos. También se identifica la presencia de microfilamentos de actina característicos y cuerpos densos en las células epiteliales tubulares transformadas. Encuentran correlación significativa entre el número de células epiteliales tubulares SMA positivas y la severidad de la fibrosis intersticial. Los autores llegan a la conclusión de que los miofibroblastos son células epiteliales tubulares diferenciadas y que la rotura de la membrana basal tubular facilita el contacto de las células epiteliales con la MEC, promoviendo así el proceso de diferenciación (Ng y cols 1998).

En la expresión de la SMA por los fibroblastos renales pueden intervenir tanto las células sanguíneas como las proteínas de la MEC (Lewis y Norman 1998).

Los miofibroblastos son activados por los macrófagos y producen proteínas de la MEC. Nakatsuji y cols (1998), investigan la relación entre la infiltración por macrófagos y el desarrollo de miofibroblastos en la nefropatía crónica progresiva de ratas macho F344. Concluyen que tanto los macrófagos como los miofibroblastos son células clave en la fibrogénesis de la nefropatía crónica progresiva en las ratas.

La progresión de la insuficiencia renal crónica se asocia con la pérdida progresiva de células renales durante el proceso de fibrosis renal. Se ha estudiado el papel de la apoptosis en la

progresión de la IRC experimental y en el desarrollo de la cicatriz renal, concluyéndose que existe un aumento de los fenómenos de apoptosis, cuantificados a través de la tinción para el antígeno de proliferación celular nuclear (Thomas y cols 1998).

Otro factor importante en el desarrollo de la fibrosis renal es la hipoxia. Ésta estimula la producción de MEC y disminuye el “turnover” en los fibroblastos renales con aumento en la producción de colágeno  $\alpha_1$ , disminución en la expresión de las colagenasas y aumento del inhibidor tisular de las metaloproteinasas. También tiene efecto directo sobre la expresión de genes relacionados con la fibrogénesis (Norman y cols 2000).

Existen estudios experimentales que analizan el desarrollo de NR en el feto. Así, Gobet y cols (1998) estudian los mecanismos de NR en modelos fetales de RVU en ovejas. Encuentran adelgazamiento de la corteza renal con estructura renal normal, pequeños quistes subcorticales, médula hipoplásica con tejido mesenquimatoso sustituyendo a los conductos normales y aumento de colágeno en los riñones con reflujo. Concluye que la NR prenatal en riñones fetales afectados de RVU en ovejas se caracteriza por alteración de la regulación del crecimiento renal, maldesarrollo estructural sin displasia manifiesta, exceso de depósitos en la MEC y alteración de la función excretora.

Para su mejor comprensión podemos esquematizar la patogenia de la fibrosis renal en cuatro fases (Eddy 2000):

**4.1) Fase de activación celular**

**4.2) Fase de señalización fibrogénica**

**4.3) Fase de formación de la cicatriz**

**4.4) Fase de destrucción**

**4.1.- Fase de activación celular**

La lesión renal aguda hace que las células tubulares comiencen a producir moléculas que propagan el daño renal, facilitan la inflamación y/o contribuyen directamente a la fibrosis.

Son activadas por varios mecanismos:

- exposición de los túbulos a moléculas bioactivas (transferrina)
- vasoconstricción producida por péptidos vasoactivos (ET-1, Angiotensina II)
- acción de las proteínas quimiotácticas (complemento y citocinas)

Las células tubulares activadas sintetizan a su vez proteínas quimiotácticas que facilitan la migración de monocitos y macrófagos de la circulación a través de los capilares peritubulares. Estos contribuyen directamente a la fibrogénesis.

Como consecuencia del daño, las células tubulares pueden expresar antígenos nuevos que activan la respuesta inmune.

También tienen un efecto profibrótico por sí mismas sintetizando péptidos fibrogénicos.

En el mecanismo de activación de las células tubulares y de la inflamación intersticial es de gran importancia la aparición de los miofibroblastos y la activación de los fibroblastos intersticiales. Estas células están estimuladas por el TGF- $\beta$  (factor de crecimiento transformante beta) y el PDGF-BB (factor de crecimiento derivado de plaquetas recombinante).

En esta fase el daño renal es reversible, pudiendo recuperarse completamente la arquitectura y función renal.

#### **4.2.- Fase de señalización fibrogénica**

Como consecuencia de la activación celular tubular se secretan moléculas y se expresan sus receptores, lo cual conduce al acúmulo de MEC a lo largo de la membrana basal tubular y en el interior del espacio intersticial.

Algunas de estas moléculas son:

- TGF- $\beta$
- CTGF (Factor de crecimiento del tejido conectivo)
- AGT-II
- ET-1
- Otras: PDGF-BB, TNF- $\alpha$  (Factor de necrosis tumoral alfa) e Interleucina 1 (IL-1).

#### **4.3.- Fase de formación de la cicatriz**

Las moléculas fibrogénicas arriba indicadas activan genes que facilitan el acúmulo de proteínas de la MEC en el espacio intersticial. Este acúmulo se produce por aumento de la síntesis de la matriz ó por disminución de su degradación.

Respecto al aumento de la síntesis de componentes de la matriz en el desarrollo de la fibrosis renal progresiva hay un aumento de los componentes habituales de la MEC (colágeno I, III, V, VII y XV y fibronectina) y también aumentan proteínas restringidas a la membrana basal tubular (colágeno IV y laminina). Los miofibroblastos intersticiales son la principal fuente de estos componentes.

Pero también se sintetizan proteínas nuevas que solo están presentes cuando hay un daño tisular renal: variantes de fibronectina y cadenas nuevas de laminina.

La cicatriz intersticial puede ser entendida como una estructura inestable y susceptible de degradación. Con el tiempo se forman puentes de enlace entre sus componentes que añaden

estabilidad y confieren resistencia frente a la actividad de las proteasas dificultándose así su degradación. La familia de las metaloproteinasas son una de las más importantes en este aspecto.

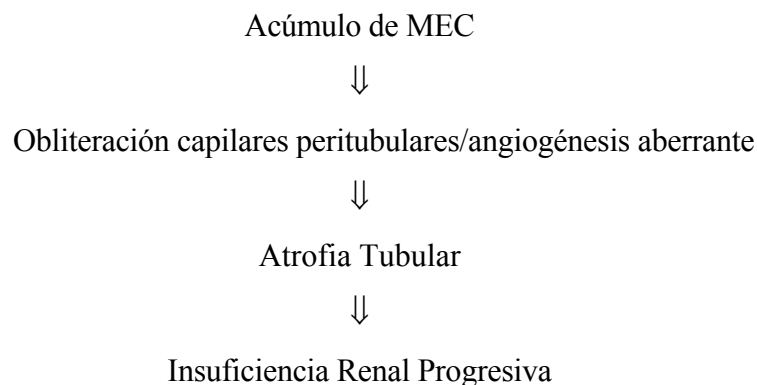
A la vez que se inicia la síntesis de MEC se inactivan las enzimas que regulan su remodelado. Se ha observado en las enfermedades renales progresivas un aumento del TIMP-1 y del PAI-1 secretados por los macrófagos, células epiteliales tubulares y fibroblastos.

#### **4.4.- Fase de destrucción**

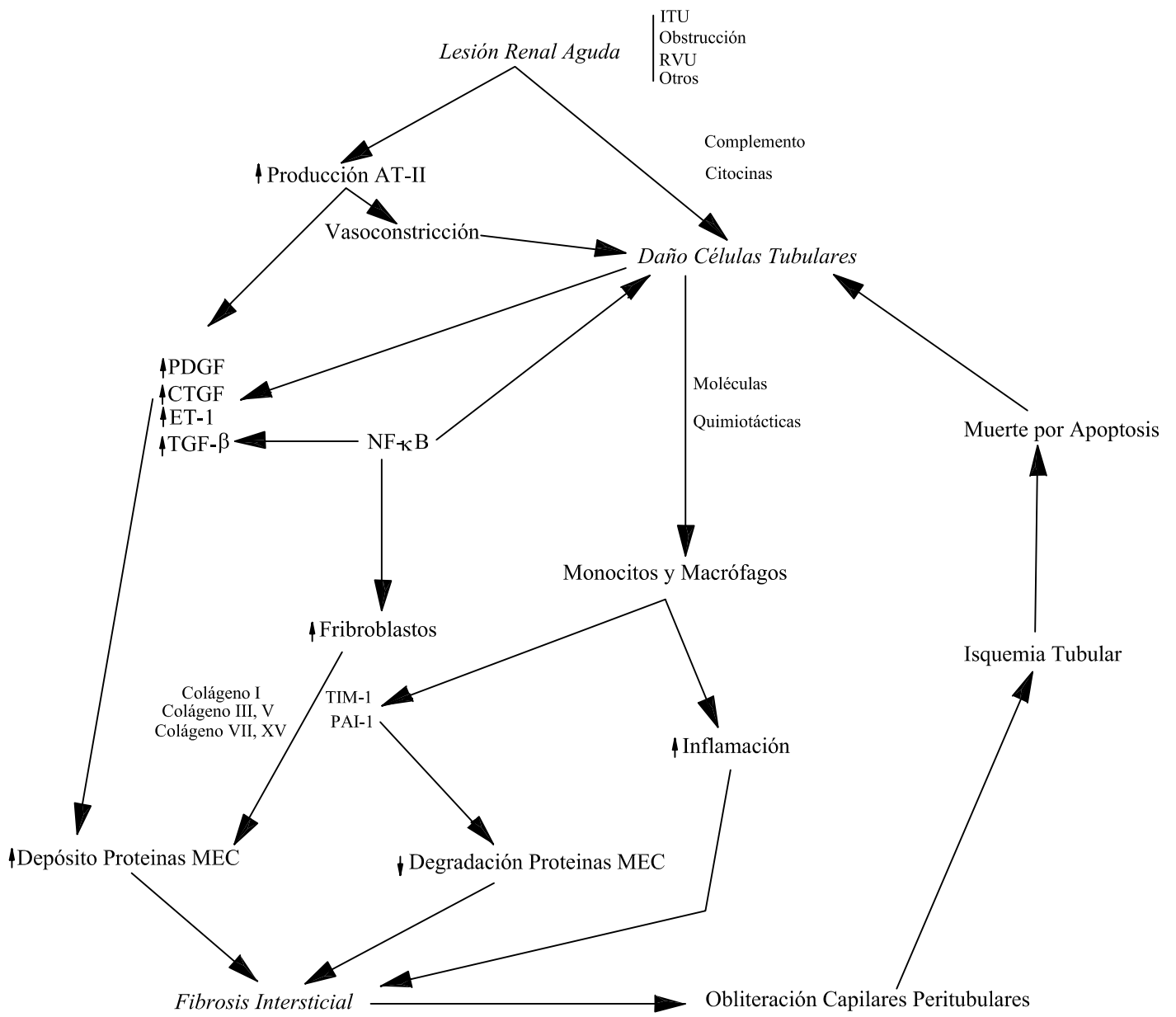
Los túbulos renales son los más afectados por la fibrosis, que ellos mismos contribuyen a iniciar. Este es un dato relevante, teniendo en cuenta que los túbulos constituyen el 80% del volumen renal.

La apoptosis parece ser un mecanismo importante en la muerte de las células epiteliales tubulares.

La isquemia tubular puede perpetuar la muerte celular tubular por apoptosis y/o necrosis. La hipoxia influye en la expresión de genes con consecuencias fibróticas.



La fisiopatología de la NR queda resumida en el Esquema 1.



Esquema 1. Patogenia de la NR



## 5.- ANATOMIA PATOLÓGICA

Histológicamente pueden observarse tres tipos de lesiones en la nefropatía por reflujo (Barajas 1997):

a) Lesiones inflamatorias, producidas por el reflujo intrarrenal (RIR) de la orina infectada.

b) Lesiones de displasia primitivas, producidas por anomalías de la diferenciación del mesonefros en metanefros. Asocian túbulos primitivos a metaplasias cartilaginosas. Esto explica que aparezcan ya lesiones en el primer estudio de recién nacidos con RVU con o sin ITU.

c) Esclerosis glomerular segmentaria y focal que parece ser consecuencia de la reducción nefrónica en las áreas afectadas. Las zonas cicatriciales reducen el número de nefronas y conduce a la hiperfiltración de las restantes, para más tarde aparecer la esclerosis segmentaria y focal. (Steinhardt 1985).

## 6. – DIAGNÓSTICO POR IMAGEN DE NR

El diagnóstico por imagen de la NR se realiza actualmente por Gammagrafía renal con Ácido dimercaptossucínico (DMSA) marcado con  $99^m\text{Tc}$ .

Otras pruebas empleadas son la Urografía intravenosa (UIV) y la ecografía, pero estas han sido desplazadas por la Gammagrafía, la cual es considerada como el “patrón” o técnica de elección (Elison y cols 1992).

### 6.1.- Urografía intravenosa

La UIV ha sido hasta hace pocos años el método de detección estándar de la NR. Se realiza introduciendo en vena un medio de contraste yodado y visualizando su posterior eliminación renal mediante radiografías seriadas.

Se describen dos tipos de hallazgos radiológicos de pielonefritis crónica (Goldraich y Goldraich 1995).

- Contracción localizada del parénquima y alteración de los cálices adyacentes por destrucción del parénquima con retracción de la papila renal.
- Adelgazamiento del parénquima renal, aunque no existan cicatrices y los cálices sean prácticamente normales.

### 6.1.1.- *Ventajas* (Goldraich y Goldraich 1995)

Es la única técnica de imagen que permite el estudio anatómico del sistema pielocalicial.

### 6.1.2.- *Inconvenientes* (Goldraich y Goldraich 1995)

- Se dibuja mal el contorno renal.
- Se necesita un período latente entre 8 meses y 2 años para completar el desarrollo radiológico de la cicatriz.
- Es difícil diferenciar la progresión de la cicatriz de la hipertrofia de áreas normales.
- Pueden interferir factores técnicos como la posición del paciente, los movimientos respiratorios, etc.
- Se administra al paciente una radiación considerable, especialmente si hay que repetirla.
- Otros: alteraciones hidroelectrolíticas, reacciones al contraste yodado, etc.

## 6.2.- **Gammagrafía renal**

Es un método preciso para evaluar el deterioro de la corteza renal durante una pielonefritis aguda y para detectar cicatrices renales (Elison y cols 1992, Goldraich y cols 1983, Piepsz 2002). Se ha considerado en los últimos años como el método ideal para el diagnóstico de la NR (Goldraich y cols 1983, Goldraich y Goldraich 1995).

### 6.2.1.- *Manejo renal del DMSA*

El Tc-DMSA es un trazador cortical que se inyecta por vía intravenosa y se fija lentamente en las células de los túbulos proximales y en la parte superior del asa de Henle. Llega a las células por vía peritubular, fundamentalmente, o por reabsorción del filtrado glomerular en escasa cantidad. Circula fijado a proteínas plasmáticas casi en su totalidad, por lo que su filtración glomerular es mínima. La captación peritubular asciende al 65% y la filtración glomerular al 35%. No está claro si el DMSA filtrado se reabsorbe y contribuye a la captación cortical (Lange y cols 1989).

El 40% de la dosis de Tc-DMSA inyectada se fija a metaloproteínas del túbulo renal proximal a las 3 horas de su administración. Ofrece un claro contorno renal sin interferencias con la actividad del sistema pielocalicial. Esta es la ventaja sobre el  $^{99m}\text{Tc}$ -glucoheptonato, del cual sólo es captado por el riñón el 10% de la dosis inyectada y se excreta en un alto porcentaje al sistema colector, interfiriendo con la calidad de la imagen (Elison y cols 1992).

La captación cortical del DMSA depende del flujo sanguíneo renal y de la integridad de

las células del túbulo proximal.

En caso de disfunción tubular se altera el manejo renal del DMSA y aumenta su excreción urinaria. (Goldraich y cols 1989).

#### 6.2.2.- *Imagen gammagráfica normal (fig B).*

Los dos riñones presentan un tamaño similar.

La captación cortical es homogénea con tres áreas pequeñas de disminución de la captación que corresponden al sistema pielocalical.

No se debe ver actividad DMSA ni en la vejiga ni en otras vísceras.

Se suele ver un aplanamiento del borde superolateral del polo superior del riñón izquierdo que corresponde a la impresión esplénica.

Se pueden observar irregularidades en el contorno de los riñones debido a la lobulación fetal, pero la captación en esas zonas es normal (Majd y Rushton 1992).

#### 6.2.3.- *Diagnóstico gammagráfico de la cicatriz renal*

Las cicatrices renales se observan como zonas de hipofijación del trazador y son la traducción de las alteraciones del flujo cortical y de la función transportadora de la membrana de la célula cortical.

Los hallazgos pueden ser: defectos en cuña en los polos o áreas laterales, aplanamiento del contorno renal, adelgazamientos corticales, múltiples defectos de fijación difusos o riñones disminuidos de tamaño sin áreas de hipofijación.

Estas alteraciones son permanentes en el tiempo, lo cual diferencia la NR de la lesión que se produce en el curso de una PNA. (Goldraich y Goldraich 1995).

#### 6.2.4.- *Clasificación de la NR según el DMSA*

Goldraich la clasifica en cuatro grupos:

- Grupo I: 1-2 cicatrices renales. (Fig.C)
- Grupo II: más de 2 cicatrices con áreas de parénquima renal normal. (Fig.D).
- Grupo III: Daño renal generalizado con atrofia renal y pocas o ninguna cicatriz en el contorno. (Fig.E).
- Grupo IV: Riñón atrófico con captación escasa o sin captación (< 10% de la función renal relativa). (Fig.F).

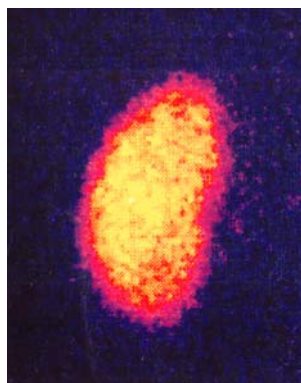
El riñón normal se considera como grupo 0. (Fig.B).

### 6.2.5.- Diagnóstico Gammagráfico de Pielonefritis Aguda (PNA)

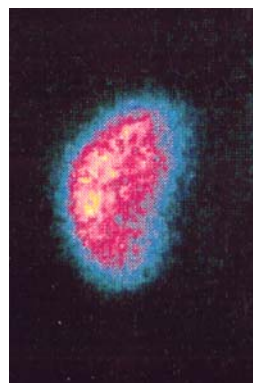
La gammagrafía con DMSA también es útil para el diagnóstico de pielonefritis aguda (PNA), pudiéndose observar cuatro tipos de hallazgos (Wallin y Bajc 1993):

- Defectos polares, en cuña
- Defectos laterales, también con forma de cuña
- Múltiples defectos dispersos
- Riñones hipertróficos sin áreas de disminución de la captación

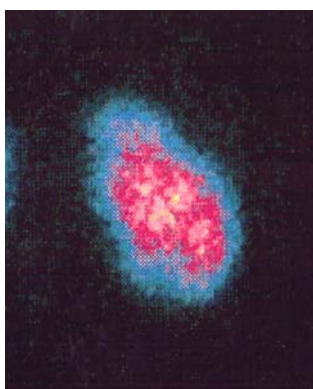
Estas lesiones desaparecen en 3/4 de los casos en el plazo de 6 a 12 meses, sobre todo si no tienen RVU. Si persisten pasado ese tiempo, debemos considerarlas lesiones crónicas o cicatrices renales establecidas. (Martín y cols 2000). Por esto la prueba debe realizarse como mínimo 6 meses después de la última ITU para el diagnóstico de NR.



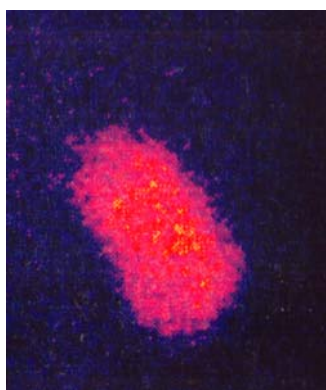
**Fig.B**



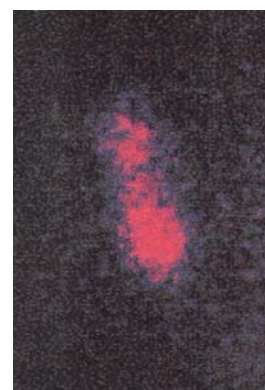
**Fig.C**



**Fig.D**



**Fig.E**



**Fig.F**

#### 6.2.6.- Inconvenientes del DMSA

- Confusión de la cicatriz crónica con la lesión producida por una PNA.
- La disfunción tubular hace que la captación renal del DMSA sea anormal.
- La hipertensión arterial puede producir áreas de hipocaptación, efecto intensificado por el uso de captopril debido a su acción vasoconstrictora a nivel de la arteriola eferente (Peters y cols 1988).
- La afectación global bilateral sin cicatrices focales puede aparentar normalidad

#### 6.3.- Comparación de la UIV y la gammagrafía DMSA

La gammagrafía permite un alto porcentaje de detección de anomalías corticales en relación a la UIV: se detectan más cicatrices con el DMSA que con la urografía.

La sensibilidad de la UIV para la detección de cicatrices renales en el estudio de Merrick y cols (1980), fue del 80 % y la especificidad, del 92 %; para la Gammagrafía fue de un 92 y un 98 % respectivamente. Posiblemente esta elevada sensibilidad de la gammagrafía se deba al hecho de que las alteraciones funcionales de la corteza renal aparecen antes que las lesiones anatómicas. Existe una concordancia del 87% entre las imágenes de la UIV y la gammagrafía para el lugar de la cicatriz (Goldraich y cols 1989).

El actual cuerpo de conocimientos permite afirmar que la gammagrafía es el “patrón”, es decir, la prueba de elección en el diagnóstico de la NR, porque:

- existe reproductibilidad de las zonas de hipocaptación
- hay evidencias de que las zonas de alteración cortical en el DMSA son verdaderas áreas focales de cicatrización (Arnold y cols 1990).

La UIV y la gammagrafía DMSA son pruebas morfofuncionales, si bien la UIV aporta más bien datos morfológicos del sistema colector, los uréteres, la vejiga, la uretra y las estructuras óseas y la gammagrafía aporta preferentemente datos funcionales de la corteza renal (Goldraich y Goldraich 1995).

#### 6.4.- Ecografía

En principio es una atractiva alternativa a estas dos pruebas debido a que es una técnica poco agresiva y no irradia al niño. Existen estudios que encuentran una especificidad y sensibilidad superiores al 70% en cuanto a la aportación de información pronóstica y datos sobre uropatía obstructiva (Bravo 1997). Otros autores encuentran que su sensibilidad es dos veces inferior a la gammagrafía renal (Jacobsson 1992). Pero lo cierto es que presenta importantes inconvenientes, como es el hecho de que es explorador dependiente y que da

muchos falsos negativos (Bailey 1992). El DMSA sigue siendo de elección frente a la ecografía (Elison y cols 1992, Rossleigh y cols 1998).

## **7.- DIAGNÓSTICO DE LABORATORIO DE NR: MARCADORES BIOLÓGICOS DE LESIÓN RENAL**

En la orina de personas sanas se pueden encontrar proteínas. Es lo que se conoce como proteinuria fisiológica.

En condiciones de salud, por los glomérulos pasan 1250 ml de sangre por minuto, de los cuales resultan 180 litros de líquido tubular en 24 horas, por 1.73 m<sup>2</sup> de superficie corporal, con 2mg/L de proteínas. Al terminar el tránsito tubular, el 99% del volumen de líquidos se ha reabsorbido, lo que produce alrededor de 1500 ml de orina con una concentración de proteínas inferior a 300 mg/l (Gordillo 1996).

La casi total ausencia de proteínas en la orina se debe principalmente al filtro glomerular.

Los capilares glomerulares están constituidos por tres capas:

- el endotelio: es la capa interna. Es la primera barrera para las moléculas de mayor tamaño.
- La membrana basal: capa media. Constituida por sialoglucoproteínas y fibras colágenas tipo IV.
- El revestimiento epitelial, con prolongaciones pediculares o podocitos, adheridos a la membrana basal: capa externa.

Las sialoglucoproteínas de la membrana basal, que cubren además los podocitos, poseen carga electrostática que repele a las moléculas proteínicas que también están cargadas negativamente.

Otro factor que explica la ausencia de proteínas en la orina normal es la reabsorción tubular, que se encarga de devolver a la circulación peritubular el 95% de las proteínas que han logrado pasar el filtro glomerular. (Gordillo 1996).

Cuando existe un trastorno a nivel glomerular o tubular hay una mayor eliminación de proteínas por orina.

La presencia de proteinuria refleja el desarrollo de esclerosis glomerular segmentaria y focal (Muley-Alonso 1993 y Torres y cols 1980).

La determinación de la proteinuria es una prueba complementaria de las técnicas radioisotópicas (Ginevri y cols 1992).

Existen grandes diferencias en la composición de la proteinuria según el origen del trastorno, pudiendo distinguirse entre proteinuria glomerular y tubular. En los trastornos glomerulares existe un aumento de la excreción de proteínas de peso molecular elevado, como la albúmina (69.000 daltons) y en los tubulares aumenta la excreción de proteínas de peso molecular bajo, como la  $\beta_2$ -microglobulina (11.800 daltons). El aumento de ésta en las disfunciones tubulares se debe a alteraciones en la reabsorción.

Las cadenas ligeras de las inmunoglobulinas y otras proteínas de peso molecular bajo se comportan como la  $\beta_2$ -microglobulina y la transferrina y las inmunoglobulinas A y G se comportan como la albúmina. (Peterson y cols 1969).

### **7.1.- Marcadores biológicos urinarios de lesión glomerular: microalbuminuria**

La concentración de albúmina en el filtrado glomerular es de 0.1 mg/dl.

Un aumento en la excreción urinaria de albúmina indica casi siempre una alteración glomerular, aunque puede elevarse también en los trastornos tubulares, ya que disminuye su reabsorción tubular (Goonasekera 1996). Para diferenciar la albuminuria glomerular de la tubular se requiere el cálculo del cociente Albúmina/ $\beta_2$ -microglobulina (mg/mg). En el estudio de Peterson (1969), el índice fue de 33-133 en la proteinuria fisiológica, 1-13 en la proteinuria tubular y 1000-14.000 en la proteinuria glomerular.

#### *7.1.1. Causas de proteinuria glomerular*

Las causas que pueden conducir al aumento de la filtración glomerular de las proteínas son variadas:

##### a) Alteración de la pared capilar glomerular:

- Defectos estructurales adquiridos: Glomerulonefritis, S. Hemolítico-Urémico.
- Pérdida de la carga glomerular: Síndrome nefrótico de cambios mínimos
- Anomalías en la composición de la membrana basal: Síndrome de Alport

##### b) Factores hemodinámicos sin que se altere la estructura glomerular:

- Alteraciones en la microcirculación glomerular: proteinuria ortostática, diabetes mellitus en estadio precoz, insuficiencia cardiaca congestiva
- Aumento de las proteínas plasmáticas: transfusión de albúmina o plasma, disproteinemias.

#### *7.1.2.- Definición de albuminuria/microalbuminuria y valores de referencia*

Se denomina albuminuria a la excreción urinaria de albúmina mayor de 300 mg/24 horas y se puede detectar mediante métodos cualitativos [tiras reactivas (Albustix<sup>®</sup>, Labstix<sup>®</sup>)] o

cuantitativos. Estos últimos se realizan en orina de 24 horas mediante reacción de precipitación de proteínas en medio ácido. Si la cantidad excretada es muy pequeña se precisan métodos especiales de medición: radioinmunoensayo, ELISA y nefelometría, entre otros.

La microalbuminuria (MA) se define, en adultos, como la excreción urinaria de albúmina de 20-200  $\mu\text{g}/\text{min}$  o 30-300  $\text{mg}/24\text{h}$  en dos muestras, durante un periodo de 1 a 6 meses. También se define como el índice albúmina/creatinina de 2.5-25  $\text{mg}/\text{mmol}$  o 30-300  $\text{mg}/\text{g}$  (Morgensen y cols 1995).

En niños sanos se han realizado pocos estudios sobre la microalbuminuria. La medición de la MA en orina de 24 horas es el método más fiable, pero en niños su recogida es muy difícil, por lo que se mide en orina aislada (la segunda orina de la mañana) y se relaciona con la creatinina urinaria, para obviar las variaciones de la concentración urinaria (Dalton y Haycock 1994).

Los valores de referencia son:

- Para el índice MA/Cr ( $\text{mg}/\text{g}$ ) (Barajas 1997):
  - \*< de 2 años:  $23.8 \pm 22$
  - \*> de 2 años:  $13.6 \pm 19$
- Para la excreción de MA (Davies y cols 1984):
  - \*niños:  $15 \text{ mg}/\text{m}^2/24\text{horas}$
  - \*niñas:  $23 \text{ mg}/\text{m}^2/24\text{horas}$

### 7.1.3.- *Proteinuria glomerular en la NR*

La aparición de proteinuria en el curso de la NR es un signo de mal pronóstico. Refleja la existencia de una lesión glomerular progresiva (esclerosis segmentaria y focal) en las áreas parenquimatosas no cicatriciales (Bailey 1993, Goonasekera 1996). Por esto para un diagnóstico precoz de afectación glomerular en la NR debe buscarse sistemáticamente la microalbuminuria en todos los pacientes.

### 7.2.- **Marcadores biológicos de lesión túbulo-intersticial**

Las proteínas de bajo peso molecular (<40.000 daltons) atraviesan casi libremente el filtro glomerular y son degradadas a péptidos por las exopeptidasas situadas en la membrana de las células del borde en cepillo del túbulo proximal. Esos péptidos son reabsorbidos en el 99.9% por pequeñas vesículas (endocitosis) y se fusionan en el citoplasma con los lisosomas, donde se hidrolizan hacia aminoácidos. Estos son liberados al torrente sanguíneo a través de la membrana basal y el material no digerido, junto a las enzimas lisosomales pasa a la luz tubular y son



eliminados por la orina. Pequeñas reducciones en la capacidad de reabsorción del túbulo proximal producen importantes aumentos en la excreción urinaria de proteínas de bajo peso molecular (Piscator 1991, Tomlinson 1992).

Los marcadores de lesión tubular mejor conocidos son:

- $\beta_2$ -microglobulina ( $\beta_2$ -M)
- N-acetil-glucosaminidasa (NAG)
- Proteína ligada al retinol (RBP)
- $\alpha_1$ -microglobulina ( $\alpha_1$ -M)

### 7.2.1.- $\beta_2$ -microglobulina

La  $\beta_2$ -microglobulina es de las proteínas de bajo peso molecular que más se ha estudiado. Su peso molecular es de 11.800 daltons. Se filtra completamente por el glomérulo y es reabsorbida en un 99% por las células del túbulo proximal. (Assadi 1996).

Puede ser determinada en muchos fluidos biológicos, incluida la orina, mediante diversos métodos, como el RIA, ELISA, inmunodifusión radial o la nefelometría (Peterson y cols 1969).

Se degrada rápidamente en la orina con un pH < de 6. Si se va a determinar en orina aislada matutina se debe añadir buffer fosfato o hidróxido sódico si el pH es < de 6 o si éste no puede determinarse (Ginevri y cols 1992).

Los valores de referencia en niños son:

- Índice urinario  $\beta_2$ M/cr ( $\mu\text{g/g}$ ) (Barajas 1997):
  - \* <2años:  $257 \pm 158.6$
  - \* >2años:  $99.7 \pm 77.3$
- la excreción diaria es menor de  $250 \text{ ng/min}/1.73 \text{ m}^2$  (Coppo y cols 1993).

Existen evidencias del aumento de  $\beta_2$ -M en pacientes con manifestaciones radiológicas de daño renal. Las PNA también producen un incremento transitorio de la excreción de  $\beta_2$ -M; si se produce cicatriz renal importante, este incremento es persistente (Tomlinson y cols 1994).

Se ha observado una asociación significativa entre los niveles elevados de  $\beta_2$ -M en orina y la presencia de RVU grados IV-V. Las determinaciones seriadas del índice  $\beta_2$ M/Cr podrían identificar a los pacientes con RVU candidatos a presentar disfunción tubular (Assadi 1996).

### 7.2.2.- *N-acetil-glucosaminidasa*

Es una enzima lisosomal que se localiza en los túbulos proximales. Su peso molecular es grande (150.000 daltons aprox.), por lo que no se filtra por el glomérulo. Se utiliza como marcador de lesión del túbulo proximal (Sherman y cols 1983, Assadi 1996, Goonasekera 1996). Su aumento en orina indica lesión tubular (Tomlinson y cols 1994).

En un estudio en adultos que padecieron RVU y NR en la infancia, y que fueron intervenidos del reflujo a través de reimplantación ureteral, se determinaron los niveles de NAG, RBP, Albúmina y la actividad de la renina plasmática. Se llegó a la conclusión de que la NAG se eleva en orina tiempo después (5 años tras la cirugía en el estudio) de la reimplantación ureteral en la NR, independientemente del filtrado glomerular (Goonasekera y cols 1996).

En otro trabajo en niños con RVU y NR la NAG resultó ser menos discriminativa que la RBP (Tomlinson y cols 1994) o la  $\beta_2$ -M (Martinell y cols 1996, Barajas 1997) para detectar la disfunción tubular de la NR.

### 7.2.3.- *Proteína ligada al retinol*

Es una proteína de 21.200 daltons. Actúa como transportador de la vitamina A. El 95% está unida a la prealbúmina en el plasma. Sólo su forma libre es filtrada por el glomérulo y se reabsorbe casi en su totalidad por el túbulo proximal. Una disfunción tubular producirá un aumento de su excreción urinaria, por lo que se considera como marcador de lesión tubular (Piscator 1991).

La excreción urinaria de RBP puede ser interpretada como resultado de necrosis celular o ruptura. (Ginevri y cols 1992).

En el estudio de Tomlinson y cols (1994) se evidenció que los niveles de proteinuria estaban estrechamente relacionados con el tipo de cicatriz: Si era bilateral, la RBP aumentó progresivamente con el grado de NR. Si era unilateral la RBP permaneció dentro de límites normales aunque sea una NR de alto grado. Esto sugiere que las cicatrices unilaterales no contribuyen de manera suficiente como para aumentar la excreción global de RBP. En el propio estudio se sugiere que habría que confirmar estos datos puesto que el grupo de pacientes con cicatriz unilateral es pequeño.

El aumento en la excreción de RBP precede al aumento de la excreción de albúmina, lo cual significa que las alteraciones tubulares son anteriores a las alteraciones glomerulares. La destrucción túbulo-interciliar favorece la hiperfiltración glomerular, mecanismo que contribuye a su vez al aumento de RBP y de NAG por la disfunción tubular. La elevación de la RBP

urinaria parece ser un indicador precoz de progresión de la NR (Tomlinson y cols 1994).

#### 7.2.4.- $\alpha_1$ -microglobulina

Es una microproteína plasmática de 33.000 daltons. Existen tres formas de  $\alpha_1$ -M en condiciones normales en el plasma:  $\alpha_1$ -microglobulina libre, unida a la inmunoglobulina A y unida a la albúmina.

La fracción que se mide en orina es la libre, ya que la  $\alpha_1$ -M-IgA y la  $\alpha_1$ -M-albúmina tienen un tamaño lo suficientemente grande como para no filtrarse por el glomérulo (Weber y Verwiebe 1992).

Es más estable en la orina que la  $\beta_2$ -M al igual que la RBP y la NAG. Weber y cols (1992) congelan muestras de orina a  $-21^\circ\text{C}$  durante 51 días y no encontraron diferencias significativas en la concentración de  $\alpha_1$ -M respecto de muestras frescas.

En ausencia de fallo renal la elevación urinaria de  $\alpha_1$ -M es un indicador de proteinuria tubular. Si se produce disminución del filtrado glomerular sus niveles séricos aumentan, por lo que la elevación de los niveles urinarios en estas condiciones se debe tanto a lesión tubular como a glomerular (Weber y Verwiebe 1992).

Existen varios estudios en los que se estudia su utilidad como marcador pronóstico de NR. Así, el estudio de Ota y cols (1996) en 25 niños con NR revisados periódicamente durante diez años tras la desaparición del RVU encuentra elevación de los niveles urinarios de  $\alpha_1$ -M en 13 pacientes y 9 de ellos mostraron insuficiencia renal o cicatrices renales. Concluyen que esta proteína podría ser utilizada como marcador para predecir el pronóstico de niños con NR.

En otro estudio similar se revisan periódicamente 28 niños con NR 2 años después de la cirugía antirreflujo durante diez años y después de la resolución espontánea del mismo. Se evaluó la función renal y se determinaron la  $\beta_2$ -M, la  $\alpha_1$ -M, la NAG, la MA y se realizó Gammagrafía renal. Se demostró una elevación de la  $\alpha_1$ -M en 12 de los pacientes. La NAG, la  $\beta_2$ M y la MA fueron menos predictivas de fallo renal que la  $\alpha_1$ -M. Por esto los autores concluyen que la elevación urinaria de esta proteína puede predecir el riesgo de alteración de la función renal antes incluso de que aparezca una proteinuria significativa (Konda y cols 1997).

## 8.- NUEVOS MARCADORES DE LESIÓN TÚBULO-INTERSTICIAL

Hay pocos estudios sobre la afectación tubulointersticial en la NR. Sin embargo, en los últimos años se están incrementando los trabajos sobre la excreción urinaria de proteínas de bajo peso molecular, basándose en su participación en el desarrollo de la fibrosis renal progresiva y son ya numerosos los nuevos marcadores de lesión tubular detectados, aunque aún no se utilizan en la clínica diaria (Ota y cols 1996, Konda y cols 1997, Ginevri y cols 1992). Entre ellos se encuentran:

- Endotelina-1 (ET-1)
- Factor de Necrosis Tumoral (FNT)
- Interferón Gamma (IFN- $\gamma$ )
- Molécula de Adhesión Leucocitaria Endotelial-1 (ELAM-1)
- Factor de Crecimiento Epidermoide (EGF)
- Interleucina-2 (IL-2)
- Antígenos del Borde en cepillo (BBA)
- Factor de Crecimiento Transformante del tejido Conectivo
- Interleucina-8 (IL-8)
- Interleucina-6 (IL-6)
- Factor de Crecimiento Transformante- $\beta$  (TGF- $\beta$ )
- Colágeno tipo I, III y IV.

### 8.1.- Endotelina-1

Pertenece a la familia de péptidos de las endotelinas (ET-1, ET-2 y ET-3) y sus receptores (ET<sub>A</sub>, ET<sub>B</sub> y ET<sub>C</sub>).

Desde su descubrimiento en el año 1988 se ha estudiado ampliamente, obteniéndose una serie de conocimientos nuevos (Ong 1996):

- son esenciales para el desarrollo de la cresta neural fetal en tejido derivado de ratón.
- la enzima convertidora de las endotelinas se plantea como importante objetivo terapéutico para modular la síntesis y acciones de las ET.
- La administración en ratas de un antagonista de los receptores de las ET 24 h después de la isquemia renal, revierte la necrosis tubular aguda severa.
- Aunque su principal acción es la regulación del tono vascular se están descubriendo nuevas funciones en tejidos no vasculares: el tubulo-intersticio es el sitio de mayor síntesis y acción de las endotelinas. Estas son mediadoras solubles a través de las

cuales las células tubulares pueden controlar sus funciones de transporte y crecimiento y las de las células cercanas e intersticiales así como regular su propio flujo sanguíneo.

Las células del túbulo contorneado proximal expresan ET-1, mRNA de la ET-2 y secretan péptido E<sub>2</sub>.

#### 8.1.1.- Síntesis tubular

La síntesis tubular de las ET está regulada por los siguientes factores:

- factores celulares tipo-específicos: algunos factores que estimulan la síntesis de ET-1 en el endotelio no tienen efecto sobre la síntesis de ET-1 tubular.
- Óxido nítrico: inhibe la síntesis de ET-1 basal y la de ET-1 hipoxia-inducible.
- Regulación isoformo-específica:

\*la hipoxia estimula la síntesis de ET-1 pero no la de ET-2 en las células del túbulo contorneado proximal.

\*el TGF- $\beta$  es un potente estimulador de la síntesis de ET-1 pero inhibe la de ET-2 en el adenocarcinoma de la línea celular ACHN (Ong 1996).

Se han encontrado receptores de la ET-1 en varios tejidos: cerebro, pulmón y riñón. En este último es donde mayor densidad de receptores se ha encontrado. El receptor tipo B es el subtipo predominante. Se localiza alrededor del glomérulo, de los vasa recta y de las células tubulares e intersticiales.

El receptor tipo A se encuentra en las arterias renales.

#### 8.1.2.- Acciones de las ET:

##### ➔Factor autocrino

- Reguladoras del transporte de sodio
- Autorregenerativas de las células tubulares. Cada receptor media acciones opuestas: los tipo B estimulan la regeneración tubular y los tipo A inducen disfunción tubular.

##### ➔Factor paracrino:

- Regulan el flujo sanguíneo intersticial
- Regulan las funciones de las células intersticiales: la ET-1 estimula la expresión del gen del colágeno tipo I en los fibroblastos renales humanos (probablemente por las células tubulares e intersticiales). Es un factor quimiotáctico de monocitos y mitogénico para líneas de fibroblastos. Un prolongado aumento en la síntesis de la ET-1, como ocurre en la nefrosis o isquemia crónica, podría conducir a proliferación

de fibroblastos, depósitos de MEC e infiltrado de células inflamatorias (Ong 1996).

La ET-1 humana induce glomeruloesclerosis, fibrosis intersticial y quistes renales, que conducen a fallo renal (Hocher y cols 1998).

Se ha visto que la inhibición del óxido nítrico mediada a través de la estimulación del receptor de la ET-1 induce activación precoz del gen del colágeno tipo I en la arteriola aferente y el glomérulo, lo cual favorece el desarrollo de fibrosis tubulointersticial. (Chatziantoniou y cols 1998).

Existen estudios en los que se evidencia un aumento de la ET-1 urinaria en niños con NR. Así, en el estudio de Barajas (1997) en niños menores de 2 años se incrementó significativamente el índice ET-1/cr urinaria tanto en niños con RVU de grado severo como en las lesiones renales moderadas-severas frente a los controles y fue más sensible que el índice  $\beta_2$ /cr.

### **8.2.- Factor de Necrosis Tumoral (TNF)**

Es una citocina implicada en numerosas funciones.

Se ha observado que durante la obstrucción ureteral unilateral, en el riñón obstruido se produce fibrosis túbulo-intersticial mediada por el TNF- $\alpha$ . Este contribuye en parte a los cambios que se producen en el volumen intersticial, a la diferenciación de los miofibroblastos y a la activación del gen NF-Kappa B.

Estos efectos son mediados por los receptores del TNF 1 y 2, sobre todo por el TNF-R1. La angiotensina II parece estimular los efectos fibroblásticos del TNF- $\alpha$ . (Guo y cols 1999).

### **8.3.- Interferón- $\gamma$**

Recientemente se ha constatado que esta citocina tiene un efecto renoprotector.

En estudios experimentales en ratas nefrectomizadas se ha comprobado que tiene un fuerte efecto inhibitor sobre la transformación de los fibroblastos en miofibroblastos, disminuyendo así el desarrollo de fibrosis renal, cuando se le administra en dosis de 400U/día. Se plantea así su posible uso como agente terapéutico. (Oldroyd y cols 1999).

#### **8.4.- Molécula de Adhesión Leucocitaria Endotelial-1 (ELAM-1)**

También es conocida como E-selectina. Pertenece a la familia de selectinas de las moléculas de adhesión.

Es una citocina inducible por el receptor de las células endoteliales. Tiene 115 kilodaltons de peso molecular. Es expresada preferentemente por las vénulas postcapilares, que es el primer sitio de extravasación de los leucocitos durante la respuesta inflamatoria.

La expresión de ELAM-1 en la superficie de las células endoteliales se considera como un marcador de activación celular endotelial. Es un importante factor en la adhesión de granulocitos, monocitos y células T CD4 memoria al endotelio activado.

En un estudio se determinaron los niveles circulantes de ELAM-1 en suero de niños con RVU y se estudió su relación con el desarrollo de NR. Se encontraron niveles más altos de ELAM-1 en niños con RVU que en los controles y si presentaban cicatrices los niveles eran considerablemente mayores que si padecía reflujo sin NR. Se concluyó que los niveles séricos de ELAM-1 reflejan el aumento del daño tisular en niños con RVU probablemente como consecuencia de la progresiva respuesta inflamatoria. (Kobayashi y cols 1997).

#### **8.5.- Factor de Crecimiento Epidermoide (EGF)**

Es un polipéptido que promueve la proliferación de varias células. Es producido en distintos órganos, incluido el riñón y se han encontrado altas concentraciones en orina. El riñón expresa niveles importantes de pre-profactor de crecimiento epidérmico y de mRNA-EGF. El pre-pro factor de crecimiento epidérmico y el propio EGF se localizan exclusivamente en la rama ascendente del asa de Henle y en el túbulo contorneado distal.

En un estudio se encontraron varias correlaciones significativas negativas entre la creatinina sérica y el EGF urinario y positivas entre el aclaramiento de creatinina y el EGF urinario en pacientes con distintas enfermedades renales. (Mattila y cols 1986).

Se sabe que la  $\alpha_1$ -M aumenta en la NR debido a la isquemia tubular causada por la cicatriz renal, con la consiguiente destrucción tubular proximal. Pero también aumenta debido a la hiperfiltración relativa de las nefronas remanentes causada por la pérdida de nefronas funcionantes durante la progresión de la cicatriz renal. La excreción urinaria de EGF depende de la masa de nefronas funcionantes. La elevación conjunta de  $\alpha_1$ -M y de EGF, debe hacer pensar que el mecanismo implicado en la elevación de la alfa1-microglobulina es la pérdida de nefronas funcionantes. Se ha sugerido que los pacientes con niveles elevados de  $\alpha_1$ -M urinaria y niveles bajos de EGF en orina tienen un riesgo importante de progresión hacia un estadio

terminal de NR (Konda y cols 1997).

### **8.6.- Interleucina-2**

El receptor de la IL-2 sérica soluble es un marcador sensible y cuantitativo de la activación de los linfocitos.

En un estudio en niños con NR se encontró correlación positiva entre los niveles de creatinina (sérica) y  $\beta_2$ -M,  $\alpha_1$ -M y MA (urinarias) y el receptor sérico soluble de la IL-2; se encontró correlación negativa entre la captación en el DMSA y el receptor de la IL-2.

Concluyen que la elevación de los niveles séricos del receptor de la IL-2 soluble refleja la presencia de células T activadas en los riñones de pacientes con NR y que éste se podría considerar como factor pronóstico en la progresión del daño renal en estos niños. (Konda, y cols 1998).

### **8.7.- Antígenos del Borde en Cepillo (BBA)**

La determinación urinaria de los BBA se ha propuesto como índice específico precoz del daño tubular en sujetos expuestos a nefrotoxinas.

El uso combinado de los BBA, las proteínas de bajo peso molecular y la microalbuminuria pueden ayudar a clarificar la naturaleza y extensión del daño tubular en niños con RVU. (Ginevri, 1992).

El aumento de BBA en orina indica ruptura o turnover celular en el segmento renal que contiene borde en cepillo, por lo que la inclusión rutinaria de test urinarios para detectar BBA permitiría definir mejor aquellos procesos que inducen defectos reversibles en el riñón. (Ginevri y cols 1993).

### **8.8.-Factor de Crecimiento Transformante del Tejido Conectivo (CTGF)**

Pertenece a la familia CCN de genes de respuesta precoz inmediata.

Su expresión está aumentada en el glomérulo y el túbulo-intersticio en enfermedades renales asociadas a cicatrices y esclerosis del parénquima renal.

El CTGF recombinante humano aumenta la producción de fibronectina y colágeno IV por las células mesangiales (Gupta y cols 2000). Se asocia con el desarrollo y progresión de la fibrosis intersticial crónica.

La proximidad de la expresión del mRNA del CTGF, TGF- $\beta$  y PDGF a las células epiteliales regenerativas y a aquellas que se diferencian a miofibroblastos sugieren que los factores de crecimiento modulan la diferenciación epitelial del túbulo renal. (Frazier y cols 2000).



Se ha observado que la hiperglucemia tiene efecto sobre la expresión de CTGF por las células mesangiales y la producción de MEC. Estas acciones se inhiben por la acción de anticuerpos anti-TGF. De aquí el planteamiento del CTGF como objetivo terapéutico en la enfermedad renal fibrótica (Gupta y cols 2000).

### **8.9.- TGF- $\beta$ 1 (Factor de crecimiento transformante beta)**

El TGF- $\beta$ 1 es uno de los principales factores fibrogénicos en numerosas enfermedades (Phillips y cols 1997). Se considera el mediador más importante de la progresión de la fibrosis crónica renal en modelos experimentales y en humanos (Peters y cols 1997, Eddy 2000).

#### **a) Biología del TGF- $\beta$**

Pertenece a una superfamilia formada por más de 25 moléculas, aisladas de muchas especies. El principal subgrupo incluye tres isoformas:  $\beta$  1, 2 y 3. Las células de los mamíferos producen principalmente  $\beta$ 1.

Los TGF- $\beta$  maduros son polipéptidos homodiméricos de 25 KD de peso molecular. Se sintetizan y secretan como pro-péptidos inactivos. El TGF- $\beta$  latente puede formar complejos con proteínas transportadoras (LTBP) de distintos sitios.

Después de su secreción las moléculas latentes son fragmentadas proteolíticamente a formas maduras. La plasmina (in vivo) podría contribuir a esta activación.

Es producido por varios tipos celulares. La fuente principal son las plaquetas, hueso, riñón, pulmón y placenta.

La expresión de los receptores es ubicua. Cada tipo celular responde al TGF de manera específica (Kitamura y Sütö 1996).

#### **b) Mecanismo de actuación del TGF**

Las acciones biológicas del TGF son mediadas por los receptores tipo I y II. Son proteínas kinasas. El TGF se fija al receptor tipo II y el tipo I es fosforilado (Kitamura y Sütö 1996, Choi Me 2000). El mecanismo de actuación posterior no está bien aclarado. Aportaciones recientes implican a una proteína K mitogénica activa como señalizador más importante (Choi Me 2000). También se postula que el receptor tipo I activo fosforila proteínas citoplásmicas de la familia SMDA: las proteínas SMDA 2 y la 3 ejercerían un feedback positivo sobre el TGF- $\beta$  y la 6 y 7, negativo (Eddy 2000).

En modelos experimentales de nefropatía diabética se ha observado un aumento en la expresión del receptor tipo II, lo cual apoya la importancia del TGF en el deterioro de la función renal (Hill y cols 2000).

## c) Acciones biológicas del TGF

Tiene un amplio rango de acciones en las células de los mamíferos: control de la proliferación celular, adhesión, migración y cambios fenotípicos y puede tener efectos estimuladores o inhibidores sobre la órgano/embriogénesis. Se considera un factor inhibidor del crecimiento celular (Kitamura y Sütö 1997, Branton y Kopp 1999).

## d) Acciones profibróticas:

Favorece el depósito de MEC estimulando la síntesis de las proteínas de esta, disminuye la síntesis de proteinasas y aumenta la síntesis de las proteinasas (TIMP-1) (Kitamura 1997, Branton 1999).

Aumenta la expresión de integrinas que facilitan el ensamblaje de las proteínas matriciales, confiriendo así estabilidad a la cicatriz (Border y Noble 1998).

Asimismo estimula la producción del inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1); éste contribuye a la activación de metaloproteinasa que degradan la MEC (Kitamura y Sütö 1997, Eddy 2000).

Esta acción profibrótica ha sido ampliamente estudiada en los últimos años, siendo numerosas las evidencias científicas de la misma en la literatura.

Así, se ha observado que en las lesiones túbulo-intersticiales producidas en ratas tras la administración de cloruro mercurico existe una inmunorreactividad positiva para el TGF- $\beta$ 1 en las células descamadas del epitelio tubular y posteriormente en las células mononucleares (Suzuki y cols 1999).

En un modelo de fibrosis renal crónica inducida en ratas tras la inyección con bromoetilamina durante los días 1, 2, 3, 7 y 30 del mes se produjo un aumento en la expresión del TGF- $\beta$ 1 y una disminución de la actividad gelatinolítica (Suzuki y cols 1999).

Durante el seguimiento a largo plazo de la obstrucción ureteral unilateral inducida en ratas se produce fibrosis intersticial, en la cual se observa un aumento del TGF- $\beta$ 1 en los túbulos renales proximales así como un aumento del número de miofibroblastos y macrófagos (Llámate y cols 1999). Asimismo tras la obstrucción ureteral crónica se detectó una expresión desigual de los receptores I y II del TGF- $\beta$ 1 y 2 en la médula tanto de los riñones obstruidos como de los no obstruidos. Esto apoya la contribución del TGF a la respuesta fibrótica en los riñones obstruidos y en la respuesta hipertrófica compensadora del riñón contralateral (Sutaria y cols 1998).

En el trabajo de Kaneto y cols (1999) sobre riñones humanos con obstrucción se observó un aumento de la expresión del mRNA del TGF- $\beta$ 1 en el intersticio renal.

Se ha observado que en la nefropatía crónica del trasplante renal la secreción urinaria del TGF- $\beta$ 1 está aumentada y se asocia a hipertensión, a mayor grado de fibrosis intersticial y a mayor riesgo de progresión hacia insuficiencia renal del trasplante (Boratynska 1999).

e) Acciones protectoras contra el daño tisular

A niveles fisiológicos el TGF- $\beta$ 1 interviene en los fenómenos de reparación tisular y en el mantenimiento de las funciones orgánicas. Cuando está aumentada su producción aumenta la fibrogénesis.

Algunas de estas acciones son:

- supresor autocrino de tumores e inhibición de la aterosclerosis
- inhibidor de la adhesión leucocitaria
- inhibe la producción del óxido nítrico
- inmunosupresor endógeno: inhibe la proliferación de los linfocitos B y la secreción de inmunoglobulinas, interviene en la desactivación de los macrófagos. (Kitamura y Sütö 1997).

f) Interrelación del TGF- $\beta$ 1 con otros factores

1) Numerosos factores estimulan la producción de TGF- $\beta$ 1 (Eddy 2000):

- Angiotensina II: se ha observado que el bloqueo de la AGT-II disminuye la producción del factor (Peters y cols 1997). Los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina disminuyen su expresión (Border y Noble 1998, Shin y cols 2000). Se ha observado un importante papel de la AGT-II en el desarrollo de la fibrosis renal a través de la estimulación del TGF- $\beta$ .
- PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas): estimula la producción de TGF por las células del túbulo contorneado proximal (Phillips y cols 1997).
- La ET-1, la glucosa, la isquemia, la insulina, factor natriurético atrial y fármacos, como la ciclosporina también aumentan la producción del TGF- $\beta$  (Han y cols 1999, Eddy 2000).
- También puede inducir su propia expresión.

2) Factores que disminuyen su producción:

- Colesterol HDL (Boratynska 1999)
- LPA (peptide associated latency TGF- $\beta$ ) (Eddy 2000)

3) Estimula la producción del bFGF (factor de crecimiento de los fibroblastos básico) a través de la estimulación de la citocina preformada desde el interior de las células (Jones y cols 1999).

g) Futuras perspectivas del TGF- $\beta$  como factor terapéutico

Dado el importante papel que tiene este factor en el desarrollo de la nefropatía por reflujo, el uso de factores que inhiben síntesis o bloquean su acción es un campo en desarrollo en el momento actual.

Se están desarrollando terapias génicas que neutralizan el TGF- $\beta$  (Peters y cols 1997).

Se ha empleado un anticuerpo monoclonal (1D11) en modelos experimentales renales con obstrucción ureteral unilateral. Se encontró que el anticuerpo aumentó la regeneración tubular, lo cual hace que se considere un agente prometedor en la prevención de la fibrosis tubular (Miyajima y cols 2000).

Igualmente el bloqueo de la AGT-II y la dieta baja en proteínas son otros factores terapéuticos en desarrollo (Peters y cols 1997).

Aún son necesarios muchos más estudios en esta área.

### **8.10.- Colágeno**

a) Biología del colágeno

Es la proteína estructural más abundante del organismo y está presente en más del 60% de los tejidos, incluyendo el intersticio renal. La familia de las proteínas del colágeno está formada por 19 moléculas distintas (Farreras y cols 2000). (a)

Existen dos tipos de colágenos: fibrilares (I, II, III) y globulares (IV).

El colágeno tipo I es el más abundante y se encuentra formando fibrillas. Está compuesto por dos cadenas  $\alpha$  idénticas, la 1(I) y la 2(I). El colágeno tipo II está formado por tres cadenas idénticas llamadas  $\alpha 1$  (II). El colágeno tipo III, el tercer colágeno fibrilar en abundancia, está formado por tres cadenas  $\alpha$  iguales denominadas  $\alpha 1$  (III).

Los colágenos fibrilares se sintetizan previamente en forma de precursores más grandes y solubles, llamados procolágenos, constituidos por secuencias de aminoácidos llamados propéptidos, que se localizan en los extremos N y C de las cadenas pro $\alpha$  de los procolágenos (Harrison y cols 1994).

El principal componente de la membrana basal glomerular es el colágeno tipo IV, aunque también los tipos I y II son importantes. Están constituidos por unidades estructurales o protómeros, unidos entre sí por sus extremos formando una red. Cada protómero se compone de tres cadenas  $\alpha$  entrelazadas. Hay seis subtipos: a1- a6. (Farreras y cols 2000) (a).

b) Su papel en la NR

Como ya se ha expuesto anteriormente el depósito intersticial de colágeno es un paso fundamental en la patogenia de la NR y son muy numerosos los factores que van a intervenir.

La iniciación y progresión de la fibrosis renal viene determinada por la expresión y el depósito de colágeno (Liu y cols 2001).

Se ha observado que la ciclosporina A induce la síntesis del colágeno tipo III a través de la activación del promotor del gen Col 3 A1 y el aumento del mRNA del mismo (Oleggini y cols 2000).

La AGT-II tiene un efecto fibrogénico directo estimulando la síntesis de colágeno. In vitro tiene un efecto dosis-dependiente sobre la expresión del mRNA del colágeno  $\alpha 1$  (III) activando al promotor del colágeno  $\alpha 1$  (III) en miofibroblastos (Ghiggeri y cols 2000).

En el estudio de Gagliano y cols (2000) se investigan los genes del procolágeno  $\alpha 2$  (I) (COL-I),  $\alpha 1$  (III) (COL-III), TGF- $\beta 1$  y 3, el colágeno tipo III, la hidroxiprolina y proteinasas (metaloproteinasa 1 y 2, MMP 1 y 2) de la matriz durante el envejecimiento renal en ratas, ya que la fibrosis progresiva es una marca histológica del mismo. Encuentran que existe un acúmulo del gen COL-1 que permite explicar la fibrosis renal desarrollada durante este proceso de envejecimiento.

En modelos experimentales de fibrosis renal en ratas se ha observado que hay una disminución de la actividad enzimática de la MMP-9 y 1, debido a su interacción con el TIMP-1, lo cual explica el aumento de los depósitos de colágeno durante la evolución de la fibrosis renal intersticial (González-Ávila y cols 1998).

Se ha comprobado que existe un aumento de la expresión de HSP 47 (proteína fijadora del colágeno shock caliente 47) en los procesos fibróticos de varios órganos, incluido el riñón. El aumento en la expresión de HSP 47 se asocia con daño renal y la restricción dietética altera la expresión de esta proteína, asociándose a fibrosis renal (Razzaque y cols 1999, Liu y cols 2001).

Se ha utilizado el colágeno tipo IV urinario como indicador de la progresión de la nefropatía diabética. Se ha observado la existencia de un aumento de la producción y degradación del colágeno tipo IV en la nefropatía diabética que hace que aumente la concentración urinaria de colágeno. También se ha visto que el colágeno tipo III y tipo I puede estar implicado en la patogénesis de la neuropatía y la retinopatía proliferativa en la diabetes tipo I (Arkkila y cols 2001).

Asimismo se ha comprobado que la determinación del procolágeno tipo III (PIII) sérico

y urinario puede ser indicador útil de la extensión de la fibrosis renal y puede utilizarse como marcador de la progresión del daño renal (Soylemezoglu y cols 1997).

c) Acciones del TGF- $\beta$ 1 sobre la síntesis del colágeno

Uno de los factores que regulan la expresión genética del colágeno que más se han estudiado es el TGF- $\beta$ 1.

En un estudio en ratones transgénicos se ha observado que el TGF- $\beta$  aumenta la expresión de codones de mRNA del colágeno tipo I y III y favorece los depósitos de colágeno en el mesangio, los capilares glomerulares y el intersticio (Mozes y cols 1999).

Se ha encontrado que la hiperglucemia estimula la proliferación celular y la síntesis de colágeno tipo I por las células del túbulo proximal a través de la activación del mRNA que codifica al TGF- $\beta$  (Han y cols 1999).

Se han llevado a cabo pocos estudios en humanos sobre la regulación de la transcripción del colágeno. Uno de ellos es el de Bertelli y cols (1998), que investiga la regulación de la transcripción del colágeno tipo III y V en humanos por el TGF- $\beta$  y otras citocinas. Encuentra que aumenta la expresión del colágeno tipo III por las células epiteliales tubulares y los fibroblastos renales, a través de la activación de los promotores COL 3A1 y COL 5A2 y también aumenta la estabilidad del mRNA para los dos tipos de colágeno.

Otro estudio en humanos encuentra que el TGF- $\beta$  induce la expresión del mRNA del colágeno  $\alpha$ 1 (IV),  $\alpha$ 1 (III) y  $\alpha$ 1 (I) directamente o a través de moléculas reguladoras (Poncelet y Schnaper 1998).

### **8.11.- Interleucinas-6 y 8**

a) Biología

En los últimos años se han identificado una serie de citocinas con características bioquímicas comunes y que poseen propiedades quimiotácticas para los leucocitos. Por ello reciben el nombre genérico de *quimiocinas*.

Son proteínas de bajo peso molecular producidas por muchos tipos celulares en respuesta a estímulos exógenos (toxinas, patógenos) o endógenos (IL-1, TNF- $\alpha$ ). La característica bioquímica de estas moléculas es la conservación de cuatro residuos de cisteína que se unen formando dos puentes disulfuro esenciales para la actividad de la molécula.

Dependiendo de si las dos primeras cisteínas están o no separadas por otro aminoácido se han subclasificado en *quimiocinas CXC* (cis-X-cis), también llamadas quimiocinas  $\alpha$ , y *quimiocinas CC* (cis-cis) o quimiocinas  $\beta$ .

La molécula más representativa de la familia CXC de quimiocinas es la IL-8. Es segregada por todos los tipos de leucocitos, así como por otros muchos tipos celulares (fibroblastos, células endoteliales, hepatocitos, astrocitos) y células tumorales (melanoma, carcinoma de ovario, carcinoma pulmonar) en respuesta a una amplia variedad de estímulos.

Las primeras actividades biológicas de la IL-8 descritas fueron activación de neutrófilos en los que inducía desgranulación, cambios morfológicos y quimiotaxis. Recientemente se ha demostrado que la IL-8 es el principal factor quimiotáctico de neutrófilos (Tikhonov y cols 1997). Posteriormente, se observó que también ejercía actividad quimiotáctica sobre eosinófilos y basófilos. Es, además, un potente factor favorecedor de la angiogénesis.

En condiciones normales se encuentran cantidades significativas de IL-8 en el sudor, la leche, el calostro y el líquido amniótico (Farreras y cols 2000) (b).

La IL-6 es mediadora y reguladora de las respuestas inflamatorias, actúa como factor de crecimiento de las células B e interviene en su diferenciación, participa en la respuesta de fase aguda sinérgicamente con otras citocinas pro-inflamatorias y también tiene acción antiinflamatoria al inhibir la producción de TNF (Buckley 1997).

#### b) Papel de las IL-6 y 8 en la NR

Se ha encontrado una elevación de los niveles de IL-8 en la orina de pacientes con pielonefritis, pero no en pacientes con glomerulonefritis, por lo que se piensa que la inflamación que se produce en las enfermedades intersticiales podría estar mediada por la IL-8 (Tikhonov y cols 1997).

Asimismo se ha visto que también hay aumento de los niveles urinarios de IL-8 en niños con NR, por lo que se podría considerar a esta quimiocina como un marcador biológico de NR (Haraoka y cols 1996).

En el estudio de Jutley y cols (2000) en tres grupos de niños (A: niños con RVU y NR; B: niños con RVU pero sin NR; C: niños sanos) se determinan el FNT- $\alpha$ , IL-6, el receptor tipo I soluble del FNT- $\alpha$  y la IL-8 en sangre. Encontraron elevación de IL-6 y FNT- $\alpha$ , aunque no de IL-8. Los autores ponen de manifiesto la base inmunológica en la NR.

En varios estudios se han encontrado niveles de IL-6 urinaria elevados en niños con NR y RVU y se concluye que la IL-6 podría estar involucrada en la patogénesis de la NR y que podría ser útil en el seguimiento del proceso de cicatrización renal (Ninan y cols 1999, Wang y cols 2001).

Se ha encontrado correlación entre los niveles urinarios de IL-6 y las lesiones

cicatriciales detectadas en la gammagrafía DMSA en un estudio realizado en neonatos con ITU (Roilides y cols 1999).

En otro trabajo se encuentran concentraciones elevadas de IL-6 y 8 en orina de niños ingresados por pielonefritis, y se correlacionan con otros indicadores clínicos y analíticos de inflamación. Ante estos hallazgos se concluye que la IL-6 y 8 podrían ser mediadores de la inflamación en niños con pielonefritis (Jantusch y cols 2000).

## **9.-FACTORES PREDICTIVOS DE DESARROLLO DE NR**

El principal factor de riesgo es la existencia de un RVU grave o de una uropatía obstructiva. Entre los pacientes con RVU es un factor de riesgo añadido la asociación de vejiga inestable o vejiga neurógena (Barajas 1997).

El sexo masculino, la infección urinaria recurrente y la disminución de la función renal existente en etapas iniciales de la enfermedad se consideran factores de riesgo generales.

La edad es también un factor pronóstico: las cicatrices renales suelen producirse antes de los tres años y el periodo de lactante es el más vulnerable (Pylkanen y cols 1981, Bailey 1993, Bueno y cols 2001).

Otro factor importante es la persistencia de ITUs tras el tratamiento profiláctico. El diagnóstico y tratamiento precoces de las mismas debe ser un objetivo básico en el seguimiento de los pacientes con riesgo de NR ( Winberg y cols 1982, Kassir y cols 2001).

La elevación de los niveles de  $\beta$ 2-microglobulina urinaria y microalbuminuria son factores de importancia pronóstica (Bravo 1997).

## **10.- COMPLICACIONES DE LA NR A LARGO PLAZO**

Aproximadamente el 10 % de los niños con NR desarrollan una hipertensión arterial (HTA) que puede estar asociada a insuficiencia renal progresiva (Rushton y Belman 1993).

En Europa, cerca del 25 % de los niños en programa de Diálisis-Trasplante han llegado a la insuficiencia renal terminal por una NR (Muley-Alonso 1993, Benalmádena 1990). La Asociación Europea de Diálisis y Trasplante (EDTA) comunicaba en su informe correspondiente al año 1992 que el 36% de los pacientes con IRT y en programa de diálisis-trasplante, presentaban como causa primaria de la enfermedad una uropatía obstructiva y/o una hipoplasia renal y/o una pielonefritis (Loirat y cols 1994). De forma similar el informe anual correspondiente al año 1995 del Estudio Cooperativo del Trasplante Renal Pediátrico en



Norteamérica comunica que el 38.6% de las IRT se debían a riñones displásicos-hipoplásicos, uropatías obstructivas y nefropatía por reflujo (Warady y cols 1997).

Según datos del Registro Pediátrico de IRC (REPIR) de la Asociación Española de Nefrología Pediátrica, actualizados a Diciembre de 1997, el 32.2% de los niños en IRT tienen como etiología las PNA/Nefritis intersticiales, cifras algo inferiores a las europeas y americanas.

La HTA de la NR parece estar producida por una disminución de la actividad de la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  (Goonasekera y cols 1996).

Un rápido aumento en la proteinuria seguido de hipertensión arterial diastólica predicen la progresión hacia estadios terminales de la función renal (Nakashima y cols 1997).

La Nefropatía por Reflujo es hoy día una patología frecuente en la infancia, con graves consecuencias para la salud en la vida adulta si no se diagnostica a tiempo, por lo que es de vital importancia el desarrollo de programas de investigación en este campo.

# HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

## 1.- HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN

La NR es una lesión del parénquima renal en la que están implicados varios factores, siendo los más importantes las uropatías, la infección del tracto urinario y factores genéticos.

El RVU es la uropatía más frecuente en la infancia y va asociada frecuentemente con la infección del tracto urinario. Diversas uropatías malformativas, asociadas o no a reflujo, con o sin displasia renal y/o disfunciones vesicales severas también son causa de NR (Steinhardt 1985).

Los factores genéticos han adquirido relevancia en los últimos años, apareciendo numerosos estudios al respecto que ponen de manifiesto la participación de determinados genes y factores de transcripción en el desarrollo de la cicatriz renal (Morrissey y Klahr 1998, Pope y cols 2001).

La base patogénica de la NR es la expansión de la MEC y la formación de fibrosis intersticial. La estimulación y progresión de estos procesos es llevada a cabo por péptidos derivados del colágeno y mediadores inmunológicos (complemento, citocinas), entre otros (El-Nahas y cols 1997).

El diagnóstico de las lesiones renales se basa en hallazgos morfológicos y en indicadores bioquímicos y funcionales.

La prueba diagnóstica de las lesiones desde el punto de vista morfológico es la gammagrafía renal con DMSA, considerada actualmente, prueba patrón (Goldraich y Goldraich 1995, Areses 2000).

Los marcadores bioquímicos son proteínas de distinto peso molecular que, en caso de lesión renal, se excretan por orina en mayor cantidad que en condiciones normales. Los más utilizados actualmente son la microalbúmina, como marcador de lesión glomerular y la beta2-microglobulina, la NAG, la alfa1-microglobulina, entre otros, como indicadores de lesión tubular.

En los pacientes con NR es importante un diagnóstico precoz y un seguimiento adecuado mediante la determinación de la TA periódicamente, la valoración del aclaramiento de creatinina y la cuantificación en orina de los marcadores de lesión, ya que la mala evolución de esta patología conlleva la aparición de HTA e IRT (Rushton y Belman 1993).

Al estar implicados en el mecanismo de desarrollo y progresión de la fibrosis intersticial, la excreción urinaria de las interleucinas 6 y 8 y del procolágeno tipo III puede estar incrementada de forma proporcional a la extensión de la cicatriz renal y por tanto servir como indicadores biológicos y pronósticos de NR.

## **2.-OBJETIVOS**

### **2.1.- Generales**

1. Descubrir patrones de normalidad en niños sanos en relación a los marcadores biológicos IL-6, IL-8 y PIII.
2. Analizar la posible utilidad de los marcadores biológicos IL-6, IL-8 y PIII como indicadores de daño renal.

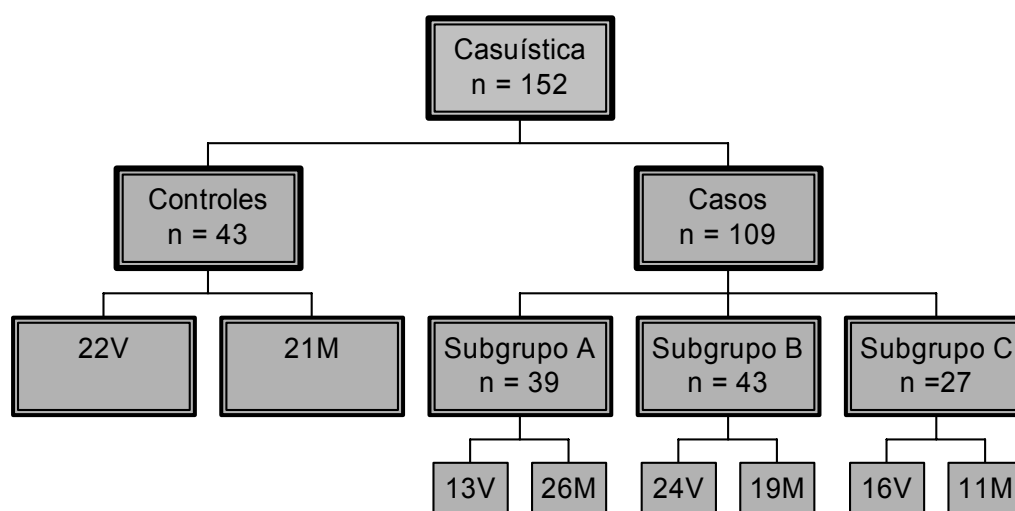
### **2.2.- Específicos**

1. Describir las características generales de los pacientes con NR.
2. Determinar las relaciones de la uropatía con la lesión renal morfológica (DMSA).
3. Relacionar la lesión morfológica con los marcadores bioquímicos de lesión glomerular (microalbúmina) y tubular (alfa1-microglobulina).
4. Determinar los valores de las IL-6 y 8 y el PIII en niños sanos.
5. Determinar los valores de las IL-6 y 8 y el PIII en niños con NR.
6. Comparar su utilidad con la de otros indicadores de lesión: glomerular (microalbúmina) y tubular (alfa1-microglobulina).
7. Comparar la excreción urinaria de las IL-6 y 8 y el PIII en los niños sanos con la de los pacientes afectados de NR, según el grado de lesión.

## **MATERIAL Y MÉTODO**

## 1.- CASUÍSTICA

Este estudio se compone de 152 niños, divididos en dos grupos, uno de casos y otro de controles. El grupo de controles está formado por 43 niños sanos y el de casos por 109 pacientes con NR. Este último se ha dividido en tres subgrupos ( Fig. G) atendiendo al grado de lesión según la gammagrafía renal, como más adelante se expondrá.



(Fig. G)

*Distribución de los casos y controles*

*n= tamaño muestral; V: varones; M: mujeres.*

### 1.1.- Grupo control

Está constituido por 43 niños sanos (22 varones y 21 mujeres) con una media  $\pm$  desviación típica ( $M \pm DT$ ) de  $(7.25 \pm 3.62)$  años, rango (3-14 años), seleccionados entre los enviados a las consultas de Cirugía y Ortopedia Infantil del Hospital Materno-Infantil Virgen de las Nieves de Granada por procesos banales como pueden ser fimosis, pies planos, hernia inguinal, etc, y que por este motivo van a ser intervenidos.

#### 1.1.1.- Criterios de exclusión

Tener historia de enfermedad renal, presión arterial elevada, haber padecido alguna infección urinaria, tomar medicamentos, función glomerular disminuida (aclaramiento de creatinina  $< 80$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>).

### 1.2.- Grupo de casos

Está constituido por 109 pacientes con NR procedentes de Granada y Jaén (áreas de referencia del Hospital Materno-Infantil Virgen de las Nieves de Granada). El grupo se ha

dividido en tres subgrupos, atendiendo al grado de lesión renal presente en la gammagrafía DMSA:

- grupo A: niños con NR leve
- grupo B: niños con NR moderada
- grupo C: niños con NR grave

El muestreo fue de tipo consecutivo entre los pacientes nefrourológicos que siguen revisión en la consulta de Nefrología Pediátrica del Hospital.

#### 1.2.1.- Criterios de inclusión

Padecer NR con función glomerular mayor de 40 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> y no haber cursado ninguna ITU en el último mes.

## 2.- DISEÑO DEL ESTUDIO

Se trata de un estudio de casos y controles.

La recogida de datos se llevó a cabo en los seis primeros meses del año 2001.

### 2.1.- Variables clínicas

Se analizaron las siguientes variables:

#### 2.1.1.- Grupo control:

- Edad
- Talla
- Tensión arterial sistólica (TAS) y percentil
- Tensión arterial diastólica (TAD) y percentil
- Filtrado glomerular (FG)

2.1.2.- Grupo de casos: además de las variables analizadas en el grupo control se recogieron las siguientes:

- Edad al diagnóstico de nefropatía por reflujo
- Antecedentes familiares de uropatía
- Tiempo de evolución desde el diagnóstico
- N° de ITUs y si reciben actualmente profilaxis antibiótica
- Si precisaron cirugía
- Uropatía implicada
- Alteraciones de la función vesical
- Complicaciones (HTA o Insuficiencia Renal)
- Grado de lesión de cada riñón según la gammagrafía
- Grado de lesión global, suma del daño de ambos riñones

En todos los niños se midieron los valores absolutos de la TAS y TAD en mmHg. Se determinaron los percentiles según unas tablas para la edad y sexo (Task Force).

Se consideró ITU cuando el urocultivo fue positivo, es decir, cuando existió crecimiento de más de 100.000 UFC/mm<sup>3</sup> de un solo germen ó cuando los nitritos eran positivos en una tira reactiva de orina asociados a leucocituria y síntomas compatibles con ITU. La muestra se obtuvo de forma aséptica y no permaneció más de 30 minutos sin ser analizada (Barajas y cols 1988 b).

Las alteraciones de la función vesical, como la vejiga inestable y la vejiga neurógena, se diagnosticaron, la primera con datos clínicos (escapes de orina diurnos, urgencia miccional) complementados en varios casos con un estudio urodinámico; la segunda con la historia perinatal, exploración física, datos clínicos (incontinencia urinaria y fecal) y un estudio urodinámico, ecografía y CUMS.

## **2.2.-Variables bioquímicas**

Tanto en el grupo de casos como en el de controles se determinaron:

→ En sangre: creatinina (crs) (mg/dl)

→ En orina:

- creatinina (cro) (g/l)
- $\alpha_1$ - microglobulina (A1M) (mg/dl)
- microalbuminuria (MA) (mg/dl)
- Interleucina 6 (IL-6) ( pg/ml)
- Interleucina 8 (IL-8) (pg/ml)
- Péptido Amino-terminal del Procolágeno tipo III (PIII) ( $\mu$ g/l)

## **2.3.- Variables funcionales**

Se calcularon las siguientes variables en los dos grupos:

- Filtrado glomerular (FG) o aclaramiento de creatinina (Ccr) (ml/min/1.73m<sup>2</sup>).
- A1M/cr<sub>o</sub> (mg/g)
- MA/cr<sub>o</sub> (mg/g)
- IL-6/cr<sub>o</sub> (pg/mg)
- IL-8/cr<sub>o</sub> (pg/mg)
- PIII/cr<sub>o</sub> ( $\mu$ g/g)



El FG se calculó según la fórmula de Schwartz (Schwartz y cols 1987) para el aclaramiento de creatinina:

$$Ccr = K \times \text{Talla (cm)} / Cr_s \text{ (mg/dl)}$$

K es una constante que depende de la edad y el sexo. Sus valores son:

- ≤ 1 año: 0.45
- 13-18 meses: 0.50
- 19 meses a 12 años: 0.55
- > 12 años: en niños 0.7 y en niñas 0.55

El valor normal del Ccr varía con la edad (Goldsmith y Novello 1992):

Edad	C <sub>cr</sub> (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	Rango
1-6 meses	77	39-114
7-12 meses	103	49-157
13-19 meses	127	62-191
2-12 años	127	89-165

La IRC se clasificó desde el punto de vista de la gravedad en (Pedrero y cols 2001, Aparicio y Moreno 2001):

- IRC leve: 80-50% de reserva funcional; FG: 80-100 ml/min/1.73m<sup>2</sup>
- IRC moderada: 50-25% de reserva funcional; FG: 50-79 ml/min/1.73m<sup>2</sup>
- IRC grave: 25-5% de reserva funcional; FG: 10-49 ml/min/1.73m<sup>2</sup>
- IRC terminal: <5% de reserva funcional; FG: ≤9 ml/min/1.73m<sup>2</sup>

Los valores de A1M, MA, IL-6, IL-8 y PIII se dividieron por la creatinina en orina para corregir las variaciones en la concentración urinaria, que dependen a su vez del estado de hidratación.

#### 2.4.- Valoración de la presencia de uropatía

Las diversas uropatías se clasificaron en los siguientes grupos:

- grupo 0: no uropatía
- grupo 1: RVU grados I, II y III
- grupo 2: RVU grados IV y V
- grupo 3: Estenosis no obstructivas: pieloureterales y ureterovesicales
- grupo 4: Estenosis obstructivas: pieloureterales, ureterovesicales, válvulas de uretra posterior
- grupo 5: Hipoplasias y displasias renales, agenesia renal, nefrectomía

#### 2.4.1.- Diagnóstico de RVU

Se llevó a cabo mediante Cistouretrografía Miccional Seriada (CUMS). La mayoría se realizaron en el servicio de Radiología Pediátrica del Hospital Materno-Infantil Virgen de las Nieves de Granada.

Se realizó introduciendo en la vejiga del niño un contraste yodado a través de una sonda uretral adecuada para la edad, hasta que el goteo del medio de contraste cesó y/o hasta que el niño sintió necesidad de orinar. Se registró el volumen introducido, que indica la capacidad vesical, y se comparó con la capacidad teórica según la edad.

Se realizó monitorización fluoroscópica intermitente durante el llenado y el vaciado vesical para poder detectar y caracterizar el posible RVU. Se captaron las áreas uretral, vesical, ureteral y pelvicalicial y se hicieron las correspondientes placas (Lebowitz 1992). Se llevaron a cabo varios ciclos de llenado y vaciado vesical salvo en los casos en que la uropatía era demostrada en el primero.

Todos los pacientes tenían realizada al menos una CUMS. Si esta se realizó en los 6 meses previos al desarrollo de este trabajo se consideró el mismo grado de RVU. Si el niño tenía realizadas varias CUMS se consideró la más desfavorable o la más reciente.

Para valorar el grado de RVU se utilizó la clasificación del Comité Internacional para el estudio del Reflujo (International Reflux Study Committee 1981), que distingue cinco grados (Bueno y cols 2001):

- *Grado I:* El contraste rellena únicamente el uréter
- *Grado II:* Alcanza la pelvis renal y cálices, sin dilatación
- *Grado III:* Leve dilatación de uréter y pelvis. Nulo abombamiento de los fórnixes.
- *Grado IV:* Moderada dilatación y/o tortuosidad del uréter y moderada dilatación de pelvis y cálices. Pérdida del ángulo del fórnix pero mantenimiento de las impresiones papilares en la mayoría de los cálices.
- *Grado V:* Gran dilatación y tortuosidad del uréter, pelvis globulosa y pérdida total de la morfología calicial. Las impresiones papilares no son visibles en la mayoría de los cálices.

#### 2.4.2.- Diagnóstico de las Estenosis Obstructivas y No Obstructivas

Las estenosis obstructivas y no obstructivas, tanto pieloureterales como vesicoureterales se diagnosticaron mediante CUMS, ecografía renal, renograma isotópico y/o urografía intravenosa forzada con diurético. Las válvulas de uretra posterior se diagnosticaron a través de CUMS.

La ecografía se realizó en el Servicio de Radiología Pediátrica del Hospital Materno-Infantil Virgen de las Nieves, utilizando el sistema de ecografía en tiempo real (modo B) y sonda mecánica sectorial de 5 mHz o 7 mH.

La urografía intravenosa (UIV) se llevó a cabo en el Servicio de Radiología Pediátrica de nuestro Hospital Materno-Infantil Virgen de las Nieves. Consiste en la introducción de un medio de contraste por vía endovenosa y la realización de placas seriadas abdominales. Durante años ha representado el examen morfológico y funcional más importante del sistema nefrourológico, pero actualmente, con el desarrollo de otras técnicas (ecografía, renograma isotópico y gammagrafía renal), tiene más limitadas sus indicaciones, aunque sigue siendo necesaria en algunas circunstancias, cuando la información de la ecografía y los estudios isotópicos no es concluyente (Pedrero y cols 2000).

En nuestro estudio se utilizaron como medio de contraste derivados triyodados hidrosolubles, que son eliminados principalmente por filtración glomerular y cuyo aclaramiento renal es muy semejante al de la creatinina. Se tomó una radiografía simple de abdomen e inmediatamente después se inyecta el contraste. Después se tomaron radiografías a diferentes intervalos, generalmente a los 0, 5, 10 y 15 minutos de la inyección.

En el caso de uropatía obstructiva se forzó la eliminación del contraste con la inyección de furosemida a 1mg/kg.

El renograma isotópico diurético, cuya indicación principal es la diferenciación entre uropatía obstructiva y no obstructiva, consiste en la administración de un radiofármaco (MAG 3) y la obtención de imágenes dinámicas posteroanteriores. El MAG3 es excretado por secreción tubular casi exclusivamente. A los 20 minutos de iniciado el estudio se administró un diurético (furosemida en este trabajo a 0.3-1 mg/kg). Los resultados se recogieron en forma de curva actividad/tiempo (Bravo 1997). Si tras la inyección del diurético se producía una eliminación importante del trazador se consideró uropatía no obstructiva. Si se producía un ascenso constante en la curva de eliminación (o un descenso lento) se consideró obstructiva (Pedrero y cols 2001 ). Se valoró además la función renal relativa (FRR) de cada riñón. Cuando era  $\leq 43\%$  en alguno de los riñones apoyaba el diagnóstico de obstrucción.

Los renogramas isotópicos diuréticos se realizaron en el Servicio de Medicina Nuclear del Hospital General de Especialidades Virgen de las Nieves.

#### 2.4.3.- Diagnóstico de las hipoplasias, displasias y agenesias renales

Fundamentalmente se diagnosticaron por ecografía renal y gammagrafía DMSA. Fueron realizadas en el Servicio de Radiología Pediátrica de nuestro Hospital Materno-infantil y en el Servicio de Medicina Nuclear de dicho Hospital respectivamente.

Se llevaron a cabo con el paciente en ayunas y con la vejiga llena. Una vez visualizado el riñón se comprobaron sus características estructurales (ecogenicidad, diferenciación cortico-medular, posibles dilataciones de vías) y su tamaño.

#### 2.5.- Estudio de la función vesical

Fue llevado a cabo en la Unidad de Urodinámica del Servicio de Urología del Hospital General de Especialidades Virgen de las Nieves mediante estudio urodinámico. Este se realizó siguiendo las recomendaciones estándares propuestas por la Sociedad Internacional de Continencia (ICS) (Bates y cols 1976, Espejo y Tallada 1990) en cuanto a método, definición de parámetros, unidades y símbolos.

Se analizaron la fase de llenado vesical, mediante cistomanometría y la fase de vaciado vesical mediante el análisis de la secuencia miccional (flujometría y test de presión/flujo).

Los principales parámetros analizados en la cistomanometría fueron:

- Actividad del músculo detrusor: siguiendo los criterios de la ICS se consideró inestabilidad vesical cuando durante el llenado vesical aparecían contracciones involuntarias del detrusor superiores a 15 cm H<sub>2</sub>O. Si esta existía dicho parámetro se estableció como vejiga hiperrefléxica.
- Acomodación y sensibilidad vesical
- Capacidad vesical funcional

Con la flujometría aislada se realizó la valoración inicial de la obstrucción infravesical y con el test de presión/flujo se estudió la contractilidad del músculo detrusor y la posible existencia de una disinergia vésico-esfinteriana.

#### 2.6.- Valoración de la presencia de NR

La NR se diagnosticó mediante gammagrafía renal con Tc<sup>99m</sup> -DMSA. Todas las gammagrafías se realizaron en el servicio de Medicina Nuclear del Hospital General de Especialidades Virgen de las Nieves de Granada.

Se realizó administrando ácido dimercaptosuccínico (DMSA) marcado con tecnecio 99 metaestable por vía intravenosa, a la dosis de 1 Mbq/Kg de peso corporal (dosis mínima 10 Mbq). A las tres horas de la administración de la dosis se registraron imágenes estáticas en las proyecciones postero-anterior, antero-posterior y oblicuas posteriores, utilizando una

gammacámara provista de colimadores de agujeros paralelos, baja energía y alta resolución, así como pinhole. Se registraron las imágenes planares y se calculó la función renal porcentual por separado.

Cada niño tenía hecha al menos una gammagrafía respetando un intervalo de 6 meses desde la última ITU. Si tenía realizadas varias se tuvo en cuenta únicamente la última.

Se consideró lesión cicatricial cuando había hipocaptación del trazador en la corteza renal que causaba distorsión o indentación del contorno renal normal. Si la función renal del riñón afecto era inferior al 43% se consideró atrofia renal global (Scherz y cols 1994).

Atendiendo a la gravedad de las cicatrices renales apreciadas en el DMSA se clasificó la NR en (Goldraich y cols 1993):

- Grado 1: 1 ó 2 cicatrices renales
- Grado 2: más de 2 cicatrices renales con áreas de parénquima normal entre ellas.
- Grado 3: reducción generalizada renal, sin apenas cicatrices en su silueta.
- Grado 4: riñón atrófico, con menos del 10% de función.

Se puntuó cada riñón por separado y se valoró cada paciente sumando las puntuaciones de ambos riñones (el mínimo será 0 y el máximo 8).

Según esta puntuación los pacientes se clasificaron en tres grupos:

Grado de lesión por paciente:

- Leve: 1-2
- Moderado: 3-4
- Grave: >4

### **3.- RECOGIDA DE LOS DATOS Y DE LAS MUESTRAS**

Los niños del grupo control acudían a la consulta de Nefrología Pediátrica enviados desde otras consultas pediátricas (cirugía y ortopedia) y los del grupo de casos venían a su revisión habitual. Una vez en la consulta se les realizaba la anamnesis, la medición de la TA y de la talla, la recogida de la 2ª orina de la mañana y la extracción de sangre.

La toma de TA se llevó a cabo con esfigmomanómetro de mercurio, homologado, tras cinco minutos de reposo. La TA se determinó en la consulta de Nefrología Infantil, con los niños sentados y lo más tranquilos posible, sin haber realizado ejercicio en la última hora.

Se consideró TAS el primer ruido de Korotkoff y TAD el quinto ruido, o el cuarto si persistía sonido hasta que la presión llegaba a cero. Se realizaron al menos dos determinaciones a todos los niños, con intervalo de diez minutos, en el brazo derecho. En todos los pacientes se midieron los valores absolutos de TAS y TAD en mmHg y se

determinaron los percentiles según tablas para la edad y sexo, de la segunda TASK FORCE, realizadas en USA (1987).

En niños en edad escolar se utilizaron manguitos de 6-10 cm de anchura y 17-22.5 cm de longitud y en los adolescentes de 12-13 cm de anchura y 22-23.5 cm de longitud, de manera que cubrían dos tercios de la circunferencia del brazo y tres cuartos de su longitud (Bueno y cols 1989).

La orina se recogió directamente del chorro miccional o de una bolsa de recolección en los niños más pequeños. Recién emitida, se analizó mediante tira reactiva (Multistix<sup>®</sup>) y se desecharon las muestras que presentaron leucocituria, hematuria y/o proteinuria).

Estas muestras se centrifugaron y congelaron a  $-40^{\circ}\text{C}$  en fracciones alícuotas. La determinación de la creatinina en orina se realizó en un tiempo no superior a una hora, y el resto de las variables en un plazo inferior a un mes.

La extracción de sangre se llevó a cabo en el laboratorio de Bioquímica y la determinación de la creatinina en sangre dentro de la primera hora.

#### **4.- MÉTODOS DE DETERMINACIÓN BIOQUÍMICA**

##### **4.1.- Creatinina**

La determinación de creatinina se realizó en el laboratorio de Bioquímica del Hospital General Virgen de las Nieves, tanto en sangre como en orina. Se llevó a cabo mediante el método cinético de Jaffé, utilizando un autoanalizador estándar. Los valores en suero se expresaron en mg/dl y en orina en g/l.

##### **4.2.- Alfa-1-microglobulina**

Esta proteína se determinó por nefelometría cinética mediante el reactivo AIM, en conjunción con los Sistemas Inmunoquímicos y el Calibrador para proteínas en orina IMAGE<sup>™</sup> de Beckman. Queda expresada en mg/dl. El rango analítico detectado por este sistema inmunoquímico es de 0.4 a 8 mg/dl.

##### **4.3.- Microalbuminuria**

Se utilizó el reactivo micro ALBUMIN en conjunción con los Analizadores de Proteínas Específicas Beckman y su Calibrador, para la determinación cuantitativa de microcantidades de albúmina en orina por nefelometría cinética. También se expresó en mg/dl. El rango de medida es de 0.2 a 4 mg/dl.

Tanto la alfa-1-microglobulina como la microalbúmina en orina han sido determinadas en el laboratorio de Inmunología del Hospital anteriormente mencionado.

#### 4.4.- Procolágeno tipo III

La determinación del Péptido Amino-Terminal del procolágeno tipo III se realizó mediante inmunoanálisis competitivo marcado con isótopo radiactivo (Radioinmunoanálisis, RIA). El reactivo utilizado es de Orion Diagnostica (Espoo, Finland). Se expresó en  $\mu\text{g/l}$ . Rango de sensibilidad del test de 0.2 a 50  $\mu\text{g/l}$ .

#### 4.5.- Interleucina 6

Se determinó mediante inmunoanálisis no competitivo también marcado con un isótopo radiactivo (Análisis Inmunoradiométrico, IRMA). Reactivo de Biosource Europe S.A. (Nivelles, Belgium). Las unidades de medida fueron  $\text{pg/ml}$ . Rango de sensibilidad de 6 a 5.000  $\text{pg/ml}$ .

#### 4.6.- Interleucina 8

Se determinó mediante inmunoanálisis competitivo marcado con una enzima (Enzimoinmunoanálisis, ELISA). Reactivo de Pelikine Compact<sup>TM</sup> Human IL-8 (Ámsterdam, Holanda). La reacción da lugar a un cambio de color en la muestra que se cuantifica con un espectrofotómetro. Igualmente se expresó en  $\text{pg/ml}$ . Rango de sensibilidad de 1 a 240  $\text{pg/ml}$ .

Estos marcadores (PIII, IL-6 e IL-8) se determinaron en el laboratorio de Medicina Nuclear del Hospital General de Especialidades Virgen de las Nieves.

### 5.- MÉTODO ESTADÍSTICO

#### 5.1.- Estadística descriptiva

Se llevó a cabo un análisis descriptivo, por grupos, de las diferentes variables recogidas en el estudio, atendiendo a su distribución de frecuencias. Se calcularon las medidas típicas de resumen (en los casos en que esto fue apropiado): media, mediana, cuartiles, desviación típica y valores máximos y mínimos de la variable correspondiente.

#### 5.2.- Análisis inferencial

5.2.1.- Con objeto de estudiar las diferencias por grupos de NR de las diferentes variables categóricas, se empleó una tabla de contingencia. Para ver la significación se utilizó el test exacto de Fisher, en su extensión a las tablas rxs, ya que en algunos casos no era aplicable el test de la chi-cuadrado.

5.2.2.- Para determinar la relación existente entre las variables numéricas presentes en el estudio, se empleó el coeficiente de correlación de Spearman debido a la clara no normalidad de la mayoría de las variables implicadas en el estudio.

5.2.3.- Para establecer la comparación entre grupos de lesión de las variables funcionales objeto de estudio (IL-8/cro, IL-6/cro y PIII/cro) se empleó el test de Kruskal-Wallis para el

análisis de la varianza de muestras independientes, cuando las variables no siguen una distribución normal. Cuando esta resultó significativa se realizaron las comparaciones por parejas, siguiendo la penalización de Bonferroni, para conocer las causas de significación.

5.2.4.- Cabía la posibilidad de que algunas de las significaciones obtenidas podían serlo porque las variables se asocian con la edad, y entre grupos hay diferencias significativas para la edad. Por esto se construyó un modelo multivariante para cada variable usando la regresión lineal múltiple, empleando en ella como covariables el grupo de lesión y la edad. Las variables se transformaron por el logaritmo neperiano con objeto de asegurarnos que las varianzas por grupos eran homogéneas y se acercaban más a la normalidad.

Para los cálculos se utilizó el paquete estadístico SPSS, versión 11.0 para Windows. Se consideró significativo un valor de  $p < 0.05$ .

## **6.-METODO BIBLIOGRÁFICO**

El material bibliográfico se obtuvo mediante búsqueda a través de bases de datos biomédicas en sistema CD-ROM (Medline, Índice Médico Español, The Cochrane Library, Embase), y en Internet (Pubmed).

El sistema de citación es el de Harvad o nombre-año. Las citas se ordenaron alfabéticamente en el capítulo correspondiente y en el texto se intercalaron mediante nombre del primer autor, en el caso de autoría única; de los dos primeros autores en el caso de dos firmantes o del primer autor “y cols” en el caso de tres o más firmantes. Cuando existió posibilidad de confundir referencias por nombres idénticos de los firmantes y año de publicación, se añadieron letras correlativas del alfabeto detrás del año (Pulido 1987).



# RESULTADOS

El total de los 109 pacientes se clasificó en tres grupos atendiendo a su grado de lesión renal: NR leve (n=39), NR moderada (n=43) y NR grave (n=27). Se compararon los tres grupos con uno de controles (n=43).

## 1.- ESTADÍSTICA DESCRIPTIVA

### 1.1.- Distribución por grupos en edad y sexo

Los niños sanos tenían una edad de  $7.2 \pm 3.6$  años, siendo 22 varones (51.2 %) y 26 mujeres (48.8 %). Los pacientes con afectación leve presentaron una edad de  $8.5 \pm 2.7$  años, con una distribución por sexos de 13 varones (33.3 %) y 26 mujeres (66.7 %). Los de lesión moderada presentaron una edad de  $8.3 \pm 3.6$  años y eran varones 24 (55.8 %) y mujeres 19 (44.2 %). Los niños con NR grave tenían  $10.08 \pm 3.2$  años y había 16 varones (59.3 %) y 11 mujeres (48.8 %). (Tabla 1). (Figs. 1 y 2).

**Tabla 1: Distribución en edad (M  $\pm$  DT) y sexo de los casos y controles por grado de NR**

	SANOS	NR LEVE	NR MODERADA	NR GRAVE
<b>EDAD(años)</b>	$7.2 \pm 3.6$	$8.5 \pm 2.7$	$8.3 \pm 3.6$	$10.02 \pm 3.2$
<b>SEXO</b>	22♂ 21♀	13♂ 26♀	24♂ 19♀	16♂ 11♀
<b>Frec. y %</b>	51.2 48.8	33.3 66.7	55.8 44.2	59.3 40.7
<b>TOTAL (n=152)</b>	43	39	43	27

### 1.2.- Antecedentes familiares de uropatía

Se encontraron antecedentes familiares de uropatía en 26 pacientes (23.8%), la mayoría de los cuales fueron RVU.

### 1.3.- Percentiles tensionales por grupos

Los percentiles de TA tanto sistólicos como diastólicos de los individuos de estudio fueron las siguientes (Tabla 2). (Fig.3)

**Tabla 2: Percentiles tensionales sistólicos y diastólicos (PAS y PAD ) por grupos (M  $\pm$  DT)**

	SANOS	NR LEVE	NR MODERADA	NR GRAVE
<b>PAS (M <math>\pm</math> DT)</b>	$35.8 \pm 25.4$	$46.3 \pm 32.0$	$51.0 \pm 32.7$	$39.1 \pm 32.8$
<b>PAD (M <math>\pm</math> DT)</b>	$32.7 \pm 26.2$	$39.9 \pm 29.9$	$39.3 \pm 29.9$	$34.1 \pm 29.2$
<b>TOTAL</b>	43	39	43	27

Todos los pacientes presentaron TA sistólicas y diastólicas con percentiles medios cercanos al 50 en todos los grupos de NR. Ningún niño presentó hipertensión arterial.

#### 1.4.- Edad al diagnóstico

La edad de los niños en el momento del diagnóstico de nefropatía por reflujo fue de  $4.2 \pm 3.03$  años en los niños con NR leve; de  $2.5 \pm 2.7$  años en los de NR moderada y de  $3.05 \pm 3.3$  años en los de NR grave. Hay que destacar que se hizo el diagnóstico en el primer año de vida en un 10% de los niños con lesión leve, en el 18.6 % de los de lesión moderada y en el 23 % de los niños con nefropatía grave. (Tabla 3). (Fig.4).

#### 1.5.- Tiempo de evolución

El tiempo de evolución del cuadro en el momento de realización del estudio fue de  $4.1 \pm 2.6$  años en lo de afectación leve, de  $5.7 \pm 3.02$  años en los de afectación moderada y de  $7.05 \pm 4.5$  años en los de afectación grave. (Tabla 3). (Fig.4).

**Tabla 3: Edad al diagnóstico de NR y tiempo de evolución**

	NR LEVE	NR MODERADA	NR GRAVE
<b>EDAD AL DCO (años)</b>	$4.2 \pm 3.03$	$2.5 \pm 2.7$	$3.05 \pm 3.3$
<b>T° EVOLUC. (años)</b>	$4.1 \pm 2.6$	$5.7 \pm 3.02$	$7.05 \pm 4.55$
<b>TOTAL</b>	39	43	27

#### 1.6.- N° de ITUs y Profilaxis

El n° de ITUs diagnosticadas en los niños con NR leve fue de  $2.1 \pm 2.4$ , de  $1.35 \pm 1.79$  en los de NR moderada y de  $2.26 \pm 2.78$  en los de NR grave.

Siguieron profilaxis antibiótica el 64.1 % de los niños con afectación leve, el 39.5 % de los de NR moderada y el 11.1 % de los niños con lesión grave. (Tabla 4). (Figs. 5 y 6).

**Tabla 4: N° de ITUs diagnosticadas y porcentaje de pacientes con profilaxis antibiótica**

	NR LEVE	NR MODERADA	NR GRAVE
<b>N° ITUs (M ± DT)</b>	$2.1 \pm 2.4$	$1.3 \pm 1.7$	$2.2 \pm 2.7$
<b>PROFILAXIS</b>	64.1	39.5	11.1
<b>TOTAL (n=109)</b>	39	43	27

### 1.7.- Presencia de uropatía

En las estenosis obstructivas se tuvieron en cuenta únicamente las estenosis orgánicas. La vejiga neurógena se comporta como una obstrucción funcional, y dado que todos los pacientes con ésta asociaban reflujo severo, se han incluido en el grupo de reflujos grado IV-V. Dentro de las estenosis obstructivas se han englobado dos casos de válvulas de uretra posterior, uno en el grupo de NR grave y otro en el de NR moderada.

#### 1.7.1.- Presencia de uropatía con respecto al grado de lesión renal

En la tabla 5 puede apreciarse la distribución por grupos de NR de las distintas uropatías.

**Tabla 5: Porcentaje y frecuencia de uropatía por paciente en relación al grupo de NR**

	NR LEVE	NR MODERADA	NR GRAVE	TOTAL
<b>No Uropatía</b>	10,2 (n=4)	2,3 (n=1)	0	4,5 (n=5)
<b>RVU I-III</b>	48,7 (n=19)	32,5 (n=14)	14,8 (n=4)	33,9 (n=37)
<b>RVU IV y V</b>	33,3 (n=13)	51,2 (n=22)	59,2 (n=16)	46,7 (n=51)
<b>Estenosis no obstructivas</b>	5,1 (n=2)	2,3 (n=1)	3,7 (n=1)	3,6 (n=4)
<b>Estenosis obstructivas</b>	2,5 (n=1)	11,6 (n=5)	11,1 (n=3)	8,2 (n=9)
<b>Displasias Agenesia Nefrectomía</b>	0	0	11,1 (n=3)	2,7 (n=3)
<b>Total</b>	100 (n=39)	100 (n=43)	100 (n=27)	100 (n=109)

La uropatía más frecuente fue el reflujo vesicoureteral, con un total de 37 casos (33.9%) de RVU leve (I a III) y 51 casos (46.7%) de RVU moderado-grave (IV y V). En el grupo de NR leve el porcentaje de casos con RVU leve fue mayor que en el grupo de NR moderada. En 5 casos (4.5%) no se asoció la NR a ninguna uropatía (Tabla 5). (Fig. 7). En 19 casos (17.2%) se encontraron varias uropatías asociadas.

## 1.7.2.-Presencia de uropatía por riñón

Queda reflejada en la Tabla 6.

**Tabla 6: Porcentaje y frecuencia de uropatía por riñón**

	RIÑÓN IZQ.	RIÑÓN DCH.
<b>No uropatía</b>	38,3 (n=41)	41,6 (n=45)
<b>RVU I-III</b>	28,9 (n=31)	25 (n=27)
<b>RVU IV-V</b>	24,2 (n=26)	24 (n=26)
<b>Estenosis no obstructivas</b>	1,9 (n=2)	2,7 (n=3)
<b>Estenosis obstructivas</b>	4,6 (n=5)	5,5 (n=6)
<b>Displasias Agenesia Nefrectomía</b>	1,9 (n=2)	0,9 (n=1)
<b>TOTAL</b>	100 (n=107)	100 (n=108)

El riñón izquierdo resultó discretamente más afectado, siendo la uropatía más frecuente el RVU, con 31 unidades (28.9 %) de RVU grados I-III y 26 unidades (24.2%) con RVU grados IV-V. Asimismo presentó 2 casos (1.9%) de agenesia renal. (Fig.8).

El riñón derecho estuvo libre de uropatía en 45 casos (41.6%), mientras que el riñón izq. lo estuvo en 41 casos (38.3%). También fue el RVU la uropatía más frecuente, con 27 casos (25%) de RVU grados I-III y 26 casos (24%) de RVU grados IV-V. (Fig. 8).

En cuanto a las estenosis, el riñón izquierdo presentó 2 casos (1.9%) de estenosis no obstructivas y 5 (4.6%) de estenosis obstructivas. En el derecho encontramos 3 casos (2.7%) de estenosis no obstructivas y 6 (5.5%) de estenosis obstructivas (Fig.8).

En cuanto al nivel de la obstrucción, en el riñón izquierdo encontramos 1 caso de estenosis ureterovesical y 4 de estenosis pieloureteral y en el riñón dcho. 2 casos de estenosis ureterovesicales y 4 de estenosis pieloureterales.

## 1.7.3.- Otros

Un paciente del grupo de NR leve y dos del grupo de NR moderada presentaron litiasis renal y otro paciente del grupo de afectación moderada tenía un síndrome polimalformativo tipo CHARGE.

Quince casos presentaron duplicidad pieloureteral, 9 en el riñón izquierdo, 6 en el riñón derecho y un caso bilateral.

## 1.8.- Cirugía

Según el tipo de uropatía presentada se les intervino de reflujo, de estenosis pieloureteral o ureterovesical o de válvulas de uretra posterior.

### 1.8.1.- En el conjunto de pacientes

Fueron intervenidos 57 pacientes (52.3 %) de las diversas uropatías, siendo la más frecuente el RVU con 46 casos (42.2%) del total de pacientes. En 52 casos (47.7 %) no se precisó ningún tipo de intervención quirúrgica. (Tabla 7.1). (Fig. 9).

**Tabla 7.1.: N° de casos y porcentaje global de pacientes intervenidos**

	Nº de casos	Porcentaje
<b>No cirugía</b>	52	47,7
<b>C. RVU</b>	46	42,2
<b>C. EPU</b>	7	6,4
<b>C. EUV</b>	2	1,8
<b>C. VU</b>	2	1,8
<b>Total</b>	109	100

RVU: reflujo vesicoureteral; EPU: estenosis pieloureteral; EUV: estenosis ureterovesical; VU: válvulas de uretra. C.: Cirugía.

Algunos pacientes fueron intervenidos de varias uropatías asociadas.

### 1.8.2.-Cirugía en relación al grupo de lesión renal

**Tabla 7.2 : Porcentaje y frecuencia de casos de cirugía por grupos**

	NR LEVE	NR MODERADA	NR GRAVE
<b>NO CIRUGIA</b>	69,2 (n=27)	46,5 (n=20)	18,5 (n=5)
<b>C. RVU</b>	28,2 (n=11)	41,8 (n=18)	62,9 (n=17)
<b>C. EPU</b>	2.5 (n=1)	6,9 (n=3)	11.1 (n=3)
<b>C. EUV</b>	0	2.3 (n=1)	3,7 (n=1)
<b>C. VU</b>	0	2.3 (n=1)	3.7 (n=1)
<b>TOTAL</b>	100 (n=39)	100 (n= 43)	100 (n=27)

El número de casos que precisó intervención quirúrgica fue superior en el grupo de niños con NR grave (81.4% vs 30.7% en el grupo de NR leve y 53.3% en el de NR moderada). (Fig. 10).

### 1.9.- Función vesical

El 61.5 % de los pacientes con afectación leve presentaron una función vesical normal. El 28.2 % presentaron inestabilidad vesical y el 7.7 % vejiga neurógena. El 83.7 % de niños con NR moderada presentaron función vesical normal, el 11.6 % vejiga inestable y el 4.7 % vejiga neurógena. Por último, el 66.7 % de los pacientes con NR grave tuvieron una función vesical normal, el 14.8 % inestabilidad vesical y el 18.5 % vejiga neurógena. (Tabla 8). (Fig.11).

**Tabla 8: Función vesical por grupos (porcentaje y frecuencia)**

	NR LEVE	NR MODERADA	NR GRAVE	TOTAL
NORMAL	61.5 (n=24)	83.7 (n=36)	66.7 (n=18)	71.5 (n=78)
VEJIGA INESTABLE	28.2 (n=11)	11.6 (n=5)	14.8 (n=4)	18.3 (n=20)
VEJIGA NEURÓGENA	7.7(n=3)	4.7 (n=2)	18.5(n=5)	9.1 (n=10)
TOTAL	100 (n=39)	100 (n=43)	100 (n=27)	100 (n=109)

El nº de casos con vejiga neurógena fue mayor en el grupo de NR grave y el nº de casos con función vesical normal, fue mayor en el grupo de NR moderada. El grupo con NR leve presentó mayor nº de casos con vejiga inestable que el grupo de NR moderada y grave.

### 1.10.- Grado de lesión renal determinada por la gammagrafía DMSA por grupos

#### 1.10.1.- Presencia de NR por riñón en cada grupo

Se tuvieron en cuenta las agencias renales, por lo que riñones izquierdos había 107 (2 agencias renales izquierdas) y derechos 108 (1 dcha.), en total, 215 unidades renales. Todos los pacientes con agenesia renal pertenecían al grupo de graves. (Tablas 9.1.a y 9.1.b). (Fig. 12).

**Tabla 9.1.a: Presencia de NR en el riñón izquierdo por grupos de lesión**

	Nº de casos (n=107)	Porcentaje
NR LEVE (n=39)	28	71,7
NR MODERADA (n=43)	26	60,4
NR GRAVE (n=25)	25	100
TOTAL	79	73,8

Tabla 9.1.b: Presencia de NR en el riñón derecho por grupos de lesión

	Nº de casos (n=108)	Porcentaje
<b>NR LEVE (n=39)</b>	19	48,7
<b>NR MODERADA (n=43)</b>	24	55,8
<b>NR GRAVE (n=26)</b>	25	96,1
<b>TOTAL</b>	68	62,9

Los porcentajes se han referido al grupo de lesión.

El riñón izquierdo se encontró globalmente más afectado que el derecho (73.8% vs 62.9%).

#### 1.10.2.- Grado de NR en cada riñón (Clasificación de Goldraich)

Se recogen los grados de lesión que presentaron los pacientes por riñón en la Tabla 9.2. y la Figura 12. Los porcentajes se han referido al nº de riñones (107 izq.y 108 dchos.).

Tabla 9.2: Grado de lesión renal por riñón (porcentaje y frecuencia)

	RIÑÓN IZQ. (n=107)	RIÑÓN DCHO. (n=108)
<b>0</b>	26,1 (n=28)	37 (n=40)
<b>1</b>	23,4 (n=25)	21,3 (n=23)
<b>2</b>	18,7 (n=20)	5,5 (n=6)
<b>3</b>	22,4 (n=24)	27,7 (n=30)
<b>4</b>	9,3 (n=10)	8,3 (n=9)

El riñón dcho. estuvo exento de lesión en mayor nº de ocasiones que el izq.: 40 (37%) vs 28 (26.1%). Treinta y cuatro riñones izquierdos (31.7%) presentaron lesiones grado 3 y 4; treinta y nueve riñones derechos (36%) presentaron lesiones grado 3 y 4. La gravedad de la NR fue similar en los dos riñones, aunque en el riñón derecho el número de casos con NR grados 3 y 4 fue algo mayor que en el izquierdo: 39 (36%) vs 34 (31.7%).



### 1.11.- Lateralidad de la afectación renal

En la Tabla 10 se comparan la lateralidad de la afectación renal en cada grupo:

**Tabla 10: Lateralidad de la lesión renal global y por grupos (porcentaje y frecuencia)**

	NR LEVE	NR MODERADA	NR GRAVE
<b>NR BILATERAL (n=38)</b>	12.8 (n=5)	16.3 (n=7)	96.3 (n=26)
<b>NR UNILATERAL (n=71)</b>	87.2 (n=34)	83.7 (n=36)	3.7 (n=1)
<b>TOTAL (n=109)</b>	100 (n=39)	100 (n=43)	100 (n=27)

En el grupo de NR grave la afectación fue bilateral en el 96.3% de los casos. (Fig. 13).

### 1.12.- Complicaciones

#### 1.12.1.- HTA

Ningún paciente presentó HTA.

En la Tabla 11.1 se recoge el nº de casos por percentiles de TAS y TAD en cada grupo de lesión renal.

**Tabla 11.1: N° de casos por PAS y PAD y por grupos de NR**

	PAS				PAD			
	P10-24	P25-49	P50-74	P75-90	P10-24	P25-49	P50-74	P75-90
<b>SANOS</b>	13	14	10	6	15	10	13	5
<b>NR LEVE</b>	10	13	9	7	11	10	12	6
<b>NR MODERADA</b>	12	14	10	7	12	13	12	6
<b>NR GRAVE</b>	8	9	5	5	9	10	5	3

Como puede apreciarse en la tabla el nº de casos en cada intervalo de percentiles fue similar en todos los grupos de lesión.

#### 1.12.2.- IRC

Presentaron IRC 18 pacientes (16.5%): 15 (13.7%) IR moderada y 3 (2.7%) IR grave. De los 18 pacientes, 16 pertenecían al grupo de NR grave y 2 al de NR moderada.

La distribución por grupos puede verse en la tabla 11.2. y la Figura 14.

Tabla 11.2: Presencia de IRC por grupos de lesión (porcentaje y frecuencia)

	NR LEVE	NR MODERADA	NR GRAVE	TOTAL
IRC leve	0	0	0	0
IRC moderada	0	4,6 (n=2)	48,1 (n=13)	13,7 (n=15)
IRC grave	0	0	11,1 (n=3)	2,7 (n=3)
TOTAL	0 (n=39)	4,6 (n=43)	59,2 (n=27)	16,5 (n=109)

Nota: IRC: insuficiencia renal crónica

### 1.13.- Marcadores de lesión renal y FG en los casos y controles

Los valores medios de los mismos y su desviación estándar quedan reflejados en la tabla 12.

Tabla 12: Marcadores de lesión y FG en los casos y controles (M ± DT)

	SANOS	NR LEVE	NR MODERADA	NR GRAVE
n	43	39	43	27
FG (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	102,3± 20,2	106,0±12,5	97,5±15,8	76,9±22,6
MA/cro (mg/g)	14,3±22,9	28,1±84,4	29,5±34,7	60,4±70,2
A1M/cro (mg/g)	5,9±4,1	6,0±5,0	6,4±4,0	17,1±29,1
IL-6/cro (pg/mg)	35,0±21,8	39,3±38,4	59,6±67,5	63,9±51,2
IL-8/cro (pg/mg)	33,8±84	50,6±94,5	39,4±126,7	60,5±135,9
PIII/cro (µg)	7,3±5,8	6,1±8,8	9,1±14,5	10,2±10,9

Nota: FG: filtrado glomerular; MA: microalbúmina; A1M: alfa-1-microglobulina; IL-6: Interleucina 6; IL-8: Interleucina 8; PIII: procolágeno III. Cro: creatinina en orina; g: gramo; mg: miligramo; pg: picogramo; µg: microgramo.

Los pacientes con IRC presentaron los siguientes valores medios de los marcadores de lesión:

MA/cro: 68.53 ± 93.53 mg/g

A1M/cro: 22.8 ± 34.5 mg/g

IL-6/cro: 77.01 ± 58.19 pg/mg

IL-8/cro: 77.23 ± 164.3 pg/mg

PIII/cro: 12.32 ± 12.65 µg

Como puede apreciarse en todos los casos los valores son mayores que los presentados por los pacientes del grupo de NR grave.

## 2.-DIFERENCIAS DE LAS DISTINTAS VARIABLES CATEGÓRICAS POR GRUPOS DE LESIÓN

Se construyeron tablas de contingencia y se utilizó el test exacto de Fisher con objeto de estudiar la significación.

Las diferentes variables estudiadas fueron:

- Sexo
- Profilaxis antibiótica
- Cirugía
- Uropatía
- Función vesical
- Grado de lesión renal
- Lateralidad de la lesión

Presentaron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) todas las variables, excepto el sexo.

### 2.1.- Relación entre el sexo y los grupos de NR

Ver Tabla 13.

**Tabla 13: Porcentaje y frecuencia de hombres y mujeres por grupo de NR**

GRUPO	SEXO			TOTAL
	Hombre	Mujer	TOTAL	
NR LEVE	33,3 (n=13)	66,7 (n=26)	100 (n=39)	
NR MODERADA	55,8 (n=24)	44,2 (n=19)	100 (n=43)	
NR GRAVE	59,3 (n=16)	40,7 (n=11)	100 (n=27)	
SANOS	51,2 (n=22)	48,8 (n=21)	100 (n=43)	
TOTAL	49,3 (n=75)	50,7 (n=77)	100 (n=152)	
E. E. Fisher valor-gl-p	5,817 – 3 – 0.123			

No se encontraron diferencias significativas respecto al sexo en los grupos de NR y en los controles ( $p > 0.05$ ). (Fig.1).

## 2.2.- Relación entre la profilaxis antibiótica y los grupos de NR

Tabla 14: Porcentaje y frecuencia de pacientes que recibieron profilaxis por grupos NR

GRUPO	PROFILAXIS			TOTAL
		SI	NO	
NR LEVE	64,1 (n=25)	35,9 (n=14)	100 (n=39)	
NR MODERADA	39,5 (n=17)	58,1 (n=25)	100 (n=43)	
NR GRAVE	11,1 (n=3)	85,2 (n=23)	100 (n=27)	
E. E. Fisher valor-gl-p	67,0 – 6 – 0.001			

Se encontró relación significativa ( $p < 0.01$ ) entre la profilaxis antibiótica y el grupo de lesión renal. El mayor número de niños con profilaxis antibiótica correspondió al grupo de niños con NR leve, con 25 casos (64.1%) y el mayor n° de niños sin profilaxis antibiótica perteneció al grupo de NR grave, con 23 casos (85.2%). (Fig.6).

## 2.3.- Relación entre la cirugía realizada y el grupo de NR

Tabla 15: Porcentaje y frecuencia de casos que recibieron cirugía por grupos

GRUPO	CIRUGIA			TOTAL
		SI	NO	
NR LEVE	30.7 (n=12)	69,2 (n=27)	100 (n=39)	
NR MODERADA	53,5 (n=23)	46.5 (n=20)	100 (n=43)	
NR GRAVE	81,5 (n=22)	18.5 (n=5)	100 (n=27)	
E.E.FISHER valor-gl-p	68,02 – 6 – 0.001			

Existe relación estadísticamente significativa entre el grupo de lesión y la cirugía recibida ( $p < 0.01$ ). El 81.5 % de pacientes del grupo de NR grave habían sido intervenidos de algún tipo de uropatía. (Fig. 10).

## 2.4.-Relación entre la uropatía y los grupos de NR

Puede apreciarse en la tabla 16.

**Tabla 16 Porcentaje y frecuencia de uropatía por paciente y grupo de lesión**

	NR LEVE	NR MODERADA	NR GRAVE	TOTAL
<b>No Uropatía</b>	10,2 (n=4)	2,3 (n=1)	0	4,5 (n=5)
<b>RVU I-III</b>	48,7 (n=19)	32,5 (n=14)	14,8 (n=4)	33,9 (n=37)
<b>RVU IV y V</b>	33,3 (n=13)	51,2 (n=22)	59,2 (n=16)	46,7 (n=51)
<b>Estenosis no obstructivas</b>	5,1 (n=2)	2,3 (n=1)	3,7 (n=1)	3,6 (n=4)
<b>Estenosis obstructivas</b>	2,5 (n=1)	11,6 (n=5)	11,1 (n=3)	8,2 (n=9)
<b>Displasias Agenesia Nefrectomía</b>	0	0	11,1 (n=3)	2,7 (n=3)
<b>Total</b>	100 (n=39)	100 (n=43)	100 (n=27)	100 (n=109)
<b>E.E. Fisher Valor-gl-p</b>	19,867 - 10 - 0,007			

Se encontró asociación estadísticamente significativa entre el grupo de lesión y la presencia de uropatía en cada paciente ( $p=0.007$ ). (Fig.7).

La frecuencia y porcentaje de uropatías graves (RVU severo, estenosis obstructivas y displasias, agenesias y/o nefrectomías) en los grupos de lesión fueron las siguientes:

- 14 casos de 39 (35.8%) en el grupo de NR leve
- 27 casos de 43 (62.7%) en el grupo de NR moderada
- 22 casos de 27 (81.5%) en el grupo de NR grave

A medida que aumenta el grado de lesión aumenta significativamente el porcentaje y el número de casos de uropatías graves.

## 2.5.- Relación entre la función vesical y los grupos de NR

Puede apreciarse en la tabla 17.

**Tabla 17: Función vesical por grupos de lesión (porcentaje y frecuencia)**

FUNCION VESICAL					
GRUPO		Normal	Inestabilidad Vesical	Vejiga Neurógena	Total
	NR LEVE	61,5 (n=25)	28,2 (n=11)	7,9 (n=3)	100 (n=39)
	NR MODERADA	88,4 (n=38)	11,6 (n=5)	0	100 (n=43)
	NR GRAVE	70,4 (n=19)	15,4 (n=4)	15,4 (n=4)	100 (n=27)
	TOTAL	75,4 (n=82)	18,3 (n=20)	6,4 (n=7)	100 (n=109)
E.E.Fisher Valor-gl-p	10,47 - 4 - 0.022				

Se encontró relación estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) entre el grupo y la función vesical. En el grupo de NR grave el porcentaje de niños con vejiga neurógena (15.4%) fue significativamente mayor que en los otros dos grupos (tabla 17). (Fig.11).

## 2.6.- Relación entre la lateralidad de la cicatriz renal y los grupos de NR

Se encontró relación estadísticamente significativa entre el grupo y la lateralidad de la afectación. (tabla 19).

**Tabla 19: Lateralidad de la cicatriz renal por grupos (porcentaje y frecuencia)**

LATERALIDAD DE LA NR				
GRUPO		Bilateral	Unilateral	Total
	NR LEVE	12,8 (n=5)	87,2 (n=34)	100 (n=39)
	NR MODERADA	16,3 (n=7)	83,7 (n=36)	100 (n=43)
	NR GRAVE	96,3 (n=26)	3,7 (n=1)	100 (n=27)
	TOTAL	25 (n=38)	46,7 (n=71)	100 (n=109)
E.E.Fisher Valor-gl-p	224,30 - 6 - 0.001			

Los pacientes con NR grave presentaron un porcentaje significativamente superior de afectación bilateral ( $p < 0.01$ ) y los de NR leve y moderada un porcentaje significativamente superior de afectación unilateral ( $p < 0.001$ ) (tabla 19). (Fig. 13).

### 3.- CORRELACIÓN ENTRE LOS MARCADORES DE LESIÓN Y EL FG CON DISTINTAS VARIABLES Y ENTRE SÍ

#### 3.1.- Correlaciones entre los marcadores de lesión, el FG, la edad, la TAS y la TAD.

Los marcadores de lesión resultaron ser independientes de la edad, la TAS y TAD cuando se hicieron las comparaciones en el conjunto de los pacientes. (Tabla 26).

Tabla 26: Correlaciones entre los marcadores de lesión y el FG con la edad, la TAD y la TAS

	EDAD	TAS	TAD
MA/cro	0,06	-0,10	-0,18
Alfa1/cro	-0,17	-0,05	0,15
IL-8/cro	-0,05	-0,15	0,18
IL-6/cro	-0,13	-0,07	-0,01
PIII/cro	-0,08	-0,05	-0,09
FG	0,003	0,03	0,16

(\*): p<0.05; (\*\*): p<0.01; (\*\*\*): p<0.001.

#### 3.2.- Correlaciones de los marcadores de lesión y el FG entre sí

Tabla 27: Correlaciones entre marcadores de lesión y el FG

	Ma/cro (mg/g)	Alfa1/cro (mg/g)	IL-8/cro (pg/mg)	IL-6/cro (pg/mg)	PIII/cro (m/g)	FG ml/min/m <sup>2</sup>
Ma/cro (mg/g)						
Alfa1/cro (mg/g)	0,23*					
IL-8/cro (pg/mg)	0,28**	0,26**				
IL-6/cro (pg/mg)	0,33**	0,64**	0,31*			
PIII/cro (m/g)	0,21*	0,31**	0,09	0,24*		
FG ml/min/m <sup>2</sup>	-0,05	-0,29**	-0,14	-0,35**	0,13	

(\*) p<0,05; (\*\*) p<0,01

Se han demostrado numerosas correlaciones entre los marcadores de lesión entre sí y con el FG. Prácticamente todos los marcadores de lesión están significativamente relacionados, excepto el procolágeno tipo III, que es independiente de la IL-8 y el FG.

Destacan por su mayor coeficiente de correlación:

- La IL-6 con la alfa1-microglobulina ( $r=0.64$ ,  $p<0.001$ ), con la microalbúmina ( $r=0.33$ ,  $p<0.01$ ) y con la IL-8 ( $r=0.31$ ,  $p<0.05$ )
- La IL-8 con la microalbúmina ( $r=0.28$ ,  $p<0.01$ ) y con la alfa1-microglobulina ( $r=0.26$ ,  $p<0.01$ ).

#### 4.- RELACIÓN ENTRE LA LATERALIDAD DE LA NR, LOS MARCADORES DE LESIÓN Y EL FG

Ver tabla 20.

**Tabla 20: Relación entre la lateralidad de la NR y los marcadores urinarios y el FG  
(M ± DT)**

	Ma/cro (mg/g)	Alfa1/cro (mg/g)	IL-8/cro (pg/mg)	IL-6/cro (pg/mg)	PIII/cro (μg)	FG (ml/min/m <sup>2</sup> )
<b>Bilateral</b>	40,9 ± 69,5	14,2 ± 25,3	55,1± 122,2	56,6 ± 47,4	11,6 ± 17,5	85,2 ± 23,6
<b>Unilateral</b>	24,6 ± 67,6	6,3 ± 4,7	45,4 ± 116,6	52 ± 58,9	6,6± 7,1	100,7 ± 5,8
<b>Chi-cuadrado exp-gl-p</b>	2,42-1- 0,12	5,12-1-0,024	0,000-1-0,995	3,12-1-0,077	3,76-1-0,053	10,03-1-0,002

No se encontró relación estadísticamente significativa entre la microalbuminuria, la IL-8, la IL-6 y el procolágeno ( $p>0.05$ ) y la lateralidad de la lesión, aunque la relación entre la IL-6 y el procolágeno estuvo cercana a la significación ( $p=0.077$  y  $p=0.053$  respectivamente), de modo que los valores más altos de estos marcadores se encontraron en los pacientes que presentaron lesión renal bilateral. (Fig. 15).

Fue significativa la relación entre la alfa1-microglobulina y el FG y la lateralidad de la NR ( $p=0.024$  y  $p=0.002$  respectivamente). Los valores más altos de alfa1-microglobulina y el FG más bajo se dieron en los pacientes con NR bilateral. (Fig.15).



## 5.- COMPARACIONES ENTRE LOS GRUPOS DE NR Y LOS MARCADORES DE LESIÓN

La microalbúmina, la alfa<sub>2</sub>-microglobulina y el colágeno se dividieron por la creatinina expresada en gramos y la IL-6 y 8 se dividieron por la creatinina expresada en miligramos, para hacer el resultado del cociente más manejable.

Se empleó el test de Kruskal-Wallis dada la no-normalidad de las variables.

### 5.1.- Excreción de microalbuminuria en los controles y en los grupos de lesión

Tabla 28: MA/cro (mg/g) en los diferentes grupos de casos y controles

	M ± DT	P25	P75
<b>NR Leve</b> (n=39)	28,15±84,47*	5.6	19.0
<b>NR Moderada</b> (n=43)	29.55±34.67*	4.8	26.6
<b>NR Grave</b> (n=27)	60.37±70.25*	5.9	78.5
<b>Sanos</b> (n=43)	14.3±22.9	5.1	13.6
<b>Chi-cuadrado-gl-p</b>	5.74 - 3 - 0.012		

\*p<0.05: entre sanos y conjunto pacientes

Se obtuvieron niveles medios de MA/cro de  $28.15 \pm 84.47$  mg/g (P25=5.6 y P75=19) en el grupo de NR leve; de  $29.55 \pm 34.67$  mg/g (P25=4.8 y P75=26.6) en el de NR moderada; de  $60.37 \pm 70.25$  mg/g (P25=5.9 y P75=78.5) en el grupo de NR grave y  $12.3 \pm 20.9$  mg/g (P25=5.1 y P75=13.6) en el de sanos.

Se encontraron diferencias significativas entre los valores de microalbúmina en los niños sanos y los valores del conjunto de pacientes ( $p=0.012$ ). Al hacer las comparaciones controlando por la edad se obtuvieron los mismos resultados. (Fig. 16).

Los valores medios de MA/cro en los niños con IRC fueron significativamente superiores a los de los niños con NR grave:  $68.53 \pm 95.53$  mg/g vs  $60.37 \pm 70.25$  mg/g.

## 5.2.- Excreción urinaria de Alfa1-microglobulina en los controles y en los grupos de lesión

Tabla 29: Alfa-1/cro (mg/g) en los grupos de estudio y en los niños sanos

	M ± DT	P25	P75
<b>NR Leve</b> (n=39)	6,1±5,0	3,1	7,0
<b>NR Moderada</b> (n=43)	6,5±4,1	3,0	9,4
<b>NR Grave</b> (n=27)	17,1±29,2*	4,8	14,3
<b>Sanos</b> (n=43)	5,9±4,1	3,2	8,3
<b>Chi-cuadrado-gl-p</b>	11,857 - 3 - 0,026		

\*p<0.05 entre NR grave y resto de casos y controles

Se encontraron niveles medios de alfa-1/cro de  $0.61 \pm 0.50$  mg/g (P25=0.31 y P75=0.7) en el grupo de NR leve, de  $0.65 \pm 0.41$  mg/g (P25=0.30 y P75=0.94) en los de NR moderada; de  $1.71 \pm 2.92$  mg/g (P25=0.48 y P75=1.43) en los niños con NR grave y de  $0.59 \pm 0.41$  mg/g (P25=0.32 y P75=0.41) en los sanos. Los valores en los niños con IRC fueron los siguientes:  $22.8 \pm 34.5$  mg/g, superiores a los de los pacientes con NR grave.

Hechas las comparaciones por parejas se obtuvo que las diferencias provenían de que los grupos de NR leve y moderada y los controles tienen niveles significativamente inferiores a los del grupo de graves ( $p<0.05$ ). Con el modelo multivariante para controlar por la edad se obtuvieron los mismos resultados. (Fig. 17).

### 5.3.- Excreción urinaria de IL-8 en los controles y en los grupos de lesión

Tabla 30: IL-8/cro (pg/mg) en los diferentes grupos de estudio y en los controles

	M ± DT	P25	P75
<b>NR Leve</b> (n=39)	50,57±94,55*	3,46	45,63
<b>NR Moderada</b> (n=43)	39,44±126,7*	1,28	29,97
<b>NR Grave</b> (n=27)	60,49±135,9*	4,08	30,41
<b>Sanos</b> (n=43)	33,8±84,02	0,15	12,5
<b>Chi-cuadrado-gl-p</b>	11,857 - 3 - 0,008		

\*p<0.01 entre controles y casos

Se encontraron valores medios de IL-8 de  $50.57 \pm 94.55$  pg/mg (P25=3.46 y P75=45.63) en el grupo de NR leve; de  $39.44 \pm 126.7$  pg/mg (P25=1.28 y P75=29.97) en el de NR moderada; de  $60.49 \pm 135.9$  pg/mg (P25=4.08 y P75=30.41) en el de NR grave y de  $33.8 \pm 84.02$  pg/mg (P25=0.15 y P75=12.5) en el de sanos. En los pacientes con IRC, los valores fueron  $77.23 \pm 164.30$  pg/mg, superiores a la media de los niños con NR grave.

Al hacer las comparaciones por parejas para este marcador la única diferencia que dio claramente significativa es la de los niños sanos contra los niños con NR en general (P<0.005), sin que haya diferencias entre los subgrupos de casos de NR leve, moderada y grave.

Repetido el análisis controlando por la edad se obtuvieron los mismos resultados.

Por tanto, los niveles de IL-8 son significativamente inferiores en los niños sanos respecto de los que presentan algún grado de NR. (Fig. 18).

#### 5.4.- Excreción urinaria de IL-6 en los controles y en los grupos de lesión

Tabla 31: IL-6/cro (pg/mg) en los grupos de estudio y los controles

	M ± DT	P25	P75
<b>NR Leve</b> (n=39)	39,32±38,39	16,29	42,82
<b>NR Moderada</b> (n=43)	59,59±67,54*	24,22	70,80
<b>NR Grave</b> (n=27)	63,98±51,24*	33,52	70,17
<b>Sanos</b> (n=43)	35,02±21,81	19,72	43,90
<b>Chi-cuadrado-gl-p</b>	14.122 - 3 - 0,003		

\*p<0.01 entre los sanos y NR leve y NR moderada y grave

Los valores medios de IL-6 en el grupo de NR leve fueron de  $39,32 \pm 38,39$  pg/mg (P25=16.29 y P75=38.39); de  $59,59 \pm 67,54$  pg/mg (P25=24.22 y P75=70.80) en el grupo de NR moderada; de  $63,98 \pm 51,24$  pg/mg (P25=33.52 y P75=70.17) en el grupo de NR grave y de  $35,02 \pm 21,81$  pg/mg (P25=19.72 y P75=43.90) en los niños sanos. En los pacientes con IRC los valores fueron  $77,01 \pm 58,19$  pg/mg, superiores a los de los niños con NR grave.

Se hicieron las comparaciones por parejas y se encontró que la diferencia que da claramente significativa es la de los niños sanos o del grupo de NR leve contra los niños con NR moderada y grave ( $p<0,001$ ), sin que hubiera diferencias entre los niños del grupo de lesión leve y los niños sanos ni entre los de lesión grave y moderada.

Se repitió el análisis controlando por la edad y se obtuvieron los mismos resultados. Por tanto, los valores de IL-6 no difieren en los niños sanos y aquellos con NR leve y a su vez estos son significativamente inferiores a los valores en niños con NR moderada y grave. (Fig.19).

### 5.5.- Excreción urinaria de Procolágeno tipo III en los controles y en los grupos de lesión

Tabla 32: PIII/cro ( $\mu$ /g) en los diferentes grupos de lesión y los controles

	M $\pm$ DT	P25	P75
<b>NR Leve</b> (n=39)	6.15 $\pm$ 8.81	3.43	6.29
<b>NR Moderada</b> (n=43)	9.06 $\pm$ 14.48*	3.61	9.30
<b>NR Grave</b> (n=27)	10.22 $\pm$ 10.94*	4.15	11.44
<b>Sanos</b> (n=43)	7.32 $\pm$ 5.83	4.97	8.22
<b>Chi-cuadrado-gl-p</b>	10,455 - 3 - 0,015		

\*p<0.05 entre sanos y NR leve y NR moderada y grave

Los valores medios de PIII/cro en el grupo de NR leve fueron de  $6.15 \pm 8.81 \mu$ /g (P25=3.43 y P75=6.29); de  $9.06 \pm 14.48 \mu$ /g (P25=3.61 y P75=9.30) en el de NR moderada; de  $10.22 \pm 10.94 \mu$ /g en el de NR grave (P25=4.15 y P75=11.44) y de  $7.32 \pm 5.83 \mu$ /g en el de sanos (P25=4.97 y P75=8.22). En los niños con IRC se obtuvieron valores medios superiores a los de los niños con NR grave:  $12.32 \pm 12.65$  vs  $10.22 \pm 10.94 \mu$ /g.

Al igual que ocurría con la IL-6, una vez realizadas las comparaciones por parejas, la única diferencia que dio significativa fue la de los controles o niños con NR leve contra los niños con NR moderada y grave ( $p < 0.01$ ) y no se encontraron diferencias significativas entre los sanos y con afectación leve y lesión moderada y grave entre sí. Al controlar por la edad se obtuvieron los mismos resultados, incrementándose la significación ( $p < 0.005$ ). En conclusión, los valores del procolágeno tipo III son significativamente inferiores en los niños sanos y con NR leve a los de los niños con NR moderada y grave. (Fig. 20).

## 5.6.- Comparaciones entre grupos de lesión y el FG

Tabla 33: FG (ml/min/1.73m<sup>2</sup>) en los grupos de lesión y en los controles

	M ± DT	P25	P75
<b>NR Leve</b> (n=39)	106,0±12,5	98	115,25
<b>NR Moderada</b> (n=43)	97,54±15,82	87,27	105,9
<b>NR Grave</b> (n=27)	76,93±22,65*	56	96
<b>Sanos</b> (n=43)	102,3±20,23	92	114,13
<b>Chi-cuadrado-gl-p</b>	35,181 - 3 - 0.001		

\*p<0.01 entre NR grave y resto casos y controles

Destacan los valores medios del filtrado glomerular en el grupo de NR grave, que fueron significativamente inferiores al resto de grupos (76.93 ± 22.65 ml/min/1.73m<sup>2</sup>) (P25=56 y P75=96) (p<0.001).

No se encontraron diferencias significativas en el FG del resto de los grupos entre sí, incluidos los niños sanos.

Al realizar las comparaciones controlando por la edad se obtuvieron los mismos resultados. (Fig.21).

# DISCUSIÓN

La nefropatía por reflujo sigue siendo actualmente tema de debate. Aún permanecen oscuros aspectos tales como su origen, mecanismos de progresión y factores asociados que intervienen en la formación de la cicatriz renal.

Fue definida por Bailey hace 30 años con el término “Nefropatía por Reflujo” haciendo referencia a las cicatrices que se asocian a reflujo vesico-ureteral, en sustitución del término “pielonefritis crónica”. A lo largo de estos años se han ido acumulando una serie de conocimientos que han hecho que el término NR resulte confuso. La etiología de la cicatriz renal es multifactorial, y por tanto el RVU no es requisito indispensable para el desarrollo de la misma. Intervienen factores tales como la infección del tracto urinario, la presencia de uropatía con o sin reflujo asociado, y factores genéticos (Gordon 1995, Bailey 1993, Steinhardt 1985, Morrisey 1998, Baraibar 2000, Wolf 2000).

Las principales complicaciones evolutivas de la NR son la HTA y la Insuficiencia Renal. En series de niños con RVU y NR se describe la aparición posterior de una HTA hasta en el 10-20% de los pacientes (Jacobson y cols 1989, Dick y Feldman 1996) y en series publicadas de niños con IRT se comunica que el 5-20% pueden ser atribuidas a pielonefritis (Habib y cols 1973, Jacobson 1989).

Ante estos datos el diagnóstico y el tratamiento precoz de la NR y el conocimiento de los factores que intervienen en su desarrollo y progresión son temas prioritarios.

En nuestro estudio, basándonos en los conocimientos actuales sobre la etiología y fisiopatología de la formación de la cicatriz renal se estudian algunos marcadores urinarios de NR con el objetivo de averiguar su utilidad para un diagnóstico precoz y un seguimiento evolutivo de los pacientes con una técnica poco invasiva.

## **1.- COMENTARIOS AL ESTUDIO ESTADÍSTICO DESCRIPTIVO**

### **1.1.- Sexo**

La distribución por sexos fue muy similar tanto en los casos como en los controles, globalmente (49.3% varones y 50.7% mujeres). Existió un discreto predominio de varones frente a mujeres en todos los grupos de lesión, excepto en el de NR leve, en que predominaron las mujeres con un 66.7% frente a un 33.3% de varones. Estas diferencias no fueron significativas ( $p=0.123$ ).

### **1.2.- Antecedentes familiares**

En la bibliografía existen numerosas referencias a los antecedentes familiares de uropatía (Bailey 1973, Bailey 1993, Heale 1997, Puri y cols 1998). Está ampliamente reconocida la influencia genética en las uropatías, sobre todo en el RVU (Noe 1995, Heale



1997). Se describe una prevalencia en los hermanos de niños con RVU del 26 al 45% (Noe 1995, Gordillo y cols 1996 (b), Pedrero y cols 1996).

En esta serie se han recogido 26 casos (23.8%) con antecedentes familiares de uropatía, cifra similar a la encontrada en otros estudios (Gordillo y cols 1996, Bravo 1997).

### **1.3.- Edad**

La media de edad fue similar en el grupo de controles y en los subgrupos de niños con NR leve y moderada ( $7.2 \pm 3.6$ ,  $8.5 \pm 2.7$  y  $8.3 \pm 3.6$  años respectivamente). Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.05$ ) entre los controles y los niños con NR leve y moderada con el grupo de lesión grave, en el que la media de edad fue significativamente superior ( $10.02 \pm 3.2$  años). Esto puede deberse a que los niños de mayor edad llevan más tiempo de evolución porque las lesiones renales son progresivas e irreversibles (Smellie 1975, Areses 2000).

### **1.4.- Edad al diagnóstico de NR y tiempo de evolución**

La edad al diagnóstico fue similar en los tres grupos de lesión ( $4.2 \pm 3.03$  años en el grupo de NR leve,  $2.5 \pm 2.7$  años en el de lesión moderada y  $3.05 \pm 3.3$  años en el de graves). Sí hubo diferencias en cuanto al porcentaje de niños que se diagnosticaron en el primer año de vida (10% en el grupo de NR leve, 18.6% en el de NR moderada y 23% en el de NR grave).

Asimismo, el tiempo de evolución medio de la lesión en el grupo de NR grave fue superior al del resto de grupos ( $7.05 \pm 4.55$  años vs  $4.1 \pm 2.6$  años en el de NR leve y  $5.7 \pm 3.02$  años en el de NR moderada).

Esto puede ser debido a que la NR es una lesión que se desarrolla en situación de crecimiento rápido del riñón y cuanto más precozmente se produzca el daño renal más grave será la lesión que se desarrolle con el paso del tiempo (Rodríguez y cols 1990, Bailey y Rolleston 1997).

### **1.5.- N° de ITUs y profilaxis**

En cuanto al n° de ITUs, los niños del grupo de NR moderada fueron los que menos presentaron ( $1.3 \pm 1.7$  vs  $2.1 \pm 2.4$  en el grupo de leves y  $2.2 \pm 2.7$  en el de lesión grave), aunque las diferencias no fueron muy marcadas.

Estas cifras concuerdan con lo expuesto por varios autores en cuanto a la influencia de la ITU en la patogenia de la NR: aunque la ITU es importante, intervienen también otros factores tales como la susceptibilidad del paciente, factores genéticos, uropatía asociada (Espinosa y Navarro 1998, Cochat y cols 1998, Palmieri 2002); si la ITU fuera el único factor implicado los pacientes con mayor grado de lesión deberían haber padecido mayor n° de

ITUs, mientras que en nuestro estudio los niños con lesión leve y grave presentaron menos ITUs que los de NR moderada.

Respecto a la profilaxis antibiótica, existen diferencias estadísticamente significativas ( $p < 0.01$ ) entre grupos: los niños con lesión leve recibían profilaxis en el momento de la realización del estudio en mayor número (64.1% frente a 39.5% en el grupo de lesión moderada y 11.1% en el de lesión grave). Los pacientes con NR grave presentaban las uropatías más severas, las cuales precisan intervención quirúrgica precoz y tras esta la profilaxis antibiótica se retira, de aquí que este grupo fuera el que menor porcentaje presentó.

### **1.6.- Presencia de Uropatía**

Las uropatías malformativas se detectan fundamentalmente tras estudiar a pacientes con infección urinaria o con ecografía prenatal patológica, siendo el RVU la más frecuente (Jund y Vernet 1992, Jones y Asscher 1992, Bensman y cols 1992).

En esta serie fue el RVU la uropatía más frecuente, con 88 casos (80.6 %), y dentro de éste, fue más frecuente el RVU grave (grados IV y V) que el leve (grados I a III), con 51 casos (46.7%) y 37 casos (33.9%) respectivamente. Bravo (1997) en su estudio sobre parámetros predictivos de la cicatriz renal en el niño, encuentra cifras similares (78.1% de RVU, aunque en su serie fue más frecuente el RVU leve que el grave (47.3% vs 30.8%), posiblemente porque los datos se refieren a pacientes con uropatía y/o infección, mientras que nuestro estudio hace referencia a pacientes con NR.

La segunda uropatía en frecuencia fueron las estenosis, siendo las obstructivas, con 9 casos (8.2%) las más frecuentes. En cuanto a las no obstructivas se observaron 4 casos (3.6%).

Algunos pacientes presentaron más de una uropatía asociada.

Se encontró asociación significativa ( $p < 0.01$ ) entre la gravedad de la uropatía y la de la NR en el conjunto de los pacientes: los reflujos severos, las estenosis obstructivas y las displasias, agenesias renales y/o nefrectomías se asociaron significativamente con NR grave. Los datos concuerdan con los de otros estudios, si bien la mayoría comparan únicamente el grado de lesión renal con el RVU (Gordon 1990, Rosenberg y cols 1992, Andrich y Majd 1992, Merrick 1995 y cols, Gleeson y Gordon 1991).

Encontramos 5 casos (4.5%) de niños con NR que no presentaron ningún tipo de uropatía. En estudios realizados en pacientes investigados por ITU las cifras de niños sin uropatía son más altas [22% en el estudio de Bravo (1997), 17-19% en los trabajos de Smellie y cols 1985, Jacobson y cols, 1992]. Estas diferencias pueden ser debidas a que en nuestro estudio los pacientes están más seleccionados y todos presentan lesión renal, mientras que en

los estudios mencionados se investigan pacientes que han presentado ITU y/o uropatía y no todos presentan NR.

### **1.7.-Tratamiento quirúrgico**

La intervención quirúrgica antirreflujo suele realizarse en RVU de grado IV-V que no se resuelven espontáneamente con la edad (Bailey 1997) y en grados más bajos si presentan infecciones urinarias de repetición (Pedrero y cols 1996, Farhat y cols 2000). En las uropatías obstructivas está indicado el tto. quirúrgico precoz (Palmieri 2000).

En esta serie fueron sometidos a cirugía 57 pacientes (52.3%), 46 de los cuales (42.2% del total de pacientes) eran RVU. Dentro de los casos de RVU (88 en total sumando los RVU leves, moderados y graves), 42 casos (47.7% de los pacientes con RVU) se resolvieron espontáneamente y 46 casos (52.2%) recibieron tto. quirúrgico. Las cifras halladas en la literatura respecto a la curación espontánea del RVU son muy dispares: un 20% en la serie de Elder (1992), un 41% en el trabajo de Bravo (1997), un 33% en el estudio de Barajas (1997) y un 49% en un estudio prospectivo del Birmingham Reflux Study Group (1987). En nuestra serie los casos de RVU leve y severo están muy igualados, con un discreto predominio de los RVU de grado IV y V (33.9% vs 46.7%. Las cifras de resolución espontánea de nuestra serie (47.7 %) son similares a las encontradas en la bibliografía.

En cuanto al resto de uropatías, se intervinieron quirúrgicamente 11 casos (10.1%): 7 casos de estenosis pieloureteral (6.4%), 2 casos de estenosis ureterovesical (1.8%) y 2 casos de válvulas de uretra (1.8%). Algunos pacientes se intervinieron de varias uropatías asociadas.

En relación a los subgrupos de lesión, en el grupo de NR leve fue donde menos pacientes se intervinieron (69.2% del total de pacientes) y los del grupo de NR grave los que mayor porcentaje de pacientes intervenidos presentaron (81.4%).

Estos datos sugieren que la gravedad de la NR se asocia significativamente con la presencia de uropatías más severas y complejas, que son las que precisan de la cirugía ( $p < 0.01$ ). Hallazgos similares se encuentran en la literatura, aunque la mayor parte de los trabajos la única uropatía que incluyen es el RVU (Barajas 1997, Estornell y cols 1987, Arant 1991, Jund y Vernet 1992, Bravo 1997, Gordon 1990).

### **1.8.- Función vesical**

Actualmente se considera que la inestabilidad vesical puede iniciar y perpetuar el RVU (Koff 1992, Gobet 1998) aunque está por demostrar su posible influencia en el desarrollo de cicatrices renales (Winberg 1992).

En este estudio presentaron disfunción vesical 30 pacientes (27.4%) de los cuales 20 (18.3%) correspondían a vejiga inestable y 10 (9.1%) a vejiga neurógena. La función vesical fue normal en 78 casos (71.5%) de los 109 pacientes.

Respecto al grado de lesión renal, la función vesical fue normal en la mayoría de los niños en los tres grupos (61.5% en el de NR leve, 83.7% en el de NR moderada y 66.7% en el de NR grave). El porcentaje de inestabilidad vesical fue mayor en el grupo de lesión leve (28.2% vs 11.6% y 14.8% en el de NR moderada y grave respectivamente). El porcentaje de vejiga neurógena fue mayor en el grupo de NR grave (18.5% vs 7.7% y 4.7% en el grupo de NR leve y moderada respectivamente).

En este estudio, las cifras halladas de inestabilidad vesical y vejiga neurógena en el conjunto de pacientes son similares a las encontradas por otros autores (Van Gool y cols 1992, Bravo 1997). En cuanto a la función vesical y al grado de NR, la inestabilidad vesical fue más frecuente en el grupo de NR leve, mientras que la vejiga neurógena fue más frecuente en los niños con mayor grado de lesión renal, encontrándose asociación estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ). Estos datos apoyan una relación entre la disfunción vesical severa y el desarrollo de cicatrices renales.

Así se constata en la bibliografía que la vejiga neurógena puede producir NR progresiva en el 15-67% de los casos si no se trata adecuadamente (Nijman 2001, Eckstein 1976), estando más en relación con la obstrucción infravesical que con el RVU secundario presente hasta en el 60% de los casos (Cohen y cols 1990).

### **1.9.-Lateralidad y grado de la lesión renal**

La uropatía, si no se diagnostica y se trata precozmente, puede llegar a producir NR (Palmieri 2000). En la bibliografía existente se constata que la uropatía se asocia frecuentemente a NR de diverso grado (Gobet y cols 1998, Bailey 1993).

La NR puede ser uni o bilateral. En este último caso y cuando las lesiones son extensas el riesgo de complicaciones es elevado (Bueno y cols 2001, Gordillo y De la Cruz 1996).

En este estudio seleccionado, todos los pacientes presentaron NR, uni o bilateral. El riñón izquierdo se encontró más afectado que el derecho: 79 (73.8%) riñones izquierdos con lesión frente a 68 (62.9%) derechos. Estos datos concuerdan con los observados por otros autores (Barajas 1997). La gravedad de la lesión fue similar en los dos riñones: 39 casos (36%) de NR moderada y grave en el riñón izquierdo vs 34 casos (31.7%) en el derecho.

La lesión fue bilateral en 38 casos (34.8%) y unilateral en 71 casos (61.5%). Por grupos de lesión, presentaron lesión bilateral 5 pacientes (12.8%) en el grupo de NR leve, 7

(16.3%) en el de NR moderada y 26 (96.3%) en el de NR grave. Se encontró asociación estadísticamente significativa ( $p < 0.01$ ) entre la bilateralidad de la afectación renal y el grupo de lesión, de modo que los pacientes con afectación renal bilateral tienen más riesgo de padecer NR grave.

### **1.10.- Presencia de complicaciones (HTA e IRC)**

La NR es la causa más frecuente de HTA en niños y adolescentes. Su prevalencia se sitúa en torno al 10-20% (Jacobson y cols 1989, Dick y Feldman 1996). Otros autores recogen una prevalencia del 0 al 38% (Shanon y Feldman 1990).

Generalmente aparece en la adolescencia, tras un periodo silente de 6 a 8 años y es más frecuente en los casos de NR bilateral (Jund y Vernet 1992, Goonasekera 1996). Su incidencia aumenta con el deterioro de la función renal (Köler y cols 1997). En el adulto, la prevalencia de HTA en los pacientes con NR es más elevada que en niños y puede llegar hasta el 50% (Zuchelli y Gaggi 1991).

En este estudio no se encontró ningún caso de HTA, lo cual concuerda con lo encontrado en la bibliografía, dado que se describen prevalencias del 0% y se incluyeron pocos adolescentes en esta serie.

La IRC es la más temida complicación de la NR. El informe anual correspondiente al año 1995 del Estudio Cooperativo del Transplante Renal Pediátrico en Norteamérica comunicaba que el 38.6% de las IRT se debía a riñones displásicos-hipoplásicos, uropatías obstructivas y NR (Warady y cols 1997). Según la Asociación Europea de Diálisis y Transplante (EDTA), el 25% de los pacientes en IRT tienen como causa la NR (Valderrábano y cols 1995). El Registro Pediátrico de IRC (REPIR) de la Asociación Española de Nefrología Pediátrica, aporta datos actualizados a Diciembre de 1997, de que el 32.2% de los niños en IRT tienen como etiología las PNA/Nefritis intersticiales.

En este estudio hay 18 casos de IRC, 15 de IRC de grado moderado y 3 de grado grave. El 59.2% de los casos de IRC pertenecen al grupo de NR grave.

## **2.- DISCUSIÓN ACERCA DE LA RELACIÓN ENTRE LOS MARCADORES DE LESIÓN Y DISTINTAS VARIABLES**

La progresión del daño renal se caracteriza histológicamente por glomeruloesclerosis, fibrosis túbulo-intersticial y esclerosis vascular. Existen mecanismos comunes en la base de estos procesos (El-Nahas y cols 1997).

En la patogenia de la cicatriz renal intervienen numerosos factores (genéticos, uropatías, ITU...) cuya acción final es la activación de una serie de mediadores biológicos

(citocinas, factores de crecimiento, complemento) que condicionan un desequilibrio entre las proteínas que favorecen el depósito de matriz extracelular en el intersticio tubular y las que promueven su degradación (a favor de los primeros) llegándose así a la formación de fibrosis mediante el depósito de colágeno (El-Nahas y cols 1997, Eddy 2000).

La glomeruloesclerosis puede evidenciarse precozmente investigando la microalbuminuria como marcador de lesión glomerular (Morita y cols 1990). Asimismo la microalbuminuria puede reflejar disfunción tubular por disminución de la reabsorción (Goonasekera y cols 1996).

La afectación tubulo-intersticial se pone de manifiesto mediante la detección en orina de proteínas de bajo peso molecular y de enzimas (ALP, GGT, NAG...). En condiciones normales las microproteínas son filtradas por el glomérulo y reabsorbidas por el túbulo proximal casi en su totalidad; en caso de lesión tubular disminuye su reabsorción y pueden ser detectadas en orina.

La NAG es una proteína de origen tubular que no se filtra y que aumenta su eliminación cuando se lesiona el túbulo (Piscator 1991).

Las proteínas de bajo peso molecular que más se han estudiado en la bibliografía son la Beta2-microglobulina, Proteína ligada al Retinol (RBP) y la Alfa1-microglobulina (Tomlinson y cols 1994, Goonasekera y cols 1996, Assadi 1996, Ota y cols 1996).

En este estudio, a la luz de los nuevos conocimientos sobre patogénesis de la NR, se investigan nuevos marcadores urinarios de lesión túbulo-intersticial [IL-6, IL-8 y péptido amino-terminal del procolágeno tipo III (PIII)] y se comparan con otros marcadores de lesión glomerular (microalbúmina) y tubular (alfa1-microglobulina).

### **2.1.- Correlación entre los marcadores de lesión, el FG, la TAS y la TAD en el conjunto de los pacientes**

Cuando no se tiene en cuenta el grado de lesión renal todos los marcadores resultaron ser independientes de la edad y la TA. Estos datos difieren de lo expresado por otros autores; Así Barajas (1997) encuentra relación de la microalbuminuria, la beta2-M y la ET-1 con la edad, en niños menores de 2 años. Estas discrepancias pueden ser debidas a que en nuestra serie se han excluido los menores de 3 años.

### **2.2.- Correlaciones de los distintos marcadores y el FG entre sí**

Se han demostrado numerosas correlaciones de los marcadores entre sí en este estudio; la más significativa por su mayor fuerza de asociación fue la correlación positiva entre la IL-6 y la alfa1-microglobulina ( $r=0.64$ ,  $p<0.001$ ), la IL-8 ( $r=0.31$ ,  $p<0.05$ ) y la microalbúmina ( $r=0.33$ ,  $p<0.01$ ). Los dos primeros se correlacionaron negativamente con el filtrado

glomerular ( $r=-0.35$  y  $r=-0.26$ ,  $p<0.01$  respectivamente), por lo que valores altos de IL-6 y alfa1-microglobulina se asocian con un menor filtrado glomerular, y por tanto con un mayor deterioro de la función renal. La IL-8, al ser independiente del filtrado glomerular, es un marcador de lesión más precoz.

En otras series también se han constatado correlaciones entre los diferentes marcadores de lesión. Así en el estudio de Wang realizado en niños con NR se encontró correlación entre la IL-6 urinaria, la creatinina sérica, la beta2-microglobulina sérica, la microalbuminuria y la alfa1-microglobulina plasmática, pero no se correlacionó con la alfa1-microglobulina urinaria (Wang 2001).

### **3.- DISCUSIÓN ACERCA DE LA RELACIÓN ENTRE LOS MARCADORES DE LESIÓN, EL FG Y LA LATERALIDAD DE LA LESIÓN**

Existen estudios que apoyan el aumento de la excreción de proteínas urinarias cuando la lesión renal es bilateral. Tal es el caso de Tomlinson que refiere encontrar un aumento de la RBP y la microalbúmina en pacientes con NR bilateral (Tomlinson y cols 1994). Este hecho se explica con la teoría de que cuando la cicatriz es unilateral se produce filtración selectiva por las nefronas intactas y no se aumenta de manera llamativa la excreción de proteínas. Cuando es bilateral, la destrucción de nefronas es más extensa y se produce una hiperfiltración relativa de las nefronas funcionantes, lo cual conduce a disfunción tubular (Tomlinson y cols 1994, Konda y cols 1997).

No encontramos relación estadísticamente significativa entre la MA, la IL-8, la IL-6 y el PIII con la lateralidad de la lesión, aunque la asociación entre la IL-6 y el procolágeno resultó cercana a la significación ( $p=0.07$  y  $p=0.053$  respectivamente) y los valores más altos se encontraron en los niños con lesión renal bilateral. La alfa1-microglobulina y el FG sí se asociaron significativamente con la lateralidad de la NR ( $p=0.024$  y  $p=0.002$  respectivamente): los valores más altos de alfa1-microglobulina y el FG más bajo se dieron en niños con NR bilateral.

Se ha constatado aumento de la excreción urinaria de alfa1-microglobulina y de IL-6 en niños con NR bilateral (Konda y cols 1997, Wang 2001), lo cual coincide con lo encontrado en nuestro estudio.

Es probable que el test no resultara significativo con el resto de marcadores debido a la dispersión de los valores urinarios (Tabla 20). Esta amplia variabilidad de los valores es debida a que la excreción de enzimas y de proteínas en la orina se realiza en un sistema abierto sometido a muchas influencias (Guder y Heiland, 1986).

Según estos hallazgos, valores urinarios elevados de alfa1-microglobulina y posiblemente también de IL-6 y PIII deben hacer pensar en una lesión renal gammagráfica bilateral.

#### **4.- COMENTARIOS ACERCA DE LA COMPARACIÓN ENTRE LOS GRUPOS DE LESIÓN, LOS MARCADORES URINARIOS Y EL FG**

La influencia de la cicatriz renal sobre la excreción urinaria de enzimas y microproteínas es un tema no del todo bien aclarado y continúa siendo objeto de debate en la bibliografía actual.

Hoy día se investiga la eliminación de marcadores urinarios que puedan identificar lesiones renales incipientes o bien servir de factores pronósticos en la evolución de los niños con NR. Estos nuevos marcadores se buscan entre las sustancias que parecen implicados en la patogenia de la cicatriz renal.

##### **4.1.- Excreción de microalbuminuria en los controles y en los grupos de lesión**

La MA en orina se ha relacionado en la literatura con alteraciones en la filtración glomerular (Peterson y cols 1969, Morita y cols 1990, Jund y Vernet 1992). La aparición de una proteinuria en el curso de una nefropatía por reflujo es un signo de mal pronóstico porque refleja la aparición de una lesión glomerular progresiva (Bailey 1993). Posteriormente se ha comprobado que incrementos en la excreción de albúmina podrían reflejar disminución de la reabsorción tubular de la proteína. El daño tubular conduce a hiperfiltración de los glomérulos cuyos túbulos no están afectados, elevación de la presión capilar glomerular, esclerosis segmentaria y focal y proteinuria, lo cual indica que es posible encontrar elevaciones de MA en las lesiones tubulo-intersticiales (Tomlinson 1994, Bravo 1997).

En esta serie se obtuvieron los siguientes valores de MA/cro, expresados como media  $\pm$  desviación típica ( $M \pm DT$ ):

- en los controles:  $14.3 \pm 22.9$  mg/g de creatinina
- en los niños con NR leve:  $28.1 \pm 84.5$  mg/g de creatinina
- en los niños con NR moderada:  $19.5 \pm 34.7$  mg/g de creatinina
- en los niños con NR grave:  $60.4 \pm 70.2$  mg/g de creatinina

Se encontró significativamente aumentada en el conjunto de niños con NR en relación con los niños sanos ( $p < 0.05$ ). Se hizo un análisis multivariante controlando por la edad, ya que entre grupos hay diferencias significativas en cuanto a la edad, pues los pacientes del



grupo de graves tienen mayor edad debido a que las lesiones son progresivas en el tiempo, y se obtuvieron los mismos resultados.

Resultados similares se han encontrado en otros estudios. Así, Barajas (1997) encuentra valores medios de microalbúmina en niños sanos de  $13.6 \pm 19$  mg/g de creatinina en niños mayores de 2 años, cercanos a los obtenidos en este estudio. Sin embargo, en relación con el grado de lesión, obtiene valores más bajos. En su estudio divide los casos en dos subgrupos (DMSA<2 y DMSA>2). En los niños con DMSA<2, equivalente al grupo de NR leve en nuestro estudio, obtiene los siguientes valores:  $16.1 \pm 16.4$  mg/g; en los niños con DMSA>2 (engloba el grupo de NR moderada y grave de esta serie) obtiene valores muy similares.  $18.8 \pm 36.3$ , por lo que no se encuentra significación.

En nuestro estudio los valores de MA resultaron ser claramente superiores en los niños con NR grave, aunque posiblemente por la gran dispersión de los datos no se haya alcanzado la significación.

Se han encontrado elevaciones de la MA urinaria en pacientes con NR con o sin RVU asociado (Konda y cols 1997, Konda y cols 1998, Wang y cols 2001).

La mayor elevación se encuentra en los pacientes con RVU severos y con mayor grado de lesión, por lo que se considera un marcador tardío de lesión (Bravo 1997).

#### **4.2.- Excreción urinaria de Alfa1-microglobulina en los controles y en los grupos de lesión**

La alfa1-microglobulina es una proteína estable en orina que refleja disfunción aguda o crónica del túbulo proximal renal (Weber y Verwiebe 1992). Es más estable en el rango de pH de la orina que la beta2-microglobulina (Donaldson y cols 1989). En pacientes con patología tubulo-intersticial se han constatado concentraciones elevadas de alfa1-microglobulina (Weber y Verwiebe 1992). En la NR la fibrosis renal causa isquemia tubular con la consiguiente destrucción del túbulo proximal. La pérdida de nefronas funcionantes causada por la progresión de la cicatriz renal puede contribuir a la elevación de la alfa1-microglobulina debido a la hiperfiltración relativa de las nefronas restantes. Es un marcador útil como factor pronóstico en niños con NR, aunque por sí sola no diferencia si su elevación se debe al daño tubular o a la reducción de la masa de nefronas funcionantes (Konda 1997, Ota 1996).

Se obtuvieron los siguientes valores de A1M/cro ( $M \pm DT$ ):

- $5.9 \pm 4.1$  mg/gr de creatinina en los controles
- $6.1 \pm 5.0$  mg/gr de creatinina en los pacientes con NR leve

- $6.5 \pm 4.1$  mg/gr de creatinina en los pacientes con NR moderada
- $17.1 \pm 29.2$  mg/gr de creatinina en los pacientes con NR grave

Se encontraron diferencias significativas ( $p < 0.01$ ) en los valores obtenidos en los niños con NR grave respecto a los controles y los otros subgrupos de lesión. Al hacer el análisis multivariante controlando por la edad, se obtuvieron los mismos resultados. Por tanto, la alfa1-microglobulina es un marcador de lesión tardío y tiene valor pronóstico, puesto que su elevación implica grados de NR altos.

Una limitación con que nos encontramos en el estudio fue que en muchos de los pacientes no se detectó el valor exacto de alfa1-microglobulina por estar por debajo del rango inferior de detección del test diagnóstico (0.4 mg/dl). En los pacientes en que esto pasó optamos por tomar el valor más perjudicial posible (0.39 mg/dl). Esto ocurrió en 32 controles y en 73 pacientes, en su mayoría pertenecientes al grupo de NR leve. Si se hubieran detectado los valores inferiores a 0.4 mg/dl, posiblemente se hubieran obtenido diferencias significativas entre los valores de los controles y los niños con NR leve y moderada.

Wang y cols (2001) encuentran elevación de alfa1-microglobulina en niños con NR grave, con lesión renal severa bilateral e hipocaptación global en el DMSA, al igual que en nuestro estudio.

#### **4.3.- Excreción urinaria de IL-8 en los controles y en los grupos de lesión**

El papel de las interleucinas en la NR y el RVU todavía no ha sido totalmente aclarado (Jutley 2000). Los datos existentes en la bibliografía actual apoyan la contribución importante de las citocinas a la patogenia de la NR (Sengul y cols 2002).

La IL-8 es un potente factor quimiotáctico de neutrófilos y se ha demostrado que es el más importante en las muestras obtenidas de pacientes con enfermedades inflamatorias (Tikhonov y cols 1997). Se han observado niveles elevados de IL-8 en sangre y orina de pacientes con sepsis e IRC (Mariano y cols 1999).

Se obtuvieron los siguientes valores medios de IL-8/cro:

- $33.8 \pm 84.02$  pg/mg de creatinina en los controles
- $50.5 \pm 94.5$  pg/mg de creatinina en los niños con NR leve
- $39.4 \pm 126.7$  pg/mg de creatinina en el grupo de NR moderada
- $60.5 \pm 135.9$  pg/mg de creatinina en el grupo de NR grave

Se encontraron diferencias significativas entre los valores obtenidos en los niños sanos frente al conjunto de pacientes ( $p < 0.005$ ), pero no hubo diferencias significativas entre grupos. Al hacer el análisis multivariante controlando por la edad se obtienen los mismos

resultados. La media de los valores de IL-8 en los pacientes con NR grave es claramente superior a la del resto de los grupos de NR y los controles pero la gran dispersión de los valores, de nuevo hace que no haya diferencias significativas, como sucedió con la microalbuminuria.

No podemos comparar los valores de IL-8 urinarios con los expuestos en otros trabajos debido a que en unos no exponen en que unidades está expresada la creatinina, por lo cual el cociente IL-8- creatinina no es comparable y en otros no dividen los valores absolutos entre la creatinina (Haraoka y cols 1996, Tikhonov y cols 1997).

Recientemente se ha constatado una elevación de los niveles urinarios de esta citocina en pacientes con glomerulonefritis y ha sido detectada en los glomérulos inflamados, lo cual indica que existe producción local (Wada y cols 1994). También se han encontrado concentraciones elevadas en orina de IL-8 en pacientes con pielonefritis aguda (Rao y cols 2001). Asimismo se ha detectado infiltración por neutrófilos en el epitelio tubular renal y el intersticio, lo cual apoya la teoría de que las células endoteliales, epiteliales e intersticiales producen IL-8 en respuesta a la inflamación y a factores de virulencia de gérmenes (Baggiolini y cols 1994).

En el estudio de Tikhonov y cols (1997) se comparan los valores urinarios de IL-8 en pacientes con GN y en pacientes con PNA y concluyen que los valores de IL-8 están significativamente más elevados en los pacientes con PNA.

Se ha estudiado el perfil de citocinas urinarias en los niños afectos de PNA y se han encontrado valores elevados en orina de IL-8; estos disminuyen rápidamente tras la administración de antibióticos, lo cual sugiere que el daño renal debido a la inflamación es precoz y apoya la necesidad de un diagnóstico y un tratamiento precoz de la ITU (Kassir y cols 2001).

Existen pocos estudios acerca del valor de la IL-8 como marcador de lesión en niños con NR.

Jutley y cols (2000) comparan los valores de IL-8 sérica en 15 niños divididos en dos grupos, uno de pacientes con NR y otro con NR más RVU, con 14 controles sanos. Los niveles de IL-8 sérica no se elevaron significativamente e ninguno de los grupos de estudio. Es posible que no encontraran significación debido al pequeño tamaño muestral.

Haraoka y cols (1996) evalúan los niveles urinarios de IL-8 e IL-6 en orina de 32 niños divididos en cuatro grupos: niños con cicatriz renal y RVU, pacientes con cicatriz renal sin RVU, un tercer grupo de niños con RVU sin lesión renal y un cuarto grupo de controles. Obtienen diferencias significativas entre los valores de IL-8 urinarios de niños con NR o RVU

y los de aquellos que no presentan lesión o RVU. Concluyen que la IL-8 urinaria es un buen marcador de NR y RVU.

Estos datos apoyan los obtenidos en este estudio. La IL-8 puede ser un buen marcador de lesión renal y además más precoz que otros, puesto que no se relacionó con el filtrado glomerular.

#### **4.4.- Excreción urinaria de IL-6 en los controles y en los grupos de lesión**

La IL-6 es una citocina multifuncional producida por varios tipos celulares: fibroblastos, linfocitos T y B activados, macrófagos, células endoteliales y células renales mesangiales y tubulares. En las enfermedades renales se ha encontrado un aumento de la producción de IL-6 por las células mesangiales y /o las células tubulares lesionadas (Fukatsu y cols 1993). La elevación de los niveles urinarios de IL-6 y el incremento de su expresión renal se han asociado con la proliferación mesangial o el grado de lesión tubulo-intersticial (Iwano y cols 1993).

Al igual que con la IL-8, se han puesto en evidencia niveles urinarios elevados de IL-6 en niños con PNA, lo cual orienta al papel que desempeñan estas citocinas como mediadores de inflamación en la infección urinaria (Roilides y cols 1999, Jantusch y cols 2000, Kassir y cols 2001).

Encontramos los siguientes valores de la variable:

- 35.02 ± 21.8 pg/mg de creatinina en los controles
- 39.3 ± 38.4 pg/mg de creatinina en los pacientes con NR leve
- 59.6 ± 67.5 pg/mg de creatinina en los pacientes con NR moderada
- 63.9 ± 51.2 pg/mg de creatinina en los pacientes con NR grave

Se encontraron diferencias significativas de los valores del grupo de controles y niños con NR leve con los valores de los subgrupos de lesión moderada y grave ( $p < 0.001$ ). Con las comparaciones controlando por la edad se obtuvieron iguales resultados.

Los valores obtenidos no son comparables con los de otros estudios debido a que no se expresan en las mismas unidades.

Los resultados obtenidos en nuestra serie son acordes con los encontrados por otros autores, aunque existen pocos estudios al respecto.

Así, Ninan y cols (1999) en su trabajo sobre citocinas urinarias como marcadores de NR, investiga los valores de IL-6. Evalúa tres grupos de niños: uno, constituido por 7 niños con NR y RVU, otro formado por 6 pacientes con RVU sin NR y otro grupo de 15 controles sanos. Se determinaron los valores urinarios de IL-6 en los tres grupos y se encontraron

valores significativamente elevados en los niños con NR más RVU. Concluyen que la IL-6 es un indicador no invasivo de lesión renal en niños con RVU.

En otro estudio realizado por Wang y cols (2001) en 66 niños de 10 a 18 años de edad con NR diagnosticada por DMSA, intervenidos de RVU o con resolución espontánea del mismo y clasificados en tres grupos según el DMSA, equivalentes a los tres subgrupos de esta serie, se compararon los niveles urinarios de IL-6 de los pacientes con un grupo de 28 controles sanos del mismo rango de edad. Asimismo determinaron la expresión de IL-6 en muestras renales de 4 pacientes que habían sufrido nefrectomía debido a NR severa. Encontraron elevación significativa de los niveles de IL-6 en los grupos de lesión renal más severa y una mayor expresión de IL-6 por las células tubulares de áreas fibróticas de los riñones con NR. Los autores llegan a la conclusión de que la IL-6 urinaria refleja la producción renal de esta citocina y se correlaciona con la severidad del daño tubulo-intersticial. La IL-6 urinaria se incrementa con la severidad de la lesión renal.

En nuestra serie se encontraron resultados acordes con los de estos autores. Los niveles urinarios de IL-6 se incrementan conforme aumenta el grado de lesión renal. No se encontraron diferencias significativas entre los niños sanos y los del grupo de NR leve probablemente porque en estos, la lesión cicatricial es poco extensa y la actividad inflamatoria, no es lo suficientemente importante como para dar valores urinarios de IL-6 significativamente superiores a los controles.

#### **4.5.- Excreción urinaria de Procolágeno tipo III en los controles y en los grupos de lesión**

En las enfermedades renales tubulo-intersticiales, la progresión de la lesión renal se caracteriza histológicamente por fibrosis progresiva, que es debida al desequilibrio entre la síntesis y degradación de las proteínas de la MEC, a favor de la síntesis (Lewis y Norman 1998, Horstrup y cols 2002). Los mecanismos que condicionan este depósito están siendo ampliamente estudiados, aunque aún no están bien aclarados.

En varios estudios sobre enfermedades renales, como la nefropatía diabética, se ha detectado un aumento de las proteínas que intervienen en la síntesis de MEC (Péptidos derivados del colágeno tipo I, tipo III y tipo IV) (Arquilla y cols 2001).

Se han estudiado los mecanismos genéticos que favorecen la síntesis de colágeno y los factores (TGF- $\beta$ 1) que estimulan la transcripción de estos genes, y se ha observado que este factor aumenta la expresión de colágeno tipo III por las células tubulares epiteliales y los fibroblastos renales activados en modelos experimentales y en humanos con enfermedades intersticiales (Poncelet y Schnaper 1998, Bertelli y cols 1998, Mozes y cols 1999, Gagliano y cols 2000).

En nuestro estudio se obtuvieron los siguientes valores medios de procolágeno tipo III:

- $7.3 \pm 5.8$   $\mu\text{g/g}$  de creatinina en los controles
- $6.15 \pm 8.8$   $\mu\text{g/g}$  de creatinina en los pacientes con NR leve
- $9.06 \pm 14.5$   $\mu\text{g/g}$  de creatinina en los pacientes con NR moderada
- $10.2 \pm 10.9$   $\mu\text{g/g}$  de creatinina en los pacientes con NR grave

Se encontraron diferencias significativas entre los valores de procolágeno en los niños sanos o con NR leve y los de niños con NR moderada y grave ( $p < 0.01$ ), siendo en estos últimos más elevados. Al hacer el análisis multivariante controlando por la edad se obtuvieron los mismos resultados incrementándose la significación ( $p < 0.005$ ).

En la bibliografía se ha postulado que la determinación urinaria de péptidos derivados del colágeno, como el colágeno tipo III, podrían servir como marcador biológico y pronóstico de fibrosis intersticial (Ghiggeri y cols 2000, Gonzalez-Avila y cols 1998, Mozes y cols 1999).

Sobre este aspecto solo hemos encontrado dos estudios realizados en adultos.

En el estudio de Keller y cols (1988) se investigan los niveles séricos y el aclaramiento renal de procolágeno tipo III en 17 controles sanos y 100 pacientes con distintos tipos de enfermedades renales agudas y crónicas glomerulares e intersticiales. No encuentran diferencias significativas entre los niveles de procolágeno urinario en las diferentes patologías renales, tanto glomerulares como intersticiales.

Un estudio más reciente (Soylemezoglu y cols 1997) obtiene resultados diferentes. Los autores investigan los niveles urinarios y séricos de Péptido amino-terminal del procolágeno tipo III, colágeno tipo IV y fibronectina en 40 pacientes adultos con diferentes nefropatías (GN membranosa, GN mesangioproliferativa, nefritis tubulo-intersticial e IRT) y 15 controles sanos. Encuentran niveles significativamente superiores de PIII, tanto séricos como urinarios, en los pacientes con nefropatía frente a los controles y dentro de los pacientes, los que tenían patología tubulo-intersticial presentaron los niveles de PIII urinarios más elevados. Los niveles séricos y urinarios de PIII se correlacionaron muy bien con la severidad de la fibrosis renal. Determinaron el contenido glomerular de colágeno III y el intersticial y obtuvieron que el colágeno glomerular reflejaba la severidad de la glomeruloesclerosis y el intersticial la de la fibrosis intersticial. Los valores sanguíneos y urinarios de colágeno IV no se correlacionaron con los parámetros de fibrosis renal, aunque los valores de los pacientes respecto de los controles fueron más elevados. Asimismo, encontraron un incremento de la excreción urinaria de fibronectina en pacientes con nefropatía membranosa. Los autores, ante

la correlación significativa de los niveles urinarios y circulantes de PIII con el colágeno tipo III y la fibrosis intersticial, pero no con la glomerulosclerosis ni con el colágeno III glomerular, sugieren que el PIII proviene de los depósitos de colágeno intersticial. Por tanto, la determinación de PIII urinario y sérico podría ser un predictor útil de la progresión de la fibrosis renal.

Nuestro estudio, único hasta ahora realizado en niños con NR, apoya esta teoría, y encontramos los niveles urinarios más elevados de PIII en los pacientes con mayor severidad de la NR, mientras que no hay diferencias significativas entre los controles y los pacientes con NR leve. Esto puede ser debido a que la fibrosis intersticial de los niños con NR leve es escasa.

Ante estos hallazgos, la determinación de PIII urinario puede ser utilizada como marcador biológico pronóstico de la NR en la infancia.

#### **4.6.- Comparación del FG con los distintos grupos de lesión**

No se encontraron diferencias significativas entre la función renal de los controles y de los niños con NR leve y moderada. El FG sí fue significativamente menor en los niños con NR grave respecto a los demás.

Estos datos son acordes con lo encontrado por otros autores en este aspecto (Barajas 1997, Bravo 1997).

Tres componentes determinan el FG: la presión hidrostática glomerular, la presión oncótica glomerular y la presión en la cápsula de Bowman. Cambios en el equilibrio entre estas presiones condicionan alteraciones en el FG, como ocurre en la uropatía obstructiva (Palmieri 2002). Asimismo la activación de péptidos vasoactivos, como la AGT II, que tiene acciones vasoconstrictoras y la inhibición del óxido nítrico, que tiene efectos vasodilatadores, intervienen en la reducción del FG que se produce como consecuencia de la NR (Huana y cols 2000).

En los grados severos de NR se pone de manifiesto la afectación del FG, debido al mayor tiempo de evolución y a la mayor presencia de uropatía bilateral. En los grupos con NR leve y moderada la uropatía es frecuentemente unilateral y el FG global se ve menos afectado por la compensación del riñón no afectado.

La lesión primaria en la NR es la fibrosis túbulo-intersticial, producida por la activación de mediadores inflamatorios, cuya acción final es la estimulación de los fibroblastos intersticiales y de otros componentes que van a favorecer el depósito de proteínas de la MEC y la inhibición de las proteínas que regulan su degradación. La detección urinaria de niveles elevados de marcadores biológicos que intervienen en este proceso (IL-6,

IL-8 y PIII ) a diferentes niveles indica presencia de fibrogénesis intersticial (en el caso de la IL-8) y además progresión de la misma (en el caso de la IL-6 y PIII), dada la elevación de estos últimos en los niños con afectación más severa.

Estos marcadores son, por tanto, indicadores de NR y factores pronósticos de la misma.

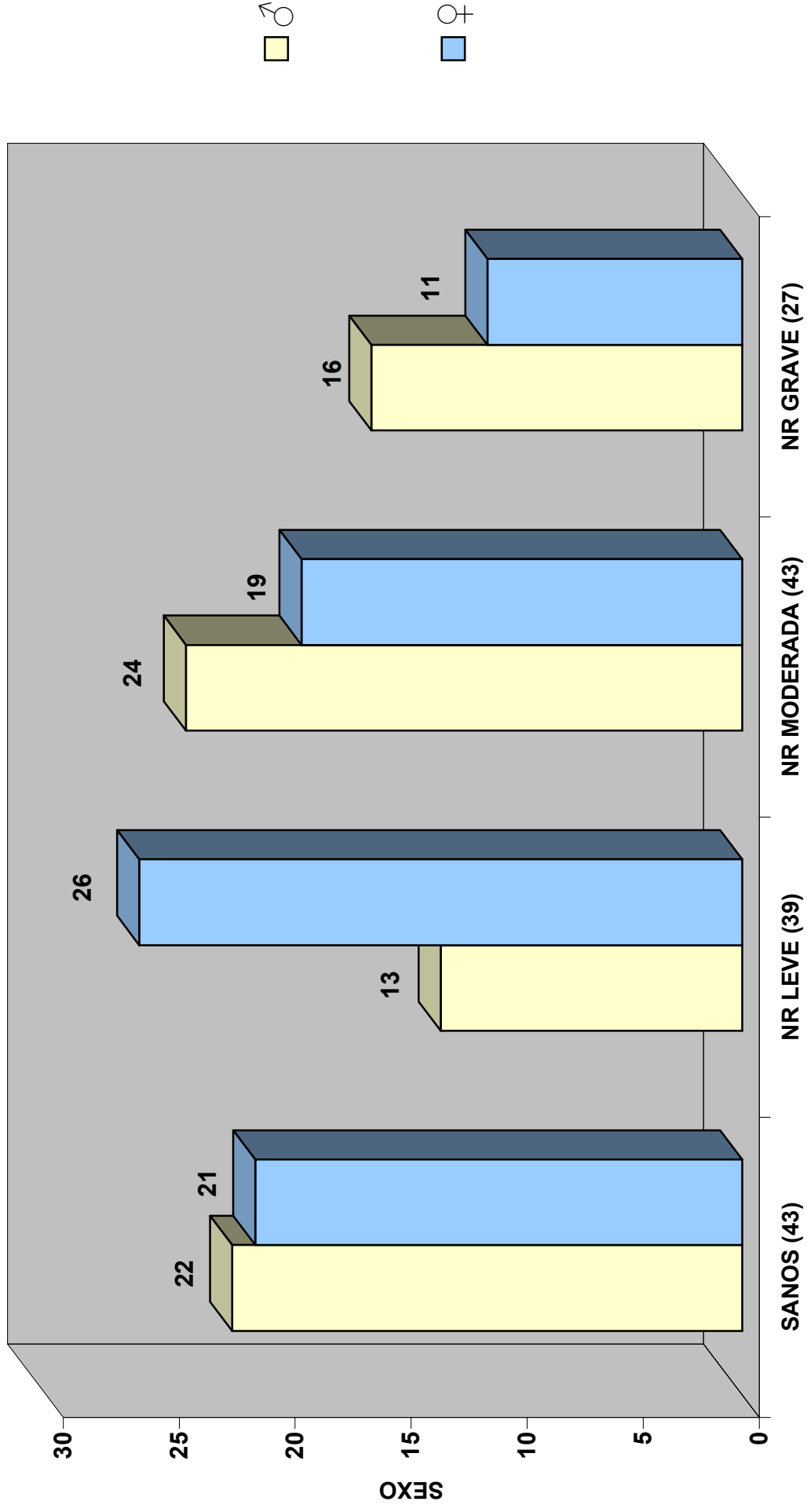


# CONCLUSIONES

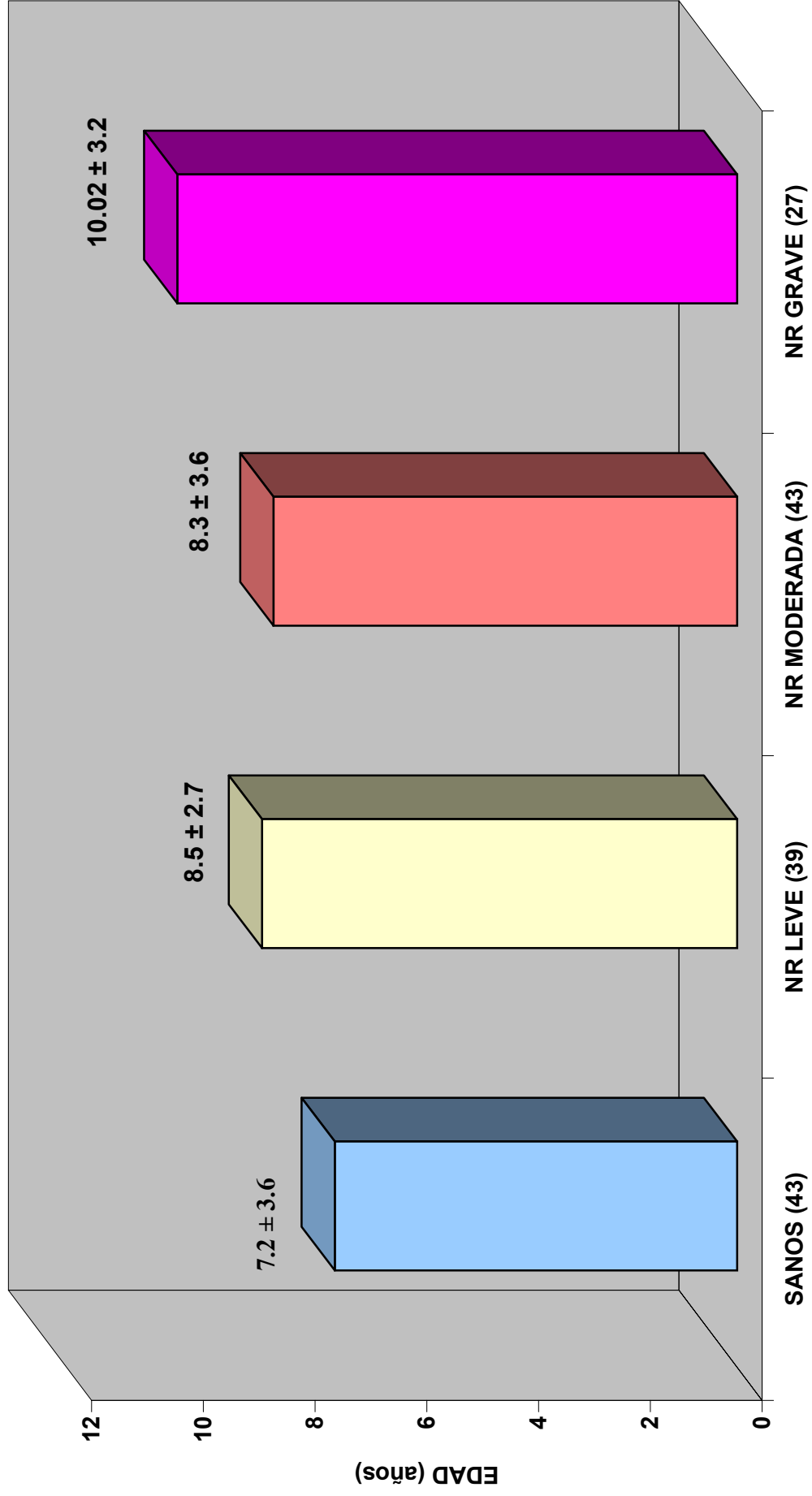
- 1) Considerando los resultados obtenidos en este estudio, en el que destacan que el RVU fue la uropatía más frecuentemente hallada en el conjunto de pacientes seleccionados con NR, con predominio en el lado izquierdo; el número de infecciones urinarias no parece estar implicado en la gravedad de la nefropatía y la frecuencia encontrada de antecedentes familiares de uropatía apoya la implicación del factor genético, podemos afirmar que los pacientes con NR representan un grupo heterogéneo constituido fundamentalmente por enfermos con uropatías, no necesariamente asociadas a infecciones urinarias, con una base genética.
- 2) En términos pronósticos y terapéuticos las uropatías severas (RVU de alto grado, uropatías obstructivas), y la vejiga neurógena se asocian a lesiones renales más importantes, generalmente bilaterales, y en consecuencia con mayor necesidad de tratamiento quirúrgico.
- 3) Con independencia de las importantes aportaciones referidas en la bibliografía, en el proyecto que se presenta, la única complicación detectada fue la IRC, lo que no excluye que otras conocidas (como la HTA) deban ser esperadas en la evolución futura de cada caso.
- 4) En la compleja búsqueda de indicadores urinarios de lesión y progresión renal, basándonos en nuestra experiencia podemos afirmar que tanto la IL-6 y la IL-8 como el procolágeno tipo III cumplen estos requisitos y asimismo se constata la utilidad de la alfa-1-microglobulina y la microalbuminuria en el seguimiento de estos pacientes, por lo que, en consecuencia, deberían incluirse en los protocolos de atención de los niños con NR.

## **FIGURAS**

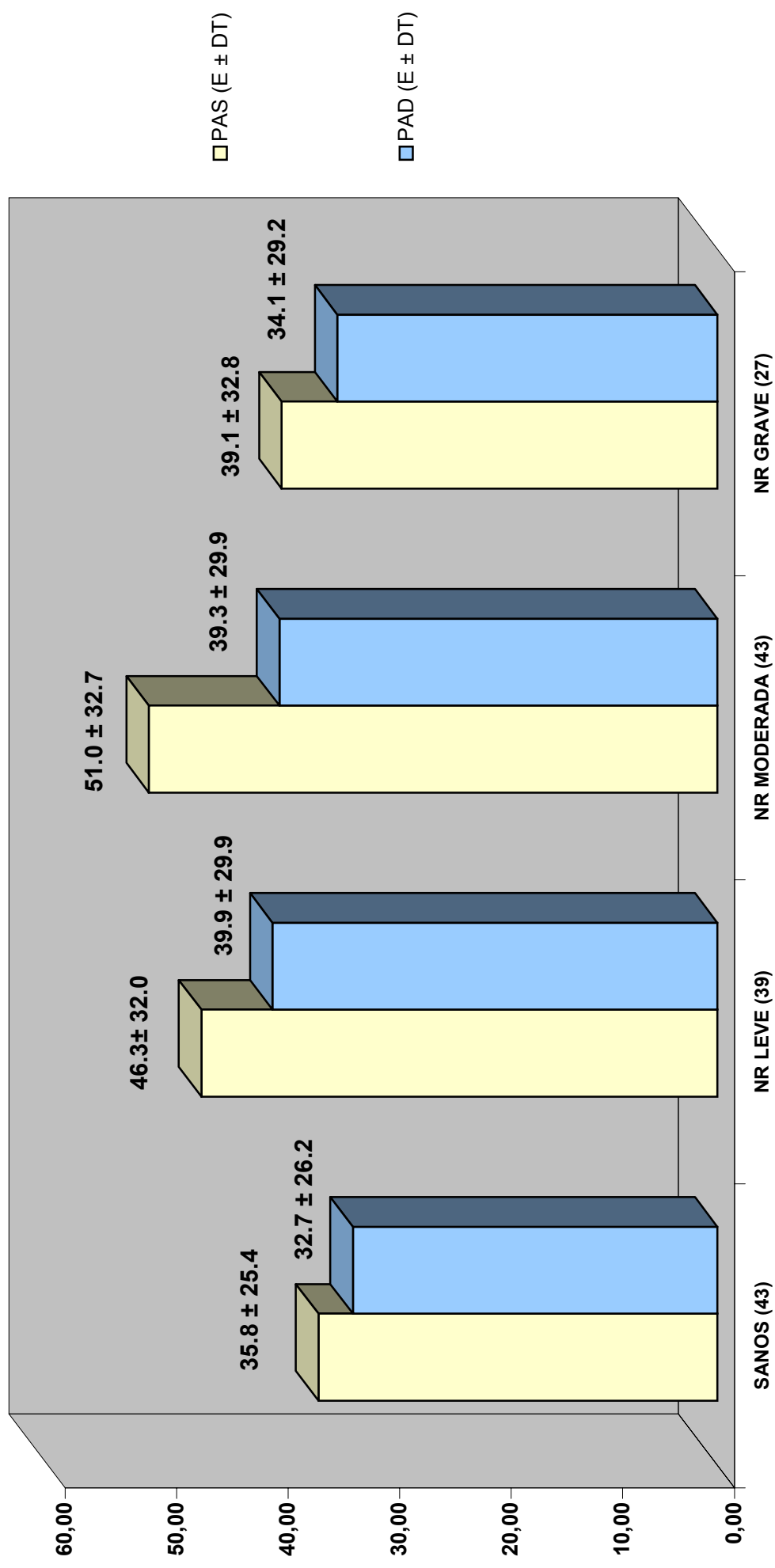
**FIGURA 1.- SEXO POR GRUPOS DE LESIÓN**



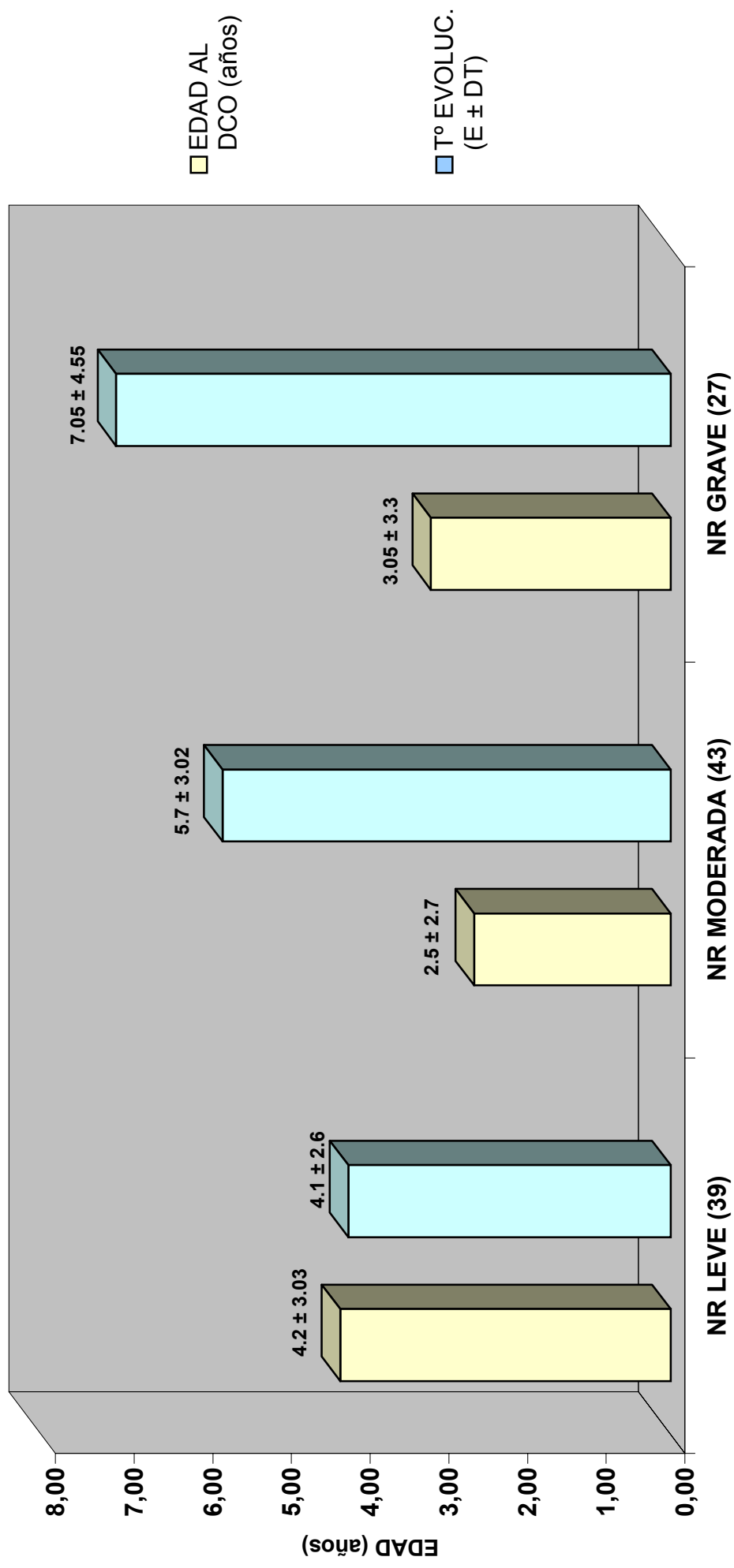
**FIGURA 2.- EDAD POR GRUPOS DE LESIÓN**



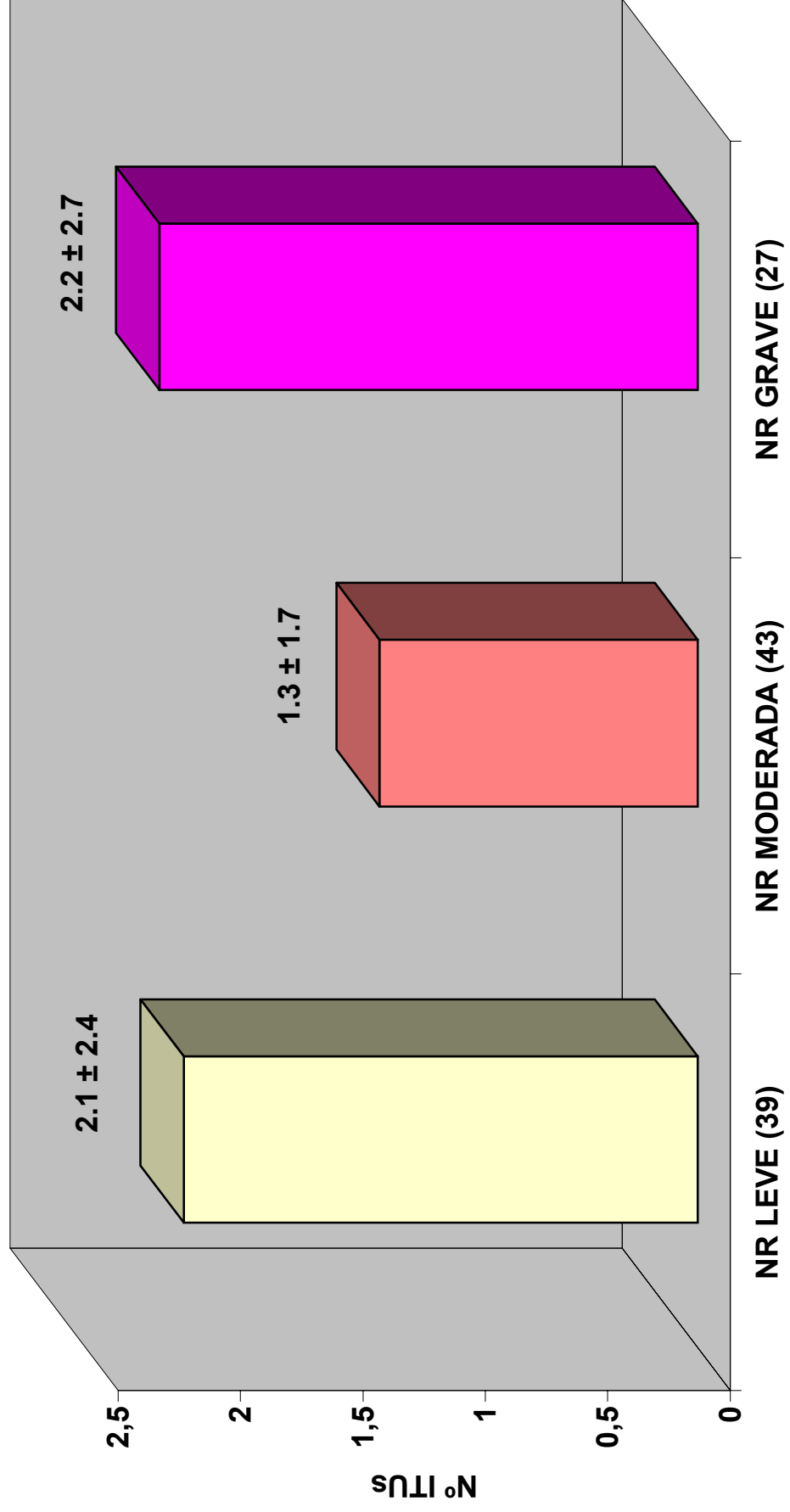
**FIGURA 3.- PERCENTILES TENSIONALES SISTÓLICOS Y DIASTÓLICOS POR GRUPOS DE LESIÓN**



**FIGURA 4.- EDAD AL DIAGNÓSTICO DE NR Y TIEMPO DE EVOLUCIÓN**

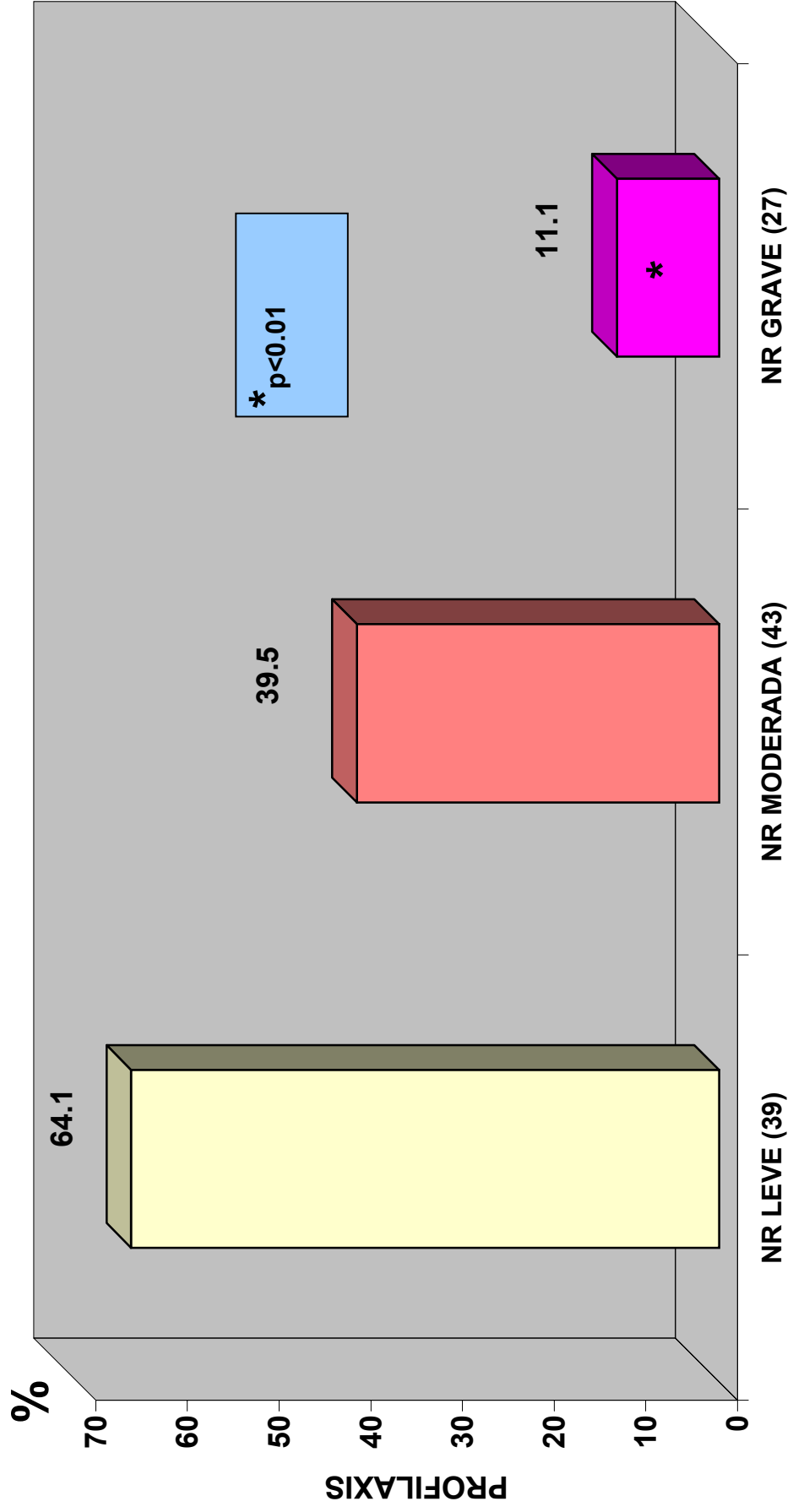


**FIGURA 5.- NÚMERO DE ITUS POR GRUPOS DE LESIÓN**

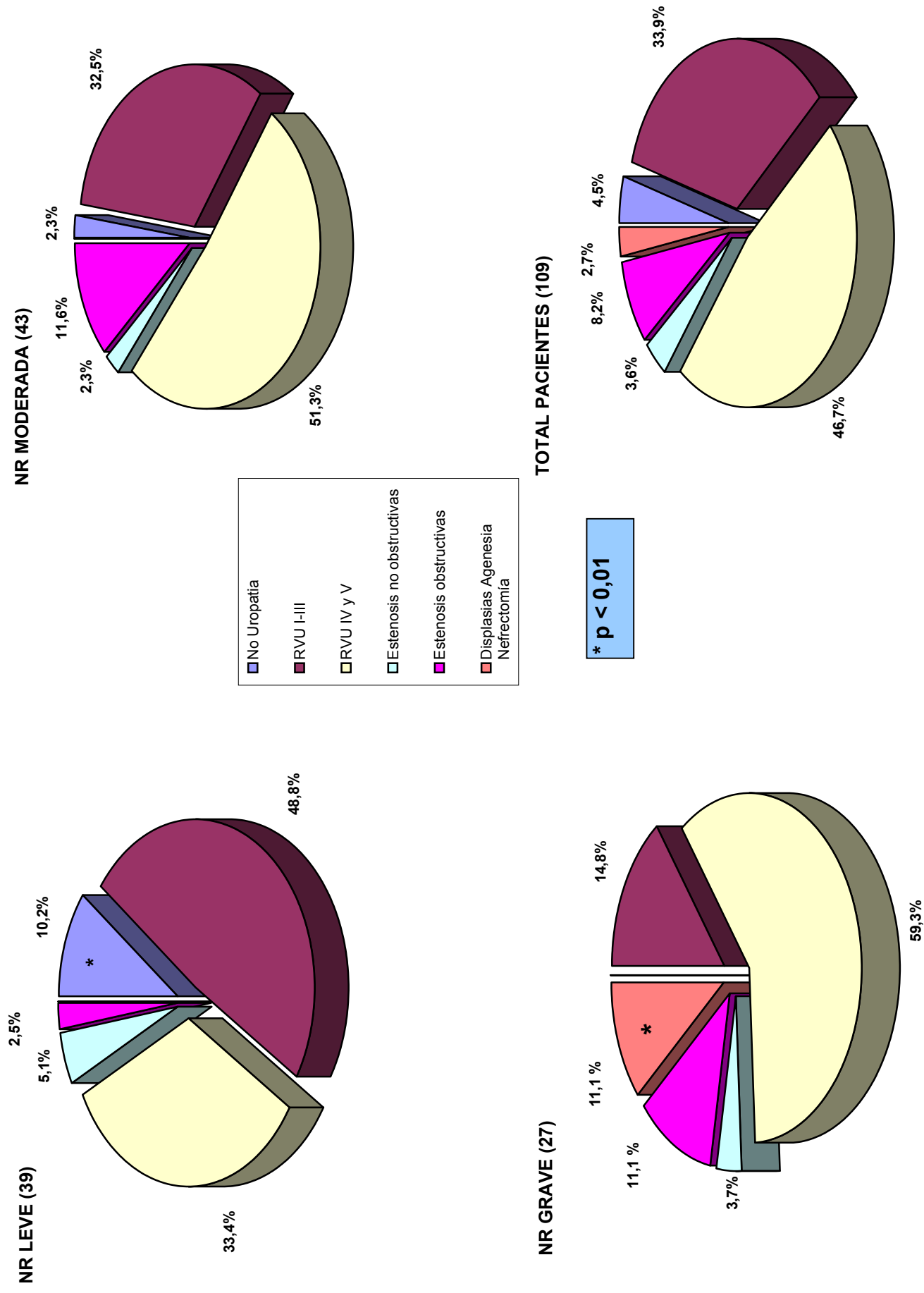




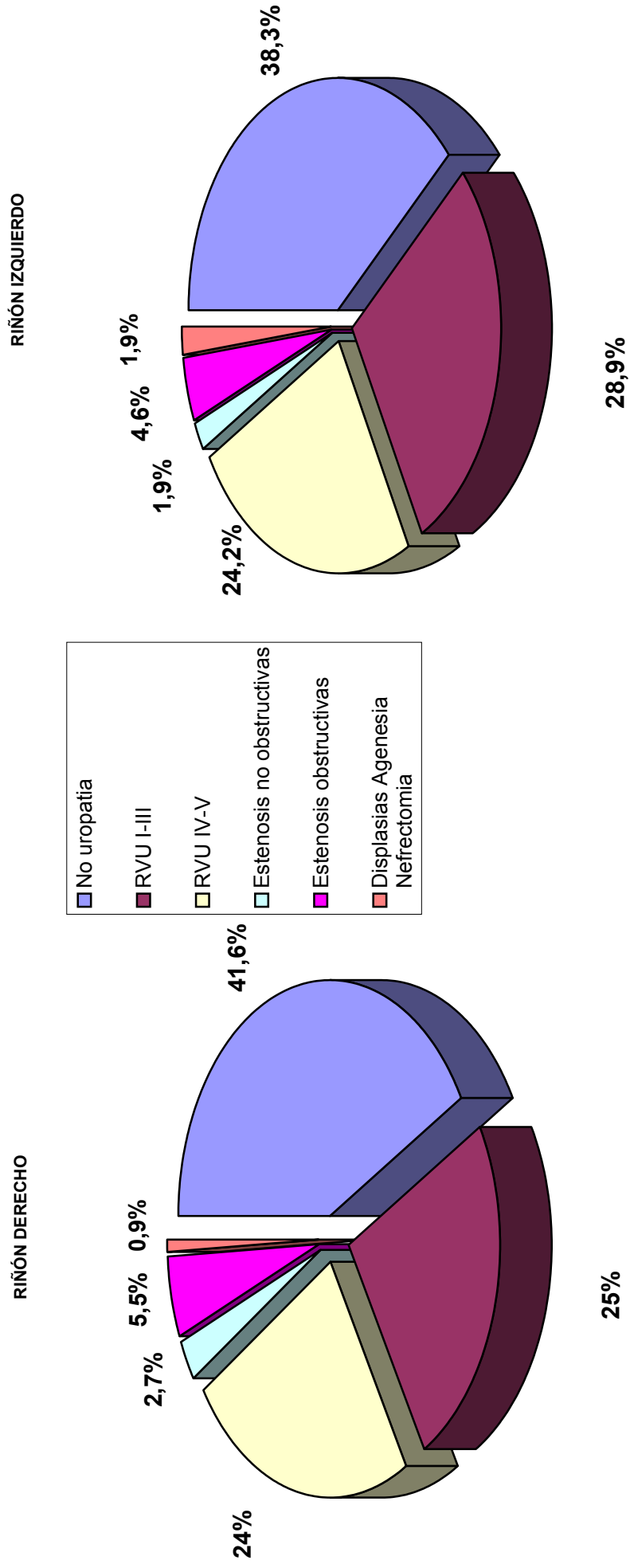
**FIGURA 6.- PROFILAXIS ANTIBIÓTICA POR GRUPOS DE LESIÓN**



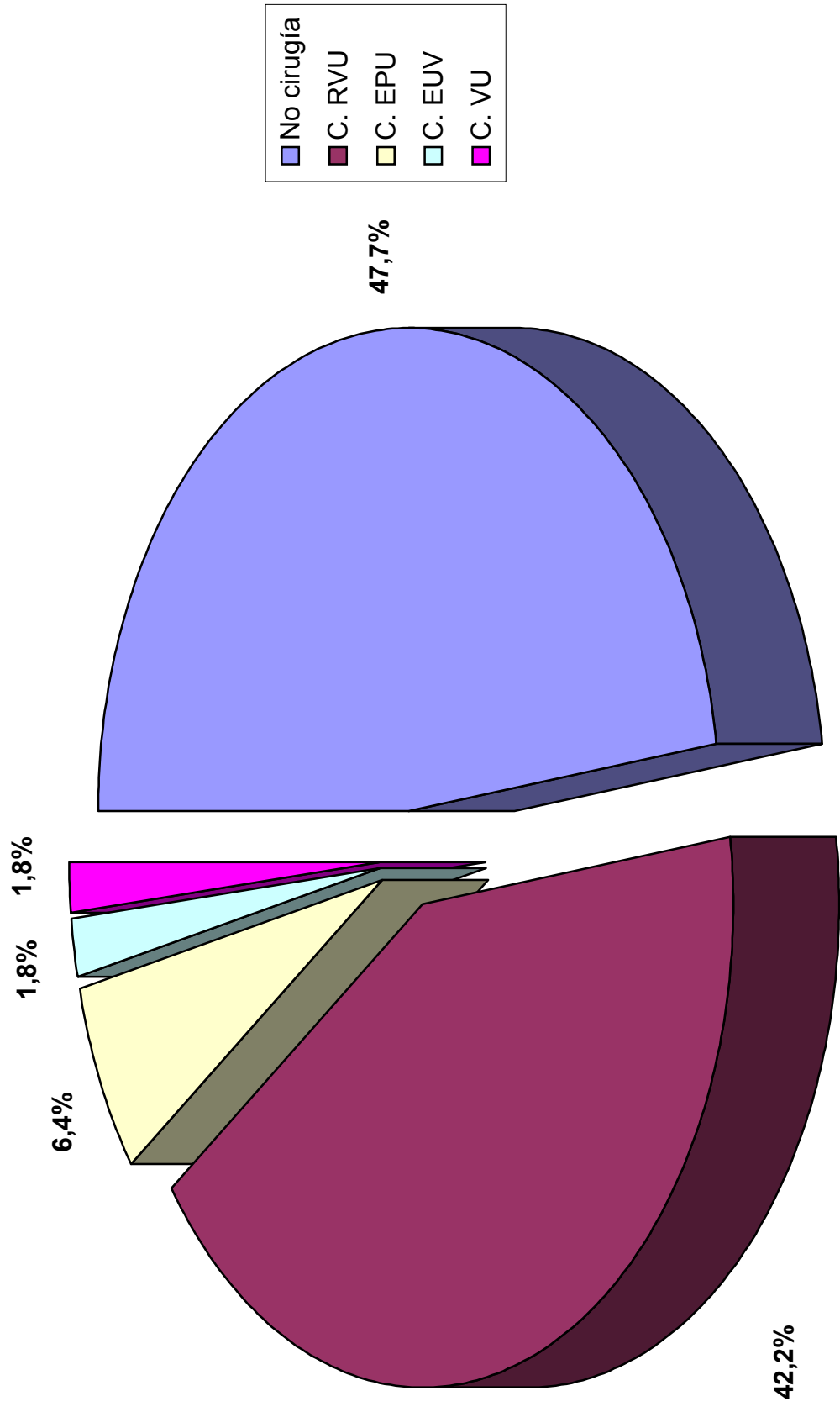
# FIGURA 7.- UROPATÍA POR GRUPO DE LESIÓN



**FIGURA 8.- PRESENCIA DE UROPATÍA POR RIÑÓN**



**FIGURA 9.- PORCENTAJE DE INTERVENCIONES QUIRÚRGICAS EN EL CONJUNTO DE PACIENTES**



**FIGURA 10.- PORCENTAJE DE CIRUGÍA POR GRUPOS DE NR**

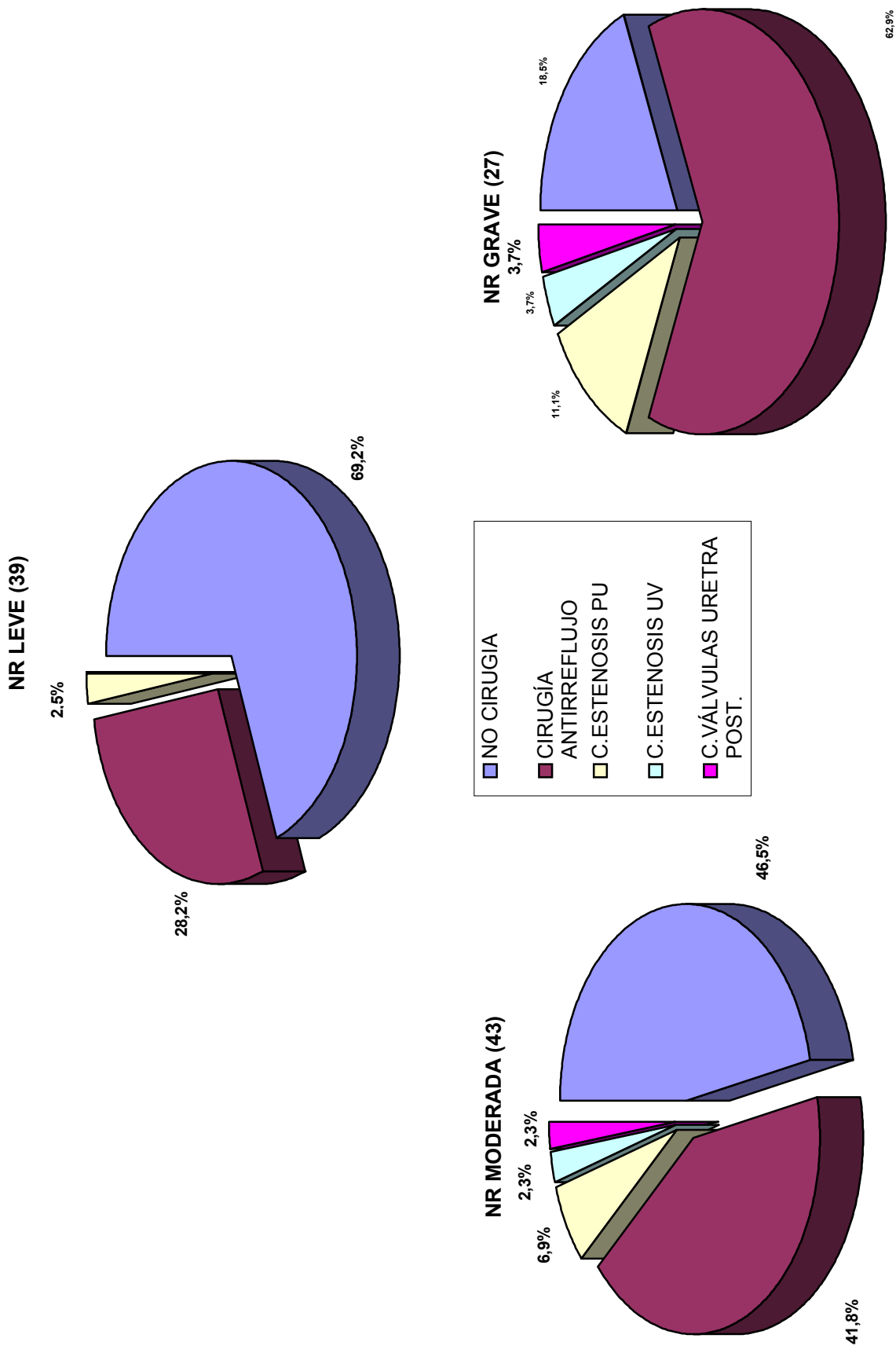
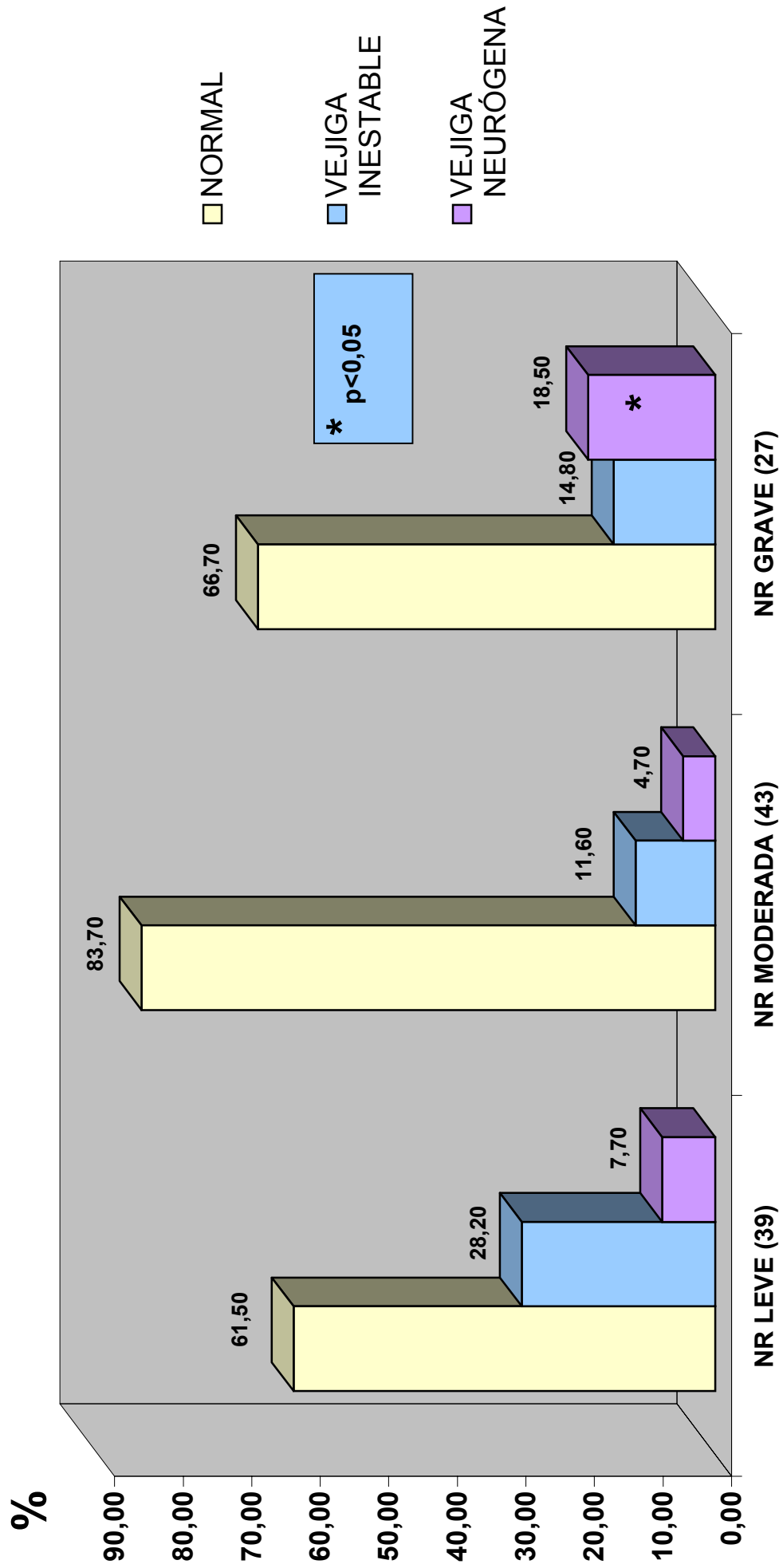
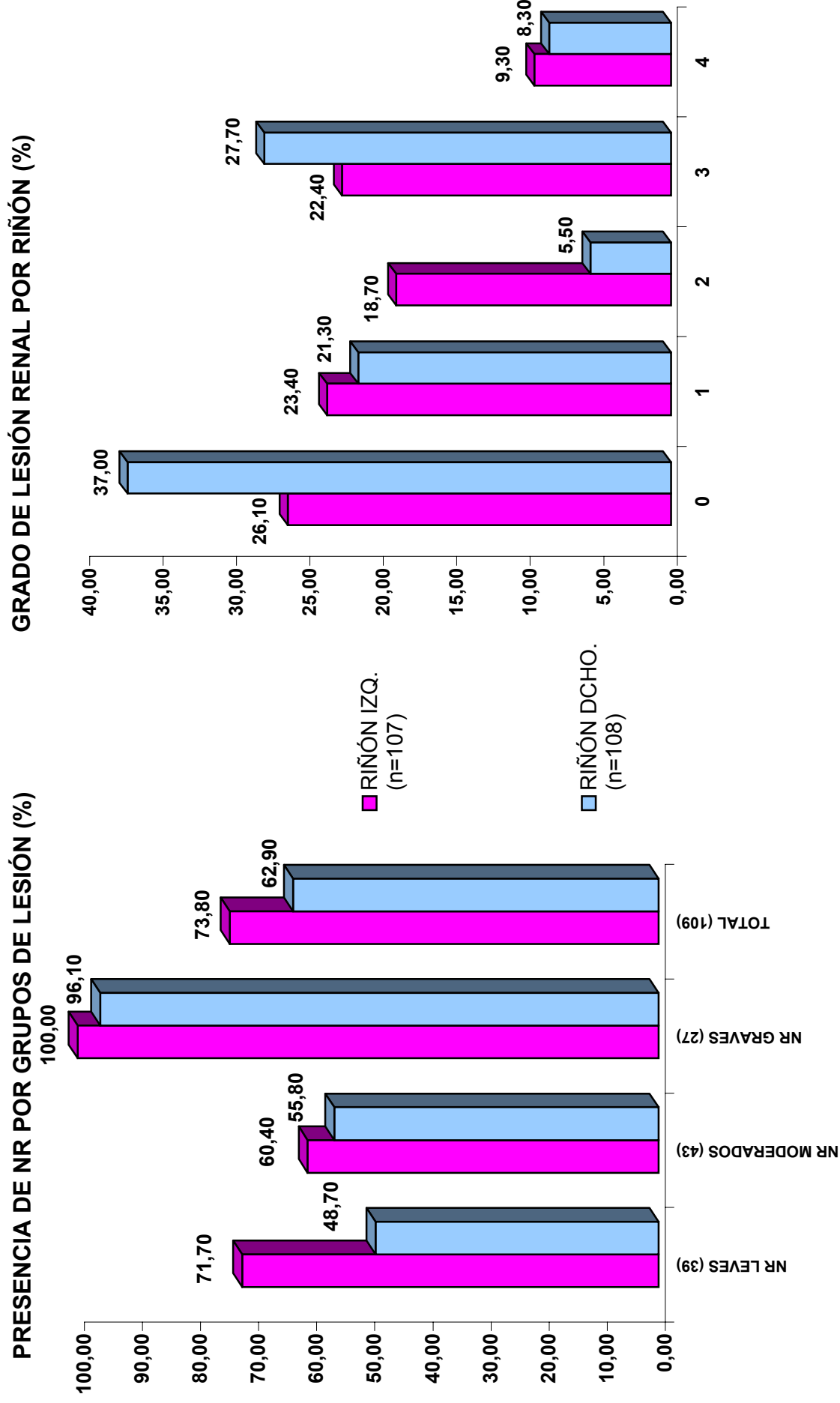


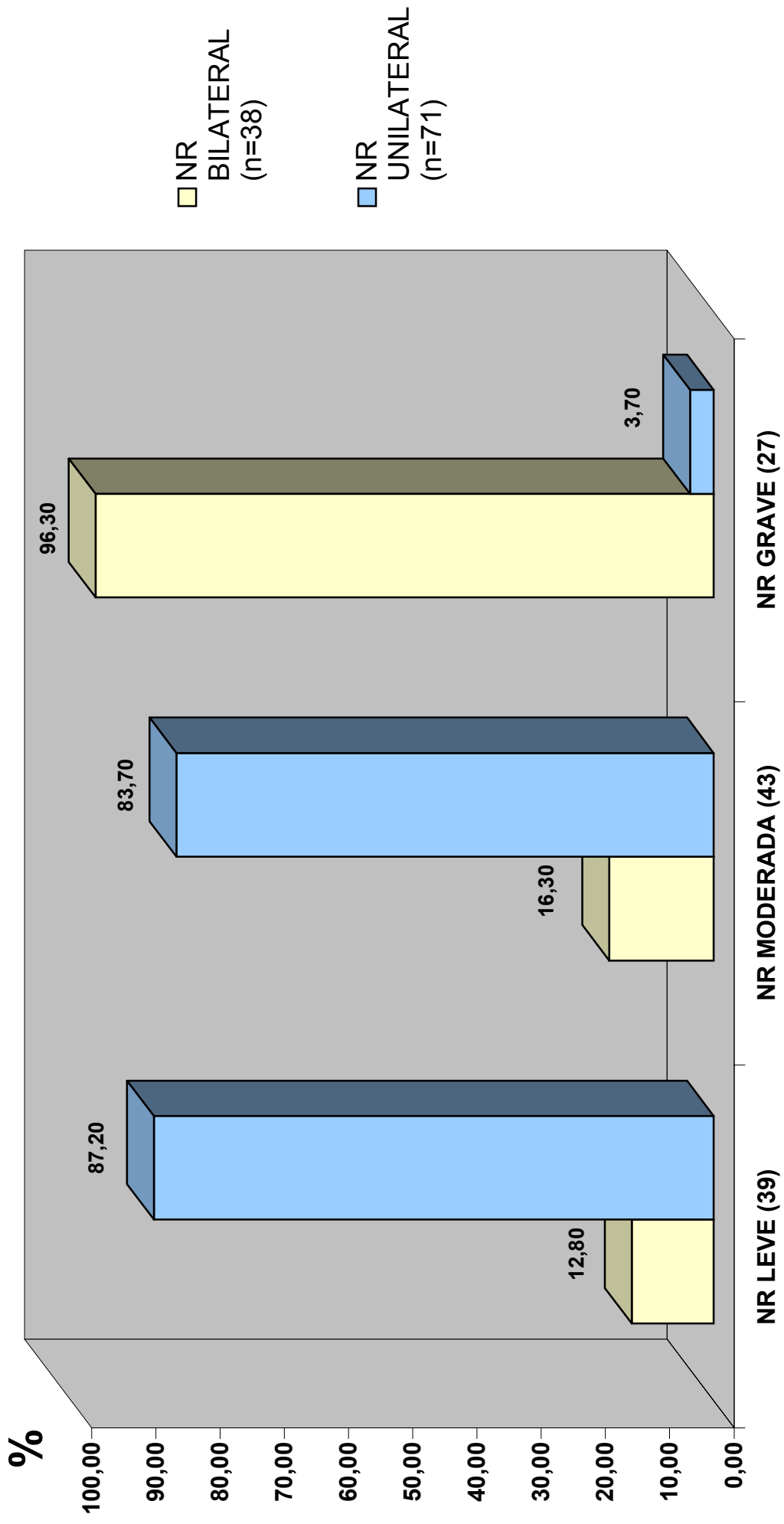
FIGURA 11.- FUNCIÓN VESICAL POR GRUPOS DE LESIÓN



**FIGURA 12.- GRADO DE LESIÓN RENAL DETERMINADA POR GAMMAGRAFÍA DMSA**

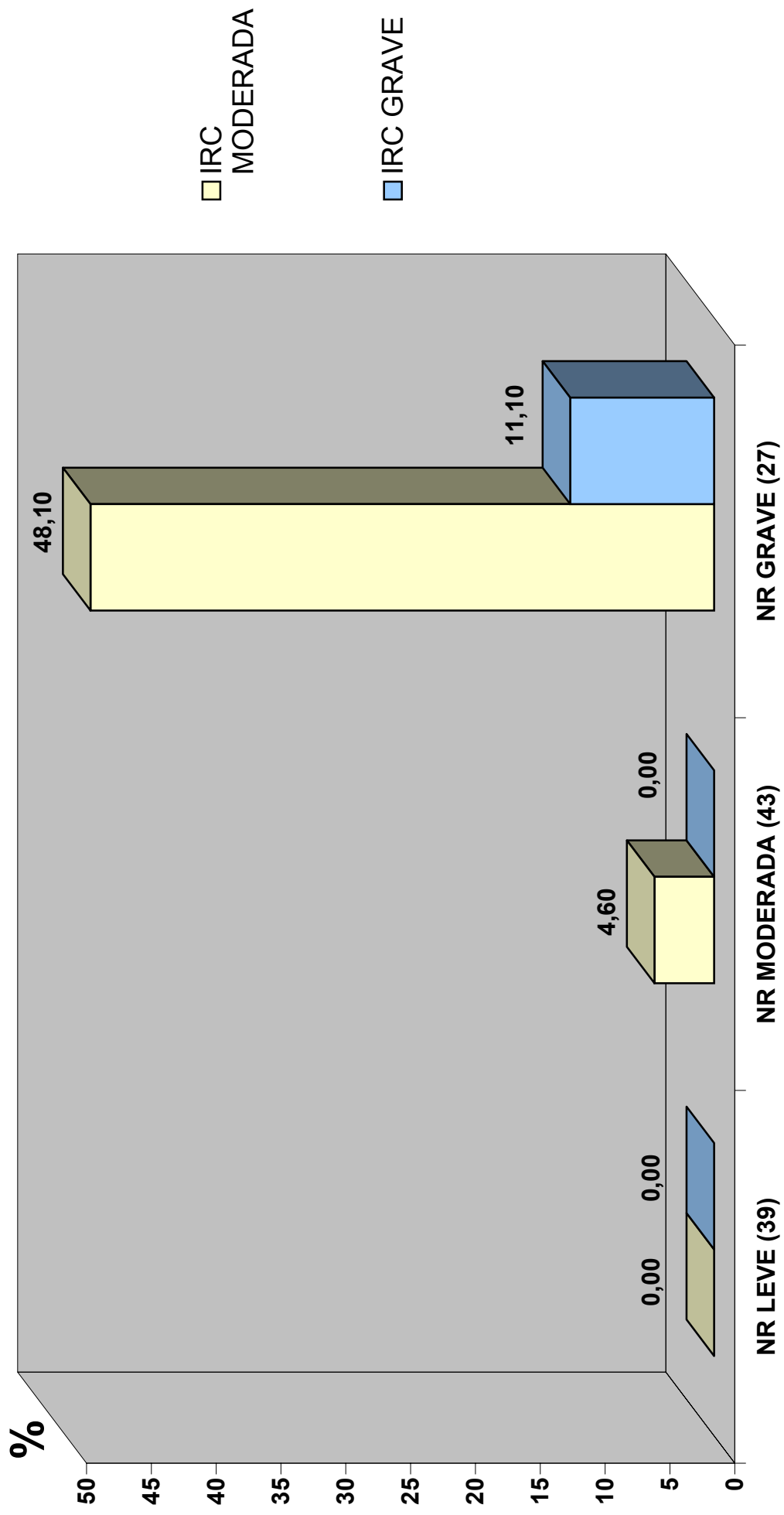


**FIGURA 13.- LATERALIDAD DE LA LESIÓN POR GRUPOS DE NR**

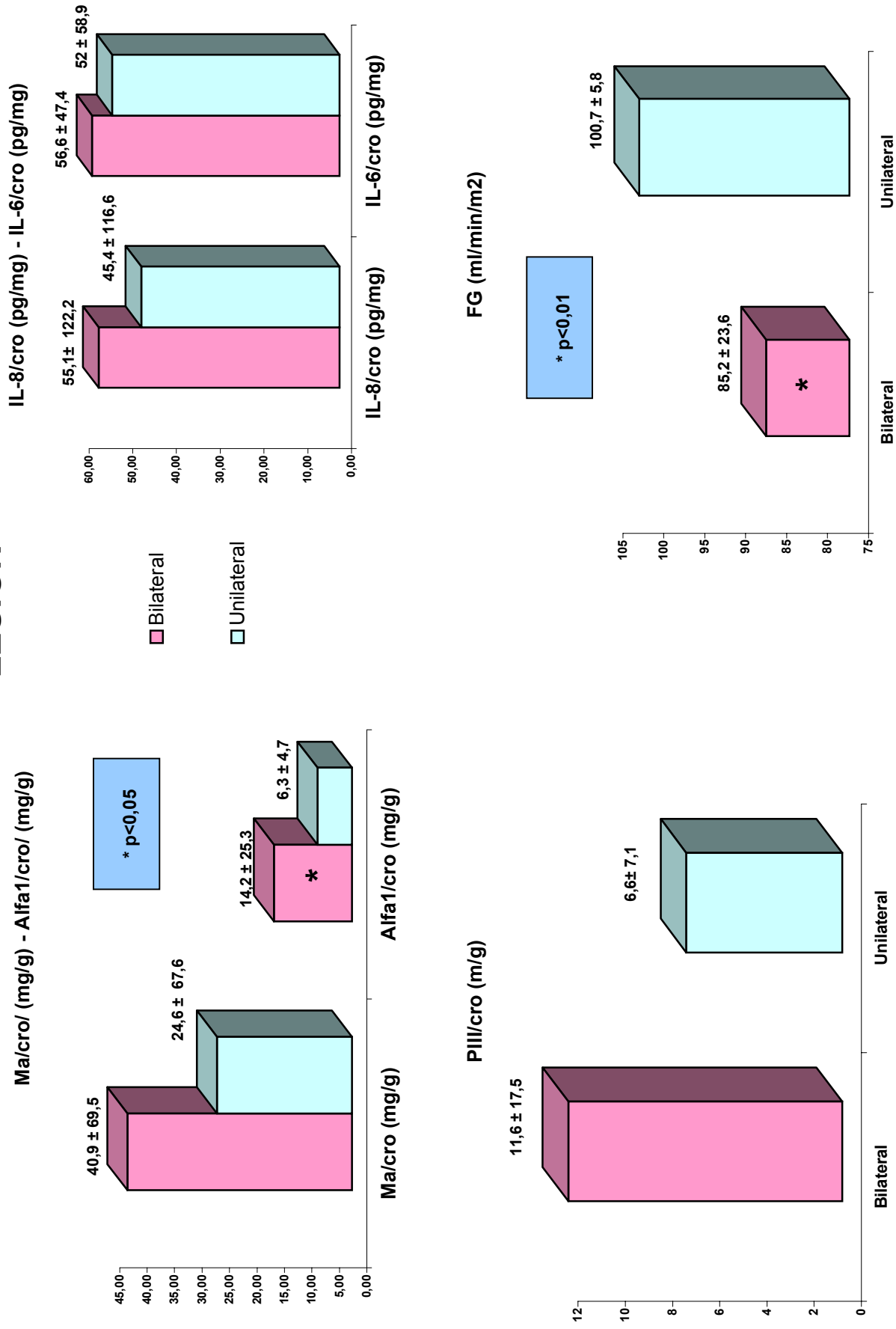




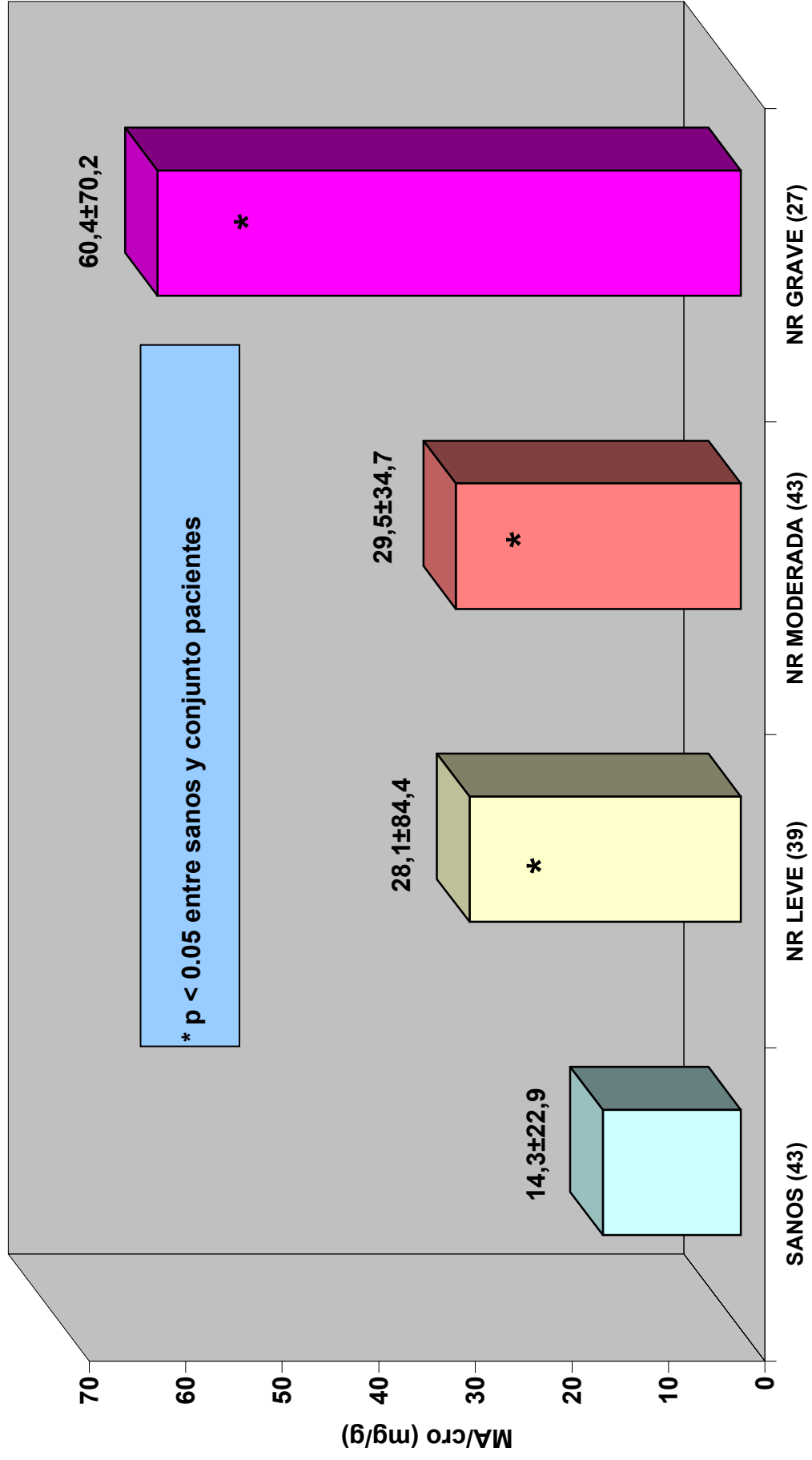
**FIGURA 14.- PRESENCIA DE IRC POR GRUPOS DE LESIÓN**



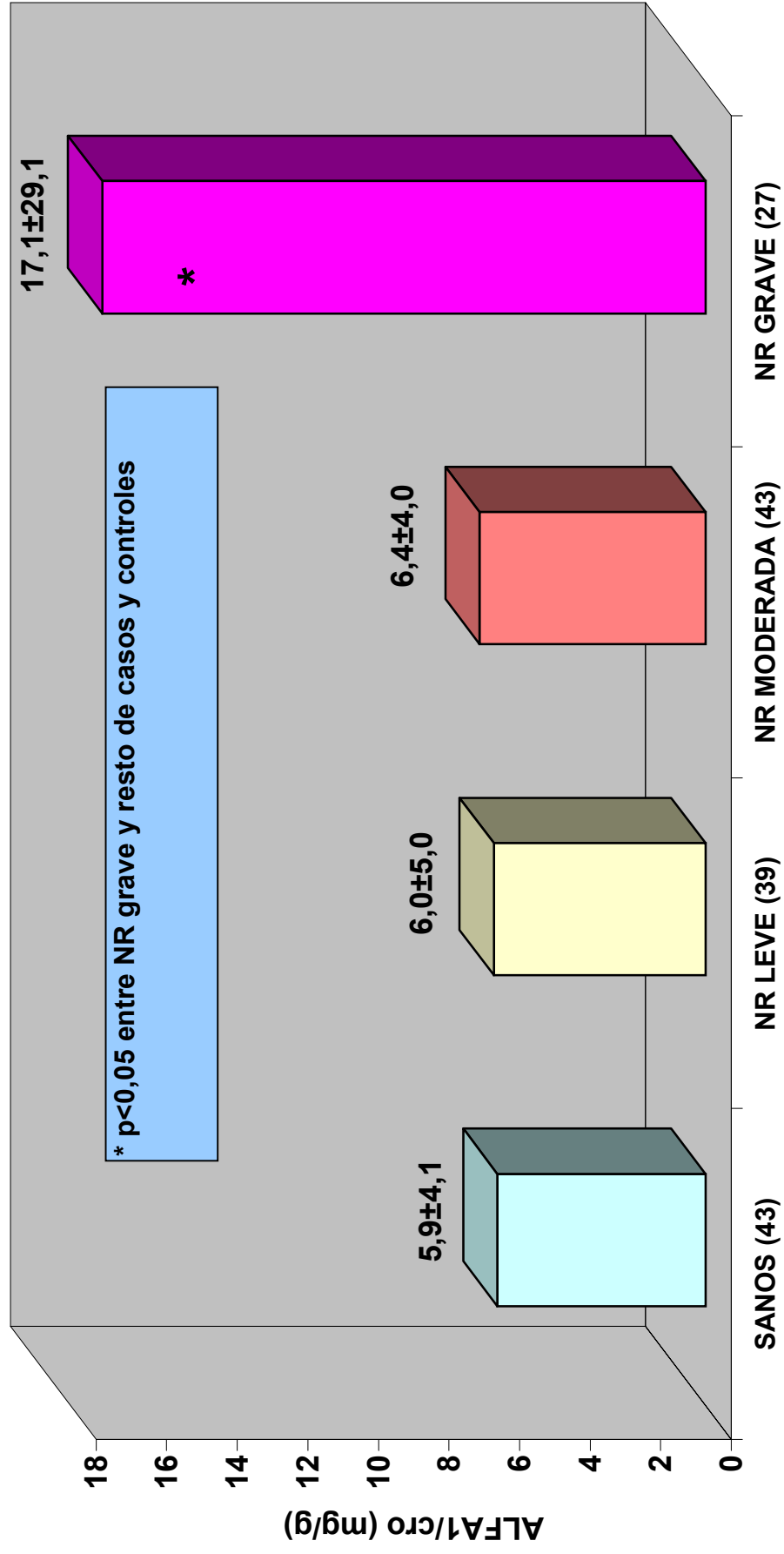
**FIGURA 15.- RELACIÓN MARCADORES URINARIOS Y FG CON LATERALIDAD LESIÓN**



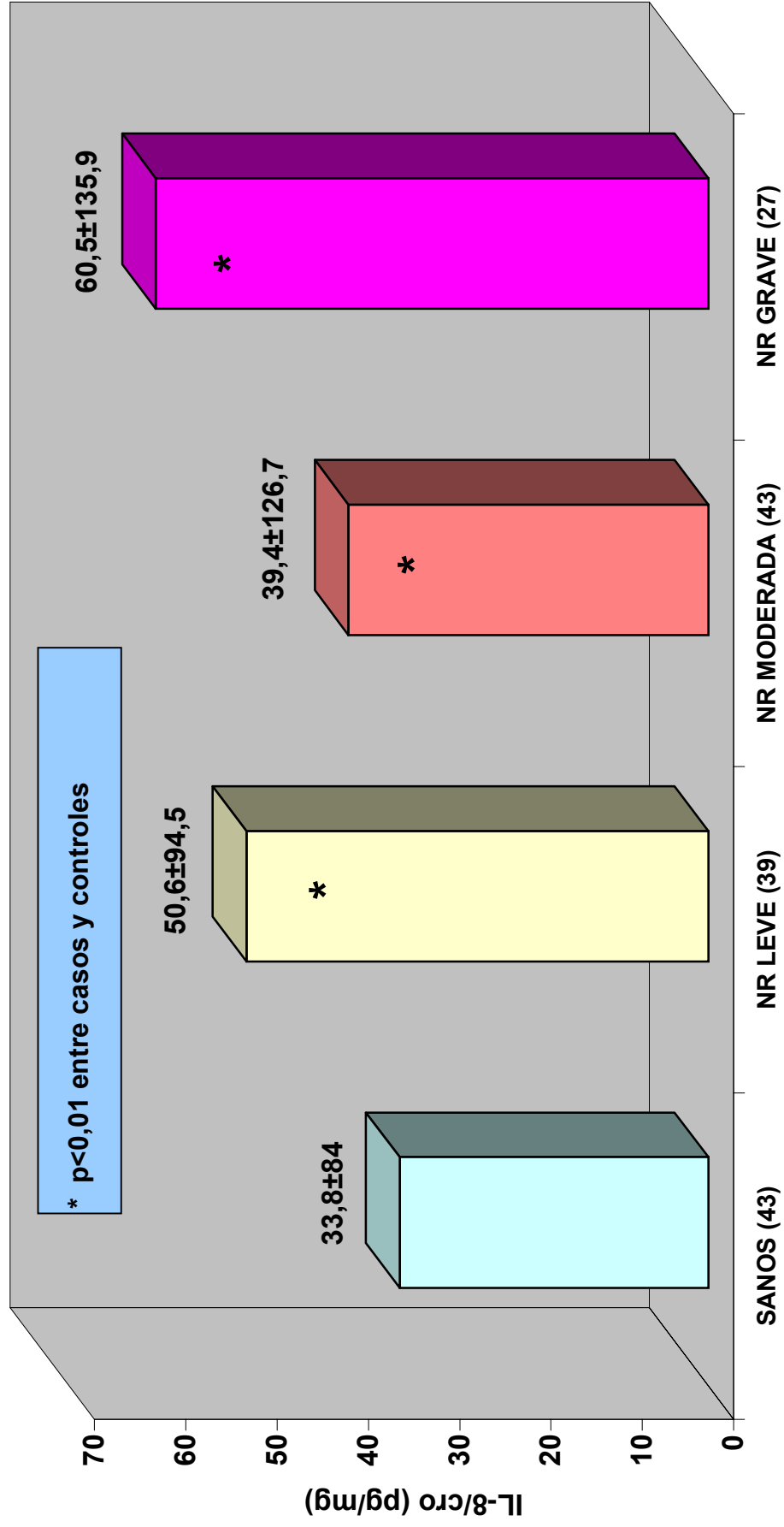
**FIGURA 16.- EXCRECIÓN DE MICROALBUMINA POR GRUPOS DE LESIÓN**



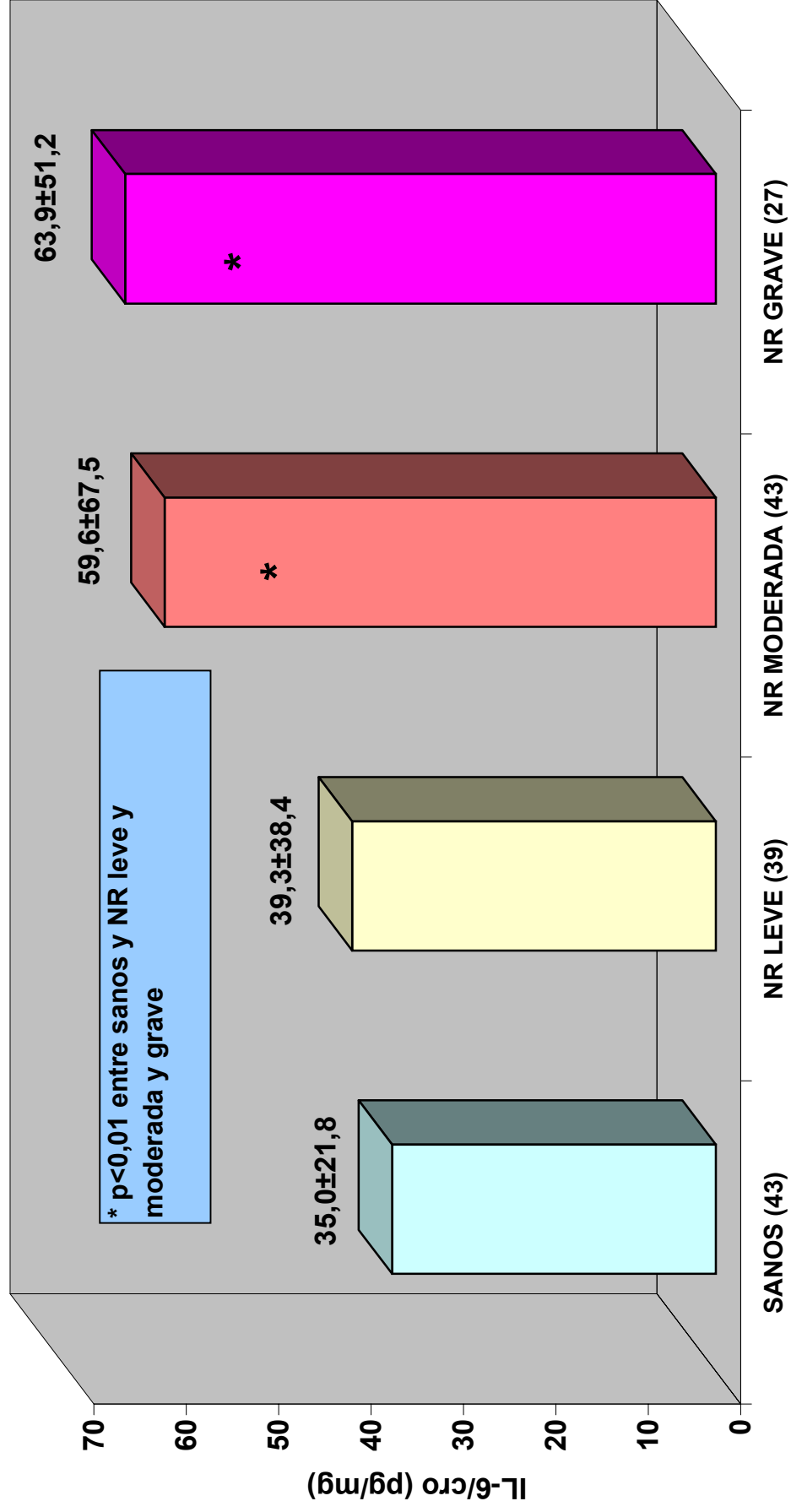
**FIGURA 17.- EXCRECIÓN DE ALFA-1-MICROGLOBULINA POR GRUPOS DE LESIÓN**



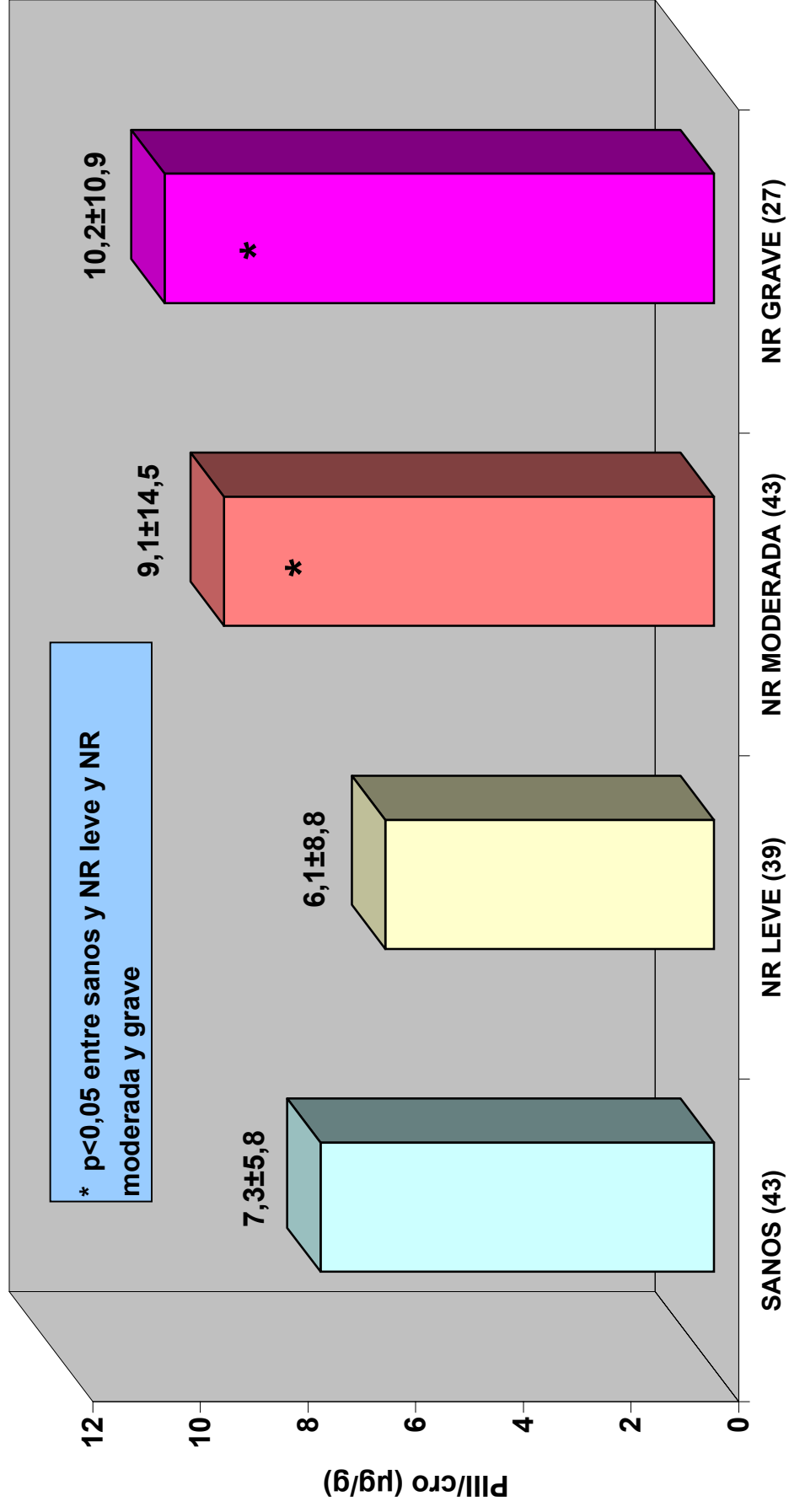
**FIGURA 18.- EXCRECIÓN DE INTERLEUCINA-8 POR GRUPOS DE LESIÓN**



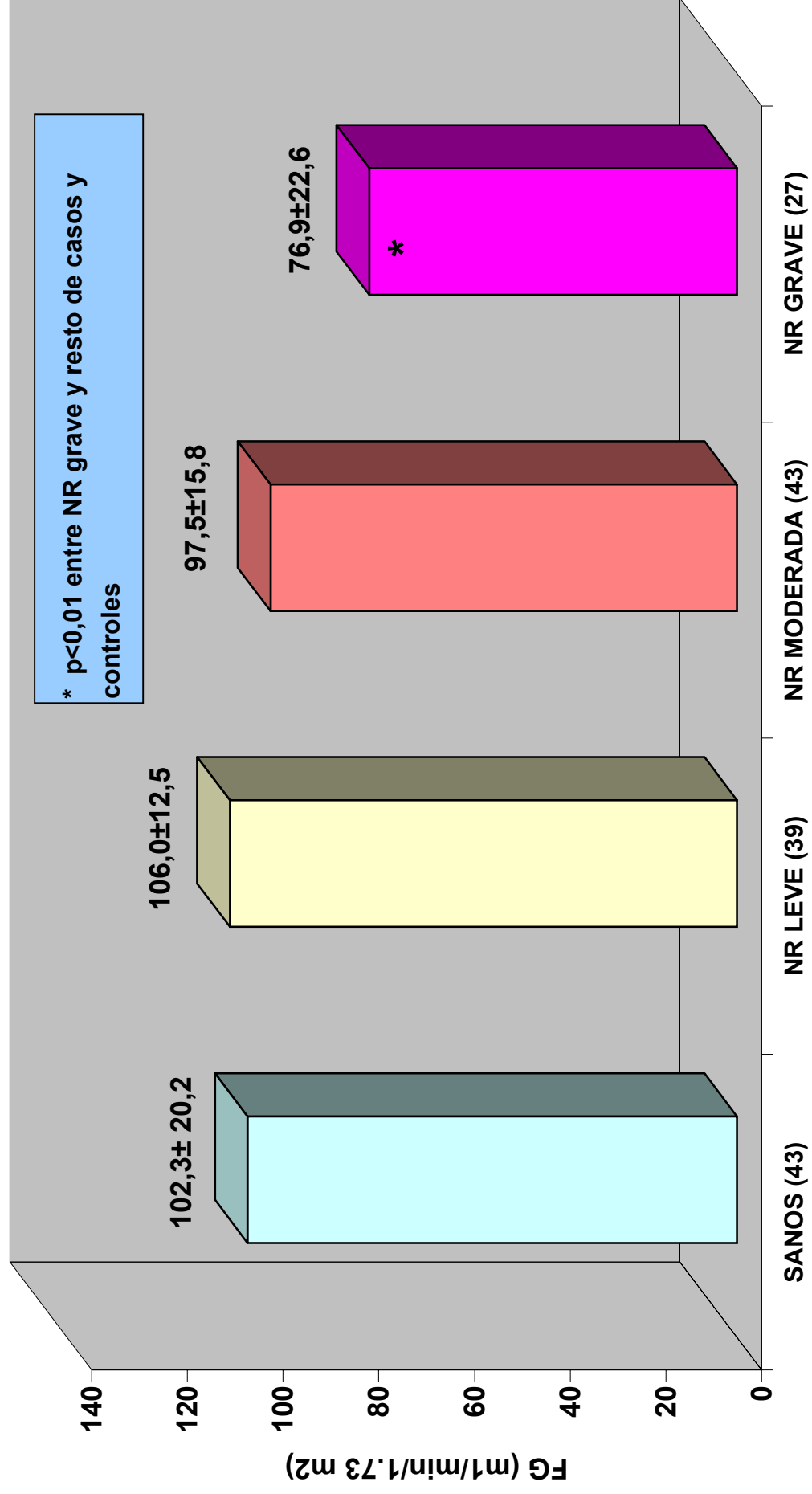
**FIGURA 19.- EXCRECIÓN DE INTERLEUCINA - 6 POR GRADO DE LESIÓN**



**FIGURA 20.- EXCRECIÓN DE PROCOLÁGENO III POR GRUPOS DE LESIÓN**



**FIGURA 21.- FILTRADO GLOMERULAR POR GRUPOS DE LESIÓN**





## **BIBLIOGRAFÍA**

- Aggarwal VK, Verrier-Jones K. Vesicoureteric reflux: screening of first degree relatives. *Arch Dis Child* 1989; 64: 1538-1541.
- Andrich M, Majd M. Diagnostic imaging in the evaluation of the first urinary tract infection in infants and young children. *Pediatrics* 1992; 90: 436-441.
- Aparicio C, Morales MC: Insuficiencia renal crónica: Tratamiento conservador. En *Protocolos diagnósticos y terapéuticos de la Asociación Española de Pediatría*. Tomo 3. Nefrología. 2001. pág: 175.
- Arant BS Jr: Vesicoureteric reflux and renal injury. *Am J Kidney Diseases* 1991; 17: 491-511.
- Areses R. Diagnóstico por imagen en la infección del tracto urinario en pediatría. *An Esp Pediatr* 2000; 52 (Supl 5): 303-309.
- Arkkila PE, Ronnema T, Koskinen PJ, Kantola IM, Seppanen E, Viikari JS: Biochemical markers of type III and I collagen: association with retinopathy and neuropathy in type 1 diabetic subjects. *Diabet Med* 2001. Oct; 18 (10): 816-821.
- Arnold A, Brownless S, Carty H: Detection of renal scarring by DMSA scanning: an experimental study. *J Pediatr Surg*. 1990. 25: 391-393.
- Assadi FK: Urinary beta<sub>2</sub>-microglobulin as a marker for vesicoureteral reflux. *Pediatr Nephrol*. 1996. 10: 642-644.
- Atala A, Ellsworth P, Share J et al: Comparison of sonicated albumin enhanced sonography to fluoroscopic and radionuclide voiding cystography for detecting vesicoureteral reflux. *J Urol* 1998. 160: 1820-1822.
- Baggiolini M, Dewald B, and Moser B: Interleukin-8 and related chemotactic cytokines-C-X-C and C-C chemokines. *Adv Immunol* 1994, 55: 97-179.
- Bailey RR, Rolleston GL: Vesicoureteric reflux and reflux nephropathy: the Christchurch contribution. *N-Z:Med-J*. 1997. Jul 25; 110 (1048): 266-269.
- Bailey RR: The relationship of vesico-ureteric reflux to urinary tract infection and chronic pyelonephritis-reflux nephropathy. *Clin. Nephrology*. 1973. (1): 132-141.
- Bailey RR: Vesico-ureteric reflux and reflux nephropathy. En: Cameron S, Davison AM, Grünfeld JP, Kerr D, Ritz E. Eds. *Oxford textbook of clinical Nephrology*, vol. 3. Oxford University Press. 1992: 1983-2002.
- Bailey RR: Vesico-ureteric reflux and reflux nephropathy. *Kidney-Int*. 1993. Vol.44. Suppl. 42: 80-85.

- Baraibar R, Porta R: Seguimiento posnatal del feto con pielectasia: un problema no resuelto. *An Esp Pediatr.* 2000. 53: 441-448.
- Barajas de Frutos D, Pedrero Vera J, Bolívar Barrales JE, Bolívar Galiano V, Díaz Molina M: La infección del tracto urinario en la infancia. II: Tratamiento. *Rev Esp Pediatr.* 1988 a; 44: 576-581.
- Barajas de Frutos D, Pedrero Vera J, Bolívar Barrales JE; Bolívar Galiano V, Díaz Molina M: La infección del tracto urinario en la infancia. I: generalidades y diagnóstico. *Rev Esp Pediatr.* 1988 b; 44: 570-575.
- Barajas de Frutos, D.: El reflujo vesicoureteral en el niño. Valor de la endotelina\_1 y otras proteínas urinarias como marcadores de nefropatía por reflujo. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. 1997.
- Bard JBL, Woolf AS: Nephrogenesis and the development of renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 1992; 7: 563-572.
- Bates P, Bradley WE, Glen E, Griffiths D, Melchior H, Rowan D, Sterling A, Hasd T: the standarization of terminology of lower urinary tract function. *Eur Urol* 1976; 2: 274-276.
- Becker N, Avner ED: Nefropatías y Uropatías congénitas. *Clin Pediatr North Am.* 1995; 6: 1241-1262.
- Bensman A, Leroy B, Sinnassamy P. Infection urinaire. Reflux vésico-uréteral. En: Loirat C, Niaudet P, eds. *Néphrologie pédiatrique (Progrés en Pédiatrie 9)*. Paris: Doin, 1993: 95-106.
- Bernstein J: Developmental abnormalities of the renal parenchyma renal hypoplasia and dysplasia. *Pathol Ann.* 1968; 3: 213-247.
- Bertelli R, Valenti F, Oleggini R, Caridi G, Altieri P, Coviello DA, Botti G, Ravazzolo R, Ghiggeri GM: Cell-specific regulation of  $\alpha_1$  (III) and  $\alpha_2$  (V) collagen by TGF- $\beta_1$  in tubulointerstitial cell models. *Nephrol-Dial-Transplant.* 1998 Mar; 13 (3): 573-579.
- Birmingham Reflux Study Group. Prospective trial of operative versus non-operative treatment of severe vesicoureteric reflux in children: five years' observation. *BMJ* 1987; 295: 237-241.
- Bitzer M, Sterzel RB, Bottinger EP: Transforming growth factor-beta in renal disease. *Kidney-Blood-Press-Res.* 1998. 21 (1): 1-12.

- Blane CE, Di Pietro MA, Zerim JM, Sedman AB, Bloom DA: Renal sonography is not a reliable screening examination for vesicoureteral reflux. *J Urol* 1993; 150: 752-755.
- Blázquez GJ, Escudero G. Infecciones del tracto urinario. Reflujo vesocoureteral. En: *Monografías de Pediatría*. Jarpyo Editores. Barcelona. 1984; nº 10: 40-52.
- Boratynska M: Urine excretion of transforming growth factor-beta 1 in chronic allograft nephropathy. *Ann Transplant*. 1999. 4 (2): 23-28.
- Border WA, Noble NA: Interactions of transforming growth factor-beta and angiotensin II in renal fibrosis. *Hypertension*. 1998. Jan; 31 (1 Pt 2). 181-188.
- Branton MH, Kopp JB: TGF-beta and fibrosis. *Microbes Infect*. 1999. Dec; 1 (15): 1349-1365.
- Bravo Mancheño B, Barajas de Frutos D, Jiménez Álvarez C, Palomino Urda N, Egea Gil M, Pedrero Vera J: Protocolo de seguimiento de los niños con uropatías. *Rev Esp Pediatr* 1991; 47: 467-470.
- Bravo Mancheño, B: Análisis de Parámetros Predictivos en el Desarrollo y la Progresión de la Cicatriz Renal en el Niño. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. 1997: 297-299.
- Brown S, Stewart RJ, O'Hara MD, Hill CM: Histological changes following submucosal Teflon injection in the bladder. *J Pediatr Surg* 1991; 26: 546-647.
- Buckley R: El sistema Inmunitario y sus trastornos. En: Nelson W, Behrman R, Kliegman R, Harbin A (Ed): *Tratado de Pediatría*. Decimoquinta Edición. 1997. Interamericana de España. Madrid. Vol I: 703-711.
- Bueno A, Peña M, Moreno D: Reflujo vesicoureteral y nefropatía por reflujo. En: *Protocolos diagnósticos y terapéuticos de la Asociación Española de Pediatría*. Tomo 3. Nefrología. 2001. Pág.: 223-231.
- Bueno M, Sarria A, Bueno-Lozano M, Jiménez A: Hipertensión en la infancia. *An Esp Pediatr*. 1989; 31: 248-255.
- Capozza N, Patricolo M, Lais A, Matarazzo E, Caione P: Endoscopic treatment of vesico-ureteral reflux: twelve years' experience. *Urol Int*. 2001; 67 (3): 228-231.
- Chatziantoniou C, Boffa JJ, Ardaillou R, Dussaule JC: Nitric oxide inhibition induces early activation of type I collagen gene in renal resistance vessels and glomeruli in transgenic mice. Role of endothelin. *J Clin Invest*. 1998. Jun 15; 101 (12). 2780-2789.
- Chevalier R: Congenital anomalies of the kidney and urinary tract. *J Urol* 2001. 165: 203-204.

- Choi ME: Mechanism of transforming growth factor-beta1 signaling: Role of the mitogen-activated protein kinase. *Kidney Int.* 2000. Sep; 58 Suppl 77: S53-58.
- Cochat P, Dubourg L, Bouvier R, Gouda G, Harabor C: Parenchymatous cicatrix and urinary tract infection: physiopathology and clinical implications. *Arch-Pediatr.* 1998. 5 Suppl 3: 290S-295S.
- Cohen RA, Rushton HG, Belman AB, Kass EJ, Majd M, Shaer C. Renal scarring and vesicoureteral reflux in children with myelodysplasia. *J Urol* 1990; 144: 541-544.
- Coppo R, Porcellini MG, Gianoglio B, Alessi D, Peruzzi L, Amore A y cols.: *Clin Nephrol.* 1993; 40: 299-307.
- Dalton RN, Haycock, GH: Laboratory investigation. En: Holliday MA, Barrat TM, Avner ED (eds). *Pediatric Nephrology.* Third edition. Williams and Wilkins. Baltimor: 1994: 397-420.
- Davies AG, Postlethwaite RJ, Price DA, Burn JL, Houlton CA, Fielding BA: Urinary albumin excretion in school children. *Arch Dis Child,* 1984. 59: 625-630.
- Del Campo MT, Tato RE, Tenias JM, Ramos T: Valoración de microalbuminuria en una población pediátrica. *An Esp Pediatr.* 1992. 37: 187-189.
- Dick PT, Feldman W: Rutine diagnostic imaging for childhood urinary tract infections: A systematic overview. *J Pediatr* 1996; 128: 15-22.
- Donaldson M, Chambers R, Woolridge M, Whicher J: Stability of alpha-1-microglobulin, beta-2-microglobulin and retinol binding protein in urine. *Clin. Chim. Acta* 179: 73-78.
- Drachman R, Valevici M, Vardy PA: Excretory urography and cystourethrography in the evaluation of children with urinary tract infection. *Clin Pediatr* 1984; 23: 265-267.
- Dressler GR, Woolf AS: Pax2 in development and renal disease. *Int J Dev Biol.* 1999; 43 (5 Spec No): 463-468.
- Eckstein HB. Vejiga neuropática. En: Willams DI, ed. *Nefrourología pediátrica.* Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana S.A. 1976: 294-311.
- Eddy A: Molecular basis of renal fibrosis. *Pediatr Nephrol.* 2000. 15: 290-301.
- Elder JS: Commentary: importance of antenatal diagnosis of vesicoureteral reflux. *J Urol* 1992; 148: 1750-1754.
- Elison BS, Taylor D, Van Der Wall H, Pereira JK, Cahill S, Rosenberg AR, Farnsworth RH, Murray PC: Comparison of DMSA Scintigraphy with Intravenous Urography for the

- Detection of Renal Scarring and its Correlation With Vesicoureteric Reflux. *British Journal of Urology*. 1992. 69: 294-302.
- El-Nahas AM, Muchaneta-Kubara EC, Essawy M, Soylemezoglu O: Renal fibrosis: insights into pathogenesis and treatment. *Int-J-Biochem-Cell-Biol*. 1997.Jan; 29(1): 55-62.
- Espejo Maldonado E, Tallada Buñuel M: Cistomanometría y secuencia miccional en la incontinencia urinaria. En: Martínez Agulló E (ed). *Incontinencia Urinaria. Conceptos actuales*. 1ª Ed. Laboratorios INDAS S.A. Madrid, 1990: 139-165.
- Espinosa Román L, Navarro Torres T: Mecanismo del Daño Renal en la Infección Urinaria. IX Curso Internacional de Avances en Nefrología Pediátrica. Oviedo, 1998.
- Estornell F, Sendra M, Beamud A, Martínez M, García-Ibarra F. Nefropatía por reflujo: estudio clínico en niños diagnosticados de reflujo vesicoureteral esencial. *Actas Urol Esp* 1987; XI: 355-362.
- Farhat W, McLorie G, Geary D, Capolicchio G, Bāgli D, Merguerian P et al. The natural history of neonatal vesicouretral reflux associated with antenatal hydronephrosis. *J Urol* 2000; 164:1057-1060.
- Farreras-Rozman (a): *Tratado de Medicina Interna*. Ediciones Harcourt, 14ª edición. 2000. Sección 9. Cap.169.
- Farreras-Rozman (b): *Tratado de Medicina Interna*. Ediciones Harcourt, 14ª edición. 2000. Sección 20. Cap.370.
- Faure G, Dechelette E, Rambeaud J. Reflux vésico-urétéral. *Encycl Méd Chir (Paris, France), Rein-Organes génito-urinaires*, 18069 F<sup>10</sup>, 7- 1986. 16 p.
- Frazier KS, Paredes A, Dube P, Styer E: Connentive tissue growth factor expression in the rat remnant kidney model and association with tubular epithelial cells undergoing transdifferentiation. *Vet Pathol*. 2000. Jul, 37 (4). 328-335.
- Fukatsu A, Matsuo S, Yuzawa Y et al: Expression of interleukin 6 and major histocompatibility complex molecules in tubular epithelial cells of diseased human kidneys. *Lab Invest* 1993. 69: 58.
- Gagliano N, Arosio B, Santambrogio D, Balestrieri MR, Padoani G, Tagliabue J, Masson S, Vergani C, Annoni G: Age-dependent expression of fibrosis-related genes and collagen deposition in rat kidney cortex. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*. 2000. Aug; 55 (8): B365-372.

- Garat JM, Algaba F, Gosálbez R, Piró C, Martín JA: Malformaciones nefrourológicas. En: Garat JM, Gosálbez R (eds). *Urología Pediátrica*. Salvat. Barcelona, 1987: 211-414.
- Ghiggeri GM, Oleggini R, Musante L, Caridi G, Gusmano R, Ravazzolo R: A DNA element in the alpha 1 type III collagen promoter mediates a stimulatory response by angiotensin II. *Kidney Int.* 2000. Aug, 58 (2): 537-548.
- Ginevri F, Mutti A, DeToni T, Ghiggeri GM, Perfumo F and Gusmano R: Normal levels of urinary brush border antigens and other tubular markers in children. 1993. *Pediatr Nephrol* 7: 240-241.
- Ginevri F, Mutti A, Ghiggeri GM, Alinovi R, Ciardi MR, Bergamaschi E, Verrina E, Gusmano R. Urinary excretion of brush border antigens and other proteins in children with vesicoureteric reflux. 1992. *Pediatr Nephrol* 67: 30-32.
- Ginevri F: Urinary proteins in vesicoureteric reflux. When the same thinking leads to different conclusions. *Pediatr Nephrol.* (Letters to the editors). 1994. (8): 785-788.
- Gleeson FV, Gordon I. Imaging in urinary tract infection. *Arch Dis Child* 1991; 66: 1282-1283.
- Gobet R, Cisek LJ, Zotti P, Peters CA: Experimental vesicoureteral reflux in the fetus depends on bladder function and causes renal fibrosis. *J.Urol.* 1998. Sep.; 160 (3 Pt 2): 1058-1062, discussion 1079.
- Goldraich IH, Goldraich NP, Ramos OL: Classification of reflux nephropathy according to findings at DMSA renal scan. *Eur J Pediatr.* 1983; 148: 212.
- Goldraich NP, Godraich IH. Update on dimercaptosuccinic acid renal scanning in children with urinary tract infection. *Pediatr Nephrol* 1995; 9: 221-226.
- Goldraich NP, Ramos OL, Goldraich IH: Urography versus DMSA scan in children with vesicoureteric reflux. *Pediatr Nephrol.* 1989. 3: 1-5.
- Goldsmith DI, Novello AC: Clinical and laboratory evaluation of renal function. En: Edelman CM, Jr. ed. *Pediatric kidney disease* (second ed.), vol. 1. Goston: Little, Brown and Company, 1992: 461-473.
- Gonzalez-Avila G, Iturria C, Vadillo Ortega F, Ovalle C, Montano M: Changes in matrix metalloproteinases during the evolution of interstitial renal fibrosis in a rat experimental model. *Pathobiology.* 1998; 66 (5): 196-204.
- Goonasekera CD, Shah V, Dillon MJ: Tubular proteinuria in reflux nephropathy: post ureteric re-implantation. *Pediatr-Nephrol.* 1996. Oct.; 10 (5): 559-63.

- Goonasekera CD, Jardim H, Shah V, Dillon MJ: Abnormalities of erythrocyte sodium transport in reflux nephropathy. *J Hum Hypertens*. 1996. Jul; 10 (7): 473-476.
- Gordillo Paniagua G, Eraña Guerra LH, de la Cruz Paris J: Malformaciones urológicas y renales. Nefropatía y Reflujo vesicoureteral. En: Gordillo Paniagua G (ed). *Nefrología Pediátrica*. Mosby-Doyma. Madrid, 1996: 133-157 (b).
- Gordillo Paniagua G: El niño con enfermedad renal. En: Gordillo Paniagua G (ed). *Nefrología Pediátrica*. Mosby-Doyma. Madrid, 1996: 67-82.
- Gordillo PG, de la Cruz Paris J (a): Nefropatía y Reflujo Vesicoureteral. En Gordillo Paniagua G(ed). *Nefrología Pediátrica*. Mosby-Doyma. Madrid, 1996. Capítulo 7, pág. 148 (a).
- Gordon I: Urinary tract infection in paediatrics: the role of diagnostic imaging. *Br J Radiol* 1990; 63: 507-511.
- Gordon I: Vesicoureteric reflux, urinary tract infection and renal damage in children. *Lancet* 1995; 346: 489-490.
- Guder WG, Heiland A: Urine analysis. *J Clin Chem Clin Biochem* 1986; 24: 611-620.
- Guo G, Morrissey J, McCracken R, Tolley T, Klahr S: Role of TNFR1 and TNFR2 receptors in tubulointerstitial fibrosis of obstructive nephropathy. *Am J Physiol*. 1999. Nov, 277 (5 Pt 2): F766-772.
- Gupta S, Clarkson MR, Duggan J, Brady HR: Connective tissue growth factor: potential role in glomerulosclerosis and tubulointerstitial fibrosis. *Kidney Int*. 2000. Oct; 58 (4): 1389-1399.
- Habib R, Broyer M, Benmaiz H: Chronic renal failure in children. *Nephron* 1973; 11: 209-220.
- Han DC, Isono M, Hoffman BB, Ziyadeh FN: High glucose stimulates proliferation and collagen type I synthesis in renal cortical fibroblasts: mediation by autocrine activation of TGF-beta. *J Am Soc Nephrol*. 1999. Sep; 10 (9): 1891-1899.
- Haraoka M, Senoh K, Ogata N, Furkawa M, Matsumoto T, Kumazawa J: elevated interleukin-8 levels in the urine of children with renal scarring and/or vesicoureteral reflux. *J Urol* 1996. Vol. 155: 678-680.
- Harrison, Isselbacher K, Braunwald E et al: *Principios de Medicina Interna*. 1994. 13ª edición. Vol. II. Págs. 2425-2429.
- Heale WF: Hereditary vesicoureteric reflux: phenotypic variation and family screening. *Pediatr Nephrol*. 1997. Aug; 11 (4): 504-507.



- Hill C, Flyvbjerg A, Gronback H, Petrik J, Hill DJ, Thomas CR, Sheppard MC, Logan A: The renal expression of transforming growth factor-beta isoforms and their receptors in acute and chronic experimental diabetes in rats. *Endocrinology*. 2000. Mar; 141 (3): 1196-1208.
- Hoher B, Rohmeiss P, Thone Reineke C, Schwarz A, Burst V, van-der-Woude F, Bauer C, Theuring F: Apoptosis in kidneys of endothelin-1 transgenic mice. *J-Cardiovas-Pharmacol*. 1998. 31 Suppl 1: S554-556.
- Hoher B, Thone-Reineke C, Rohmeiss P, Schmager F, Slowinski T, Burst V, Siegmund F, Quertermous T, Bauer C, Neumayer HH, Schleuning WD, Theuring F: Endothelin1 transgenic mice develop glomerulosclerosis, interstitial fibrosis and renal cysts but not hypertension. *J-Clin-Invest*. 1997. Mar 15; 99(6): 1380-1389.
- Hodson, CJ, Edwards D: Chronic pyelonephritis and vesicoureteric reflux. *Clin. Radiol*. 1960. 11: 219-223.
- Homsy YL: Dysfunctional voiding syndromes and vesicoureteral reflux. *Pediatr Nephrol* 1994; 8: 116-121.
- Horstrup JH, Gehrmann M, Schneider B, Ploge A, Froese P, Schirop T, Kampf D, Frei U, Neumann R, Eckardt KU: Elevation of serum and urine levels of TIMP-1 and tenascin in patients with renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2002 Jun; 17 (6): 1005-1013.
- Huang A, Palmer LS, Hom d, Valderrama E, Trachtman H: The role of nitric oxide in obstructive nephropathy. *J Urol* 2000. 163 (4): 1276-1281.
- Hübner P, Schröder M, Dippel J, Adams H, Hertel J, Hör G. Cortical hypoperfusion in acute pyelonephritis in children detected by power-doppler sonography. Comparison with DMSA-SPECT scintigraphy. *Ped Nephrol*. 1997; 11: C53.
- International Reflux Study Committee. Medical versus surgical treatment of primary vesicoureteral reflux. *Pediatrics*. 1981. 67: 392-400.
- Ito Y, Aten J, Bende RJ, Oemar BS, Rabelink TJ, Weening JJ, Goldschmeding R: Expression of connective tissue growth factor in human renal fibrosis. *Kidney-Int*. 1998. Apr; 53 (4): 853-861.
- Iwano M, Dohi K, Hirata E et al: Urinary levels of IL-6 in patients with active lupus nephritis. *Clin Nephrol*, 1993. 42: S80.

- Jacobson SH, Eklof O, Eriksson CG, Lins LE, Tidgren B, Wimberg J: Development of hypertension and uremia after pyelonephritis in childhood: 27 year follow up. *Br Med J* 1989; 299: 703-706.
- Jacobson SH, Eklöf O, Lins L, Wikstad I, Winberb J. Long term prognosis of post infectious renal scarring in relation to radiological findigs in childhood. A 27 year follow up. *Pediatr Nephrol* 1992; 6: 19-24.
- Jacobsson B: Tc-DMSA scan in the diagnosis of acute pielonephritis in children: relation to clinical and radiological findings. *Pediatr Nephrol* 1992. 6: 328-334.
- Jantausch B, O'Donnell R, Wiedermann B: Urinary interleukin-6 and interleukin-8 in children with urinary tract infection. *Pediatr Nephrol* 2000. Dec; 15 (3-4): 236-240.
- Jenny E. Stutley and Isky Gordon: Vesico-ureteric reflux in the damaged non-scarred kidney. *Pediatr. Nephrol.* 1992.6: 25-29.
- Jodal U, Koskimies O, Hanson E, Löhr G, Olbing H, Smellie J y cols: Infection pattern in children with vesicoureteral reflux randomly allocated to operation or long-term antibacterial prophylaxis. *J Urol* 12992; 148: 1650-1652.
- Jodal U, Wingerg J: Management of children with unobstructed urinary tract infection. *Pediatr Nephrol* 1987; 1: 647-656.
- Johnson TS, Griffin M, Thomas GL, Skill J, Cox A, Yang G, Nicholas B, Birckbichler PJ, Muchaneta Kubara C, Meguid El Nahas A: The role of transglutaminase in the rat subtotal nephrectomy model of renal fibrosis. *Journal of Clinic Inverstigation.* 1997. Jun 15, 99 (12): 2950-2960.
- Jones KV, Asscher AW. Urinary tract infection and vesicoureteral reflux. En: Edelman CM Jr, ed. *Pediatric kidney disease.* 2<sup>a</sup> edition. Boston: Little, Brown and company, 1992: 1943-1991.
- Jones SG, Morrisey K, Williams JD, Phillips AO: TGF-beta1 stimulates the release of pre-formed bFGF from renal proximal tubular cells. *Kidney Int.* 1999. Jul; 56 (1): 83-91.
- Jund J, Vernet E: Le reflux vésico-urétéral primaire. *La Médecine Infantile* 1992; 8: 583-595.
- Jutley RS, Youngson GG, Eremin O, Ninan GK: Serum cytokine profile in reflux nephropathy. *Pediatr Surg Int.* 2000. 16 (1-2): 64-68.

- Kaneto H, Ohtani H, Fukuzaki A, Ishidoya S, Takeda A, Ogata Y, Nagura H, Orikasa S: Increased expression of TGF-beta 1 but not of its receptors contributes to human obstructive nephropathy. *Kidney Int.* 1999. Dec; 56 (6): 2137-2146.
- Kassir K, Vargas-Shiraishi O, Zaldivar F, Berman M, Sinhg j, Arrieta A: Cytokine profiles of pediatric patients treated with antibiotics for pyelonephritis: potential therapeutic impact. *Clin Diagn Lab Immunol* 2001. Nov; 8 (6): 1060-1063.
- Keller F, Rehbein C, Schwarz A, Fleck M, Hayasaka A, Schuppan D, Offermann G, Hahn EG: Increased procollagen III production in patients with kidney disease. *Nephron.* 1988; 50 (4): 332-337.
- King LR: Fetal hydronephrosis: what is the urologist to do?. *Urology* 1993; 42: 229-231.
- Kitamura M, Sütö TS: TGF- $\beta$  and glomerulonephritis: anti-inflammatory versus prosclerotic actions. 1997. *Nephrol Dial Transplant.* 12: 669-679.
- Klahr S, Morrissey J: The role of growth factors, cytokines, and vasoactive compounds in obstructive nephropathy. *Seminars in Nephrology.* 1998. 18 (6): 622-632.
- Klahr S: Obstructive nephropathy. *Kidney Int.* 1998. 54 (1): 286-300.
- Kobayashi H, WangY, Puri P: Increased levels of circulating endothelial leukocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) in children with reflux nephropathy. *Eur-Urol.* 1997. 31 (3): 343-346.
- Koff SA, Campbell K: Nonoperative management of unilareral neonatal hydronephrosis. *J Urol* 1992; 148: 525-531.
- Koff SA: Obstructive uropathy, clinical aspects. En: Holliday MA, Barrat TM, Avner ED (eds). *Pediatric Nephrology.* Third edition. Williams and Wilkins. Baltimor, 1993: 1005-1014.
- Koff SA: Relationship between dysfunctional voiding and reflux. *J Urol* 1992; 148: 1703-1705.
- Köhler J, Tencer J, Thysell G and Forsberg L: Vesicoureteral reflux diagnosed in adulthood. Incidence or urinary tract infections, Hypertension, proteinuria, back pain and renal calculi. *Nephrol Dial Transplant .*1997. 12: 2580-2587.
- Konda R, Sakai K, Ota S, Takeda A, Chida N, Sato H, Orikasa S: Soluble interleukin-2 receptor in children with reflux nephropathy. *J-Urol.* 1998. Feb. 159 (2): 535-9.
- Konda R, Sakai K, Ota S, Takeda A, Chida N, Orikasa S: Urinary excretion of epidermal growth factor in children with reflux nephropathy. *J-Urol.* 1997. Jun; 157 (6): 2282-6.

- Konda R, Sakai K, Ota S, Takeda A, Orikasa S: Followup study of renal function in children with reflux nephropathy after resolution of vesicoureteral reflux. *J-Urol*. 1997. Mar: 157 (3): 975-979.
- Kunin CM: Tendency of vesico-ureteric reflux to disappear coincident with specific antimicrobial therapy. In: *Renal Infection and Renal Scarring*, edited by Kicaid-Smith P. And Fairley KF. Mercedes Publishing Services, Melbourne. 1970. pg. 287.
- Lane S, Palmer, Max Maizels, William E. Kaplan, Casimir F. Firlit, and Earl Y. Cheng: Urine levels of transforming growth factor-beta 1 in children with Ureteropelvic Junction Obstruction. *Pediatric Urol*. 1997. 50, 769-772.
- Lange M de, Piers D, Kosterink J, Luijk W van, Meijer S, Zeeuw D, Hem G van der: Renal handling of technetium-99m DMSA: evidence for glomerular filtration and peritubular uptake. *J Nucl Med*. 1989. 30: 1219-1223.
- Langman J: Aparato urogenital. En: Langman J (ed). *Embriología Médica. Desarrollo humano normal y anormal* (3ª ed.). Editora Importécnica, Madrid, 1976: 146-182.
- Lebowitz RL. The detection and characterization of vesicoureteral reflux in the child. *J Urol*. 1992; 148: 1640-1642.
- Lewis MP, Norman JT: Differential response of activated versus non-activated renal fibroblasts to tubular epithelial cells. A model of initiation and progression of fibrosis?. *Exp-Nephrol*. 1998. Mar-Apr; 6 (2): 132-143.
- Liu D, Razzaque MS, Cheng M, Taguchi T: The renal expression of heat shock protein 47 and collagens in acute and chronic experimental diabetes in rats. *Histochem j* 2001. Nov-Dec; 33 (11-12): 621-628.
- Loirat C, Ehrlich JHH, Geerlings W, Jones EHP, Landais P, Mallick NP: Report on management of renal failure in children in Europe. XXIII, 1992. *Nephrol Dial Trasplant* (suppl) 1994; 1: 26-40.
- Mahan JD, Arant BS Jr, Bernstein J, Nath K, Hedí A: Proceedings of the American Society of Pediatric Nephrology. 1993. Education Symposium, Washinton, D.C., 4 may, 1993. Vesicoureteral reflux and interstitial injury. *Pediatr Nephrol* 1994; 8: 632-640.
- Majd M, Rushton HG: Renal cortical scintigraphy in the diagnosis of acute pyelonephritis. *Semin Nucl Med*. 1992. 22: 98-111.

- Mariano F, Guida G, Donati D, Tetta C, Cavalli P, Verzetti G, Piccoli G, Camussi G: Production of platelet-activating factor in patients with sepsis-associated acute renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 1999. 14: 1150-1157.
- Martín MJ, Canals A, Vioque J, Tarazona JL, Flores J: Gammagrafía con tecnecio-99m-ácido dimercaptossucínico en el estudio de la primera infección urinaria febril del niño. *An Esp Pediatr*. 2000. 52: 23-30.
- Martinell J, Claesson I, Lidin-Janson G, Jodal U. Urinary infection, reflux and renal scarring in females continuously followed 13-38 years. *Pediatr Nephrol* 1995; 9: 131-136.
- Masashi Haraoka, Kohei Senoh, Nobuo Ogata, Manabu Furukawa, Tetsuro Matsumoto and Joichi Kumazawa: Elevated interleukin-8 levels in the urine of children with renal scarring and/or vesicoureteral reflux. *J.Urol*. 1996. 155, 678-680.
- Mathieu H, Guedeney J: Nephropathie du reflux vésicoureteral. En: Roger P, Habib R, Mathieu H y Broyer M (eds). *Nephrologie pédiatrique*. 3<sup>a</sup> ed. Flammarion-Médecine-Sciences. Paris, 1983: 170-179.
- Mattila AL, Pasternack A, Viinikka L, Perheentupa J: Subnormal concentrations of urinary epidermal growth factor in patients with kidney disease. *J. Clin. Endocr. Metab*. 1986. 62: 1180.
- Mayrer AR, Minitier P, Andriole VT: Immunopathogenesis of chronic pyelonephritis. *Am J Med* 75(Suppl 18) 1983. 59.
- Med. Ass.* 1972. (220): 821.
- Merrick MV, Notghi A, Chalmers N, Wilkinson AG, Uitley WS: Long term follow up to determine the prognostic value of imaging after urinary tract infections. Part 1: reflux. *Arch Dis Child* 1995; 72: 388-392.
- Merrick MV, Uttley WS, Wild SR. The detection of pyelonephritic scarring in children by radioisotope imaging. *Br J Radiol* 1980;53:544-556.
- Miller GC and Caspari EW: Ureteral reflow as genetic trait. *J. Am. Med. Ass.* 1972. (220): 842.
- Miyajima A, Chen J, Lawrence C, Ledbetter S, Soslow RQ, Stern J, Jha S, Pigato J, Lemer ML, Poppas DP, Vaughan ED, Felsen D: Antibody to transforming growth factor-beta ameliorates tubular apoptosis in unilateral ureteral obstruction. *Kidney Int*. 2000. Dec; 58 (6): 2301-2313.

- Mo W, Brecklin C, Garber SL, Song RH, Pegoraro AA, Au J, Arruda JA, Dunea G, Singh AK: Changes in collagenases and TGF-beta precede structural alterations in a model of chronic renal fibrosis. *Kidney Int.* 1999. Jul; 56 (1): 145-153.
- Morgensen CE, Keane WF, Bennett PH, Jerums G, Parving HH, Passa P y cols. *Lancet* 1995; 346: 1080-1084.
- Morita M, Yoshiara S, White RHR, Raafat F: The glomerular changes in children with reflux nephropaty. *J Pathol* 1990; 162: 245-253.
- Morrissey J, Klahr S: Transcription factor NF-kappaB regulation of renal fibrosis during ureteral obstruction. *Semin-Nephrol.* 1998 Nov, 18 (6): 603-611.
- Mozes MM, Bottinger EP, Jacot TA, Kopp JB: Renal expression of fibrotic matrix proteins and of transforming growth factor.beta (TGF.beta) isoforms in TGF-Beta transgenic mice. *J Am Soc Nephrol.* 1999. Feb; 10 (2): 271-280.
- Mulcaby JJ, Kelalis PP, Stickler GB and Burke EC: Familial vesico-ureteral reflux. *J. Urol.* 1970. (104): 762.
- Muley-Alonso R. Reflujo vesicoureteral y nefropatía por reflujo. VII Reunión anual de la Sección de Pediatría extrahospitalaria de la AEP. *An Esp Pediatr* 1993;39(S56):43-46.
- Nakashima Y, Matsuoka H, Oshima K, Sakamoto K: Progression of renal disease in patients with reflux nephropathy. Follow-up study. *Nippon-Hinyokika-Gakkai-Zasshi.* 1997. May, 88 (5). 557-65.
- Nakatsuji S, Yamate J, Sakuma S: Macrophages, myofibroblasts, and extracellular matrix accumulation in interstitial fibrosis of chronic progressive nephropathy in aged rats. *Vet-Pathol.* 1998. Sep; 35 (5): 352-360.
- Ng YY, Huang TP, Yang WC, Chen ZP, Yang AH, Mu W, Nikolic Paterson DJ, Atkins RC, Lan HY: Tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation in progressive tubulointerstitial fibrosis in 5/6 nephrectomized rats. *Kidney-Int.* 1998. Sep; 54 (3): 864-876.
- Nijman RJM. Neurogenic and non-neurogenic bladder dysfunction. *Curr Opin Urol* 2001; 11: 577-583.
- Ninan GK, Jutley RS, Eremin O: Urinary cytokines as markers of reflux nephropathy. *J Urol* 1999. Nov; 162 (5): 1739-1742.
- Noe HN. The current status of screenig for vesicoureteral reflux. *Pediatr Nephrol* 1995; 9: 638-641.

- Noemia P, Goldraich and Isidoro H. Goldraich: Update on dimercaptosuccinic acid renal scanning in children with urinary tract infection. *Pediatr nephrol*. 1995. 9: 221-226.
- Norman JT, Clark IM, García PL: Hypoxia promotes fibrogenesis in human renal fibroblasts. *Kidney Int*. 2000. Dec; 58 (6): 2351-2366.
- O'Donnell MP: Renal tubulointerstitial fibrosis. New thoughts on its development and progression. *Postgrad Med*. 2000. Jul; 108 (1): 159-162, 165, 171-172.
- Oldroyd SD, Thomas GL, Gabbiani G, El Nahas AM: Interferon-gamma inhibits experimental renal fibrosis. *Kidney Int*. 1999. Dec; 56 (6): 2116-2127.
- Oleggini R, Musante L, Menoni S, Botti G, Duca MD, Prudenziati M, Carrea A, Ravazzolo R, Ghiggeri GM: Characterization of a DNA binding site that mediates the stimulatory effect of cyclosporin-A on type III collagen expression in renal cells. *Nephrol Dial Transplant*. 2000. Jun; 15 (6): 778-785.
- Ong ACM: Tubulointerstitial actions of endothelins in the kidney: roles in health and disease. *Nephrol Dial Transplant*. 1996. 11: 251-257.
- Ota S, Konda R, Sakai K, Kuji S, Hatakeyama T, Abe Y, Takeda A, Chida N, Oridasa S: Renal function in children with reflux nephropathy followed up more than 10 years after disappearance of vesicoureteral reflux: usefulness of alpha 1-microglobulin as a marker to predict the prognosis of these children. *Nippon-Hinyokika-Gakkai-Zasshi*. 1996. Nov.; 87 (11): 1236-42.
- Ozen S, Alikasifoglu M, Saatci U, Bakkaloglu A, Besbas N, Kara N, Kocak H, Erbas B, Unsal I, Tuncbilek E: Implications of certain genetic polymorphisms in scarring in vesicoureteric reflux: importance of ACE polymorphism. *Am J Kidney Dis*. 1999. Jul; 34 (1): 140-145.
- Palmieri P: Obstructive Nephropathy: Pathophysiology, diagnosis, and collaborative management. *Nephrol Nurs J*; Feb. 2002; 29 (1): 15-23.
- Park HW, Koo JW, Kim JS, Ha IS, Cheong HI, Choi Y: Association of angiotensin I converting enzyme gene polymorphism with reflux nephropathy in children. *Nephron*. 2000. Sep; 86 (1): 52-55.
- Pedrero Vera J, Arjona García C, Bravo Mancheño B, Barajas de Frutos D: Orientaciones para el diagnóstico precoz y el tratamiento del reflujo vésico-ureteral desde el periodo neonatal. *Rev Esp Pediatr*. 1996, 52: 285-294.

- Pedrero Vera J, Barajas de Frutos D, Bravo Mancheño B: Diagnóstico por la imagen en nefrología pediátrica. En: Protocolos diagnósticos y terapéuticos de la Asociación Española de Pediatría. 2001. Tomo 3. Nefrología. 2001. Pág.: 29-40.
- Pedrero Vera J, Bravo Mancheño B, Barajas de Frutos D, Palomino Urda N, Álvarez Fernández GM: Guía de prevención de las enfermedades renales en y desde la infancia. *An Esp Pediatr.* 1993; 38: 439-446.
- Pedrero Vera J, Fuentes Punzano M, Barajas de Frutos D, Bravo Mancheño B: Actualizaciones en el diagnóstico y tratamiento de la insuficiencia renal crónica durante la infancia y la adolescencia. *Rev Esp Pediatr.* 2000. 56(3): 263-278.
- Peláez DJ: Manejo del reflujo vesicoureteral en la infancia. *Bol. Pediatr* 2001. 41: 115-121.
- Peters AM, Jones DH, Evans K, Gordon I: Two routes for <sup>99m</sup>Tc-DMSA uptake into the renal cortical tubular cell. *Eur J Nucl Med.* 1988. 14: 555-561.
- Peters H, Border WA, Noble NA: Targeting TGF-beta overexpression in renal disease: maximizing the antifibrotic action of angiotensin II blockade. *Kidney-Int.* 1998 Nov, 54 (5): 1570-80.
- Peters H, Noble NA, Border WA: Transforming growth factor-beta in human glomerular injury. *Current Opinion Nephrology Hypertension.* 1997. 6 (4):389-393.
- Peterson A, Evrin E and Berggard I: Differentiation of Glomerular, Tubular and Normal Proteinuria: Determinations of Urinary Excretion of  $\beta_2$  Microglobulin, Albumina and Total Protein. *The Journal of Clinical Investigation.* 1969. 48: 1189-1198.
- Phillips AO, Steadman R, Morrisey K, Williams JD: Polarity of stimulation and secretion of transforming growth factor-beta 1 by cultured proximal tubular cells. *Am-J-Pathol.* 1997. Mar, 150(3). 1101-1111.
- Piepsz A, Tamminen-Möbius T, Reiners C, Heikkilä J, Kivisaari A, Nilsson NR et al. Five year study of medical or surgical treatment in children with severe vesicoureteral reflux dimercapto-succinic acid findings. *Eur J Pediatr* 1998; 157: 753-758.
- Piepsz A: Radionuclide studies in paediatric nephro-urology. *Eur J Radiol* 2002. Aug; 43 (2): 146-153.
- Pircher M: Registro Pediátrico de Insuficiencia Renal Crónica. Asociación Española de Nefrología Pediátrica. *Clin Data Car Spain.* 1997.
- Piscator M. Early detection of tubular dysfunction. *Kidney Int.* 1991; 40 (suppl 34): S15-S17.



- Poncelet AC, Schnaper HW: Regulation of human mesangial cell collagen expression by transforming growth factor-beta1. *Am J Physiol.* 1998. Sep; 275 (3 Pt 2): F458-466.
- Pope J, Brock J, Adams M, Miyazaki Y, Stephens D, Ichikawa I: Congenital anomalies of the kidney and urinary tract role of the loss of function mutation in the pluripotent angiotensin type 2 receptor gene. *J Urol* 2001; 165: 196-202.
- Pulido M: ¿Cómo estructurar una tesis doctoral?. *Archivos de Odonto-Estomatología*, 1987; 3: 1-2.
- Puri P, Cascio S, Lakshmandass G, Colhoun E: Urinary tract infection and renal damage in sibling vesicoureteral reflux. *J-Urol.* 1998. Sep: 160 (3 Pt 2): 1028-1030, discussion 1038.
- Pylkanen J, Wilska J, Koskmer O. The value of level of childhood urinary tract infections in predicting renal injury. *Acta Paediatr Scand* 1981; 70. 879-883.
- Rao WH, Evans GS, Finn A: The significance of interleukin 8 in urine. *Arch Dis Child* 2001. Sep; 85 (3): 256-262.
- Razzaque MS, Shimokawa I, Nazneen A, Liu D, Naito T, Higami Y, Taguchi T: Life-long dietary restriction modulates the expression of collagens and collagen-binding heat shock protein 47 in aged Fischer 344 rat kidney. *Histochem J.* 1999. Feb; 31 (2): 123-132.
- Roberts JA. Vesicoureteral reflux and pyelonephritis in the monkey. A review. *J Urol* 1992;148:1721-1725.
- Rodríguez Soriano J, Vallo A, Ubetagoyena M, Ariceta G: Nefropatía por reflujo. *An Esp Pediatr* 1990; 33 supl. 43: 214-219.
- Roilides E, Papachristou F, Gioulekas E, Tsaparidou S, Karatzas N, Sotiriou J, Tsiouris J: Increased urine interleukin-6 concentrations correlate with pyelonephritic changes on 99mTc-dimercaptosuccinic acid scans in neonates with urinary tract infections. *J Infect Dis* 1999. Sep; 180 (3): 904-907.
- Rosenberg AR, Rossleigh MA, Brydon MP, Bass SJ, Leighton DM, Farnsworth RH. Evaluation of acute urinary tract infection in children by dimercaptosuccinic acid scintigraphy: a prospective study. *J Urol* 1992; 148: 1746-1749.
- Ross JH: Surgical considerations to preserve renal function in children with chronic renal failure. *J Pediatr* 1996; 129: S27-S32.

- Rossleigh MA, Farnsworth RH, Leighton DM, Yong JL, Rose M, Christiann CL: Technetium-99m dimercaptosuccinic acid scintigraphy studies of renal cortical scarring and renal length. *J-Nucl-Med.* 1998. Jul; 39 (7): 1280-1285.
- Ruano-Gil D, Coca-Payears A, Tejedó Mateu A: Obstruction in normal recanalization of the ureter in the human embryo. Its relation to congenital ureteric obstruction. *Eur Urol* 1975; 1: 287-293.
- Rushton HG, Belman AB. Vesicoureteral reflux and renal scarring. En Holliday MA, Barrat TM, Avner ED (eds). *Pediatric Nephrology*, third edition. Williams and Wilkins. Baltimore 1993:963-986.
- Ryuichiro K, Kiyohide S, Shozo O, Atsushi T, Naoki Ch and Seiichi O: Urinary excretion of epidermal growth factor in children with reflux nephropathy. *J-Urol.* 1997. June. Vol.157, 2282-2286.
- Scherz HC; Downs TM, Caesar R: The selective use of dimercaptosuccinic acid renal scans in children with vesicoureteral reflux. *J Urol.* 1994; 46 (suppl 47): S52-S57.
- Schmidt JD, Hawtrey CE, Flocks RH, Culp DA: Vesico-ureteral Reflux. *J. Am.*
- Schwartz GJ, Brion LP, Spitzer A: Uso de la concentración plasmática de creatinina para estudiar el índice de filtración glomerular en lactantes, niños y adolescentes. *Clínicas Pediátricas de Norteamérica (ed. esp.)* 1987; vol. 3: 615-636.
- Sección de Nefrología Pediátrica de la AEP: Actualización del registro años 1988 y 1989. XVII Reunión Nacional de Nefrología Pediátrica. Benalmádena (Málaga). Mayo 1990.
- Smellie JM, Ransley PG, Normand ICS, Prescond N, Edwards D. Development of new renal scars: A collaborative study. *Br Med J* 1985; 290: 1957-1960.
- Sengul S, Zwinzinski C, Simon EE, Kapasi A, Sinhal PC, Batuman V: Endocytosis of light chains induces cytokines through activation of NF-kappaB in human proximal tubule cells. *Kidney Int* 2002. Dec; 62 (6): 1977-1988.
- Shanon A, Feldman W. Methodologic limitations in the literature on vesicoureteral reflux. A critical review. *J Pediatr* 1990; 117: 171-178.
- Sheldon G, Sheps MD, Facc M, Donald MD, Nally JR, Stephen C. Textor MD. *Nuclear Medicine.* 2000.

- Sherman RL, Drayer DE, Leyland-Jones BR, Reidenberg MM. N-Acetyl-glucosaminidase and B2 microglobulin. Their urinary excretion in patients with renal parenchymal disease. *Arch Intern Med* 1983;143:1183-1185.
- Shin GT, Kim SJ, Ma KA, Kim HS, Kim D: ACE inhibitors attenuate expression of renal transforming growth factor-beta 1 in humans. *Am J Kidney Dis.* 2000. Nov; 36 (5): 894-902.
- Smellie JM, Edwards D, Hunter N et al.: Vesicoureteric reflux and renal scarring. *Kidney Int* 1975; 8: S65-S72.
- Smellie JM, Ridgen SPA. Pitfalls in the investigation of children with urinary tract infection. *Arch Dis Child* 1995; 72: 251-258.
- Smellie JM. The intravenous urogram in the detection and evaluation of renal damage following urinary tract infection. *Pediatr Nephrol* 1995; 9: 213-220.
- Soylemezoglu O, Wild G, Dalley AJ, MacNil S, Milford-Ward A, Brown CB, El Hahas AM: Urinary and serum type III collagen: markers of renal fibrosis. *Nephrol Dial Transplant.* 1997.12; 1883-1889.
- Steinhardt George F.: Reflux nephropathy. *J-Urol.* 1985. Vol. 134. Nov.: 855-859.
- Stephens FD and Lenaghan D: The anatomical basis and dynamics of vesicoureteral reflux. *J.Urol.* 1962. (87):669.
- Stokes MB, Holler S, Cui Y, Hudkins KL, Eitner F, Fogo A, Alpers CE: Expression of decorin, biglycan, and collagen type I in human renal fibrosing disease. *Kidney Int.* 2000. Feb; 57 (2): 487-498.
- Stutley J and Gordon I: Vesico-ureteric reflux in the damaged non-scarred kidney. *Pediatr Nephrol* 1992. 6; 25-29.
- Sutaria PM, Ohebshalom M, McCaffrey TA, Vaughan ED J, Felsen D: Transforming growth factor-beta receptor types I and II are expressed in renal tubules and are increased after chronic unilateral ureteral obstruction. *Life-Sci.* 1998; 62 (21): 1965-1972.
- Suzuki K, Uetsuka K, Nakayama H, Doi K: Kinetics of transforming growth factor-beta 1 and extracellular matrix in renal tubulointerstitial lesions of mercuric chloride-treated Brown Norway rats. *Int J Exp Pathol.* 1999. Jun; 80 (3): 125-132.
- Thomas GL, Yang B, Wagner BE, Savill J, El-Nahas-AM.: Cellular apoptosis and proliferation in experimental renal fibrosis. *Nephrol-Dial-Transplant.* 1998. Sep; 13(9): 2216-26.

- Tikhonov I, Rebenok A, Chyzh A: A study of interleukin-8 and defensins in urine and plasma of patients with pyelonephritis and glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant.* (1997) 13; 2557-2561.
- Tobenkin MI: Hereditary vesicoureteral reflux. *Sth .med. J.* 1964. (57): 139.
- Tomlinson P, Smellie JS, Prescod N, Dalton RN, Chantler C.. Differential excretion of urinary proteins in children with vesicoureteric reflux and reflux nephropaty. *Pediatr Nephrol.* 1994. 8: 21-25.
- Tomlinson PA. Low molecular weight proteins in children with renal disease. *Pediatr Nephrol.* 1992. 6: 565-571.
- Torres VE, Velosa JA, Holley KE, Kelalis PP, Stickler GB, Kurtz SB. The progression of vesicoureteral reflux nephropaty. *Ann Intern Med* 1980;92:776-784.
- Valderrábano F, Jones EHP, Mallick NP: Report on management of renal failure in Europe, XXIV; 1993: *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10 (suppl.5): 1-25.
- Van-Gool JK, Hjalmas K, Tamminen-Mobius T, Olbing H: Historical clues to the complex of dysfunctional voiding, urinary tract infection and vesicoureteral reflux. *J Urol* 1992; 148. 1699-1702.
- Van-Goor H, Diamond JR, Ding G, Kaysen G: Alpha macroglobulins and the low-density-lipoprotein-related protein/alpha-2-macroglobulin receptor in experimental renal fibrosis. *Exp-Nephrol.* 1999. Jan-Feb.; 7 (1): 35-43.
- Wada T, Yokoyama H, Tomosugi N et al: Detection of urinary interleukin-8 in glomerular diseases, *Kidney Int* 1994; 46: 455-460.
- Wallin L, Bajc M. Typical technetium dimercaptosuccinic acid distribution patterns in acute pyelonephritis. *Acta Paediatr.* 1993. 82: 1061-1065.
- Walsh, PC, Retnik AB, Vaughan ED, Wein AJ: *Campell's urology.* Philadelphia Saunders Company. 7<sup>a</sup> Ed. 1998. pp: 343-360.
- Wang J, Konda R, Sato H, Sakai K, Ito S, Oridasa S: Clinical significance of urinary interleukin-6 in children with reflux nephropathy. *J Urol.* 2001. Jan; 165 (1): 210-214.
- Warady B, Hébert D, Sullivan E, Alexander S, Tejani A: Renal transplantation, chronic dialysis, and chronic renal insufficiency in children and adolescents. The 1995 annual report of the north America Pediatric Renal Transplant Cooperative study. *Pediatr Nephrol* 1997; 11: 49-64.

- Weber M y Verwiebe R:  $\alpha$ 1-Microglobulin: Features of a Promising Indicator of Proximal Tubular Dysfunction. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.* 1992. Vol. 30: 683-691.
- Weiss R, Tamminen-Möbius T, Koskimies O, Olbing H, Smellie JM, Hirche H y cols: Characteristics at entry of children with severe primary vesicoureteral reflux recruited for a multicenter, international therapeutic trial comparing medical and surgical management. *J Urol* 1992, 148: 1644-1649.
- Williams DI. Síndrome del vientre en ciruela pasa. En: Willams DI, ed. *Nefrourología pediátrica*. Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana S.A. 1976: 272-280.
- Winberg J, Bollgren Y, Källenius G, Möllby R, Svenson SB. Pielonefritis clínica y cicatrización renal focal. *Clínicas Pediátricas de Norteamérica* 1982: vol4; 777-790.
- Winberg J: Commentary: Progressive renal damage from infection with or without reflux. *J Urol* 1992; 148: 1733-1734.
- Winter AL, Hardy BE, Alton DJ, Arbus GS, Churchill BM. Acquired renal scars in children. *J Urol* 1983; 129: 1190-1194.
- Woolf AS: A molecular and genetic view of human renal and urinary tract malformations. *Kidney Int.* 2000. Aug; 58 (2): 500-512.
- Yamate J, Okado A, Kuwamura M, Tsukamoto Y, Ohashi F, Kiso Y, Nakatsuji S, Kotani T, Sakuma S, Lamarre J: Immunohistochemical analysis of macrophages, myofibroblasts, and transforming growth factor-beta localization during rat renal interstitial fibrosis following long-term unilateral ureteral obstruction. *Toxicol-Pathol.* 1998. Nov-Dec.; 26(6). 793-801.
- Zuchelli P, Gaggi R: Reflux nephropathy in adults. *Nephron* 1991; 57: 2-9.