

Niveles de Anticuerpos Antirreceptor de Fosfolipasa A2 en Pacientes con Nefropatía Membranosa y Síndrome Nefrótico

Antibody Levels of M Type Phospholipase A2 Receptor in Patients with Membranous Nephropathy and the Nephrotic Syndrome

Antonio Vilches¹, María Elena Biaiñ¹, Gustavo Laham¹, Carlos Díaz¹, Carolina Carrizo², Roberto Iotti³

RESUMEN

Introducción: La nefropatía membranosa primaria es uno de los fenotipos histológicos e inmunohistoquímicos más frecuentes en los pacientes adultos con síndrome nefrótico. Con la identificación del anticuerpo del receptor tipo M de la fosfolipasa A2 (PLA2R), la detección del Anti-PLA2 en suero cambió el enfoque diagnóstico, el control de la eficacia terapéutica y el seguimiento evolutivo de esta nefropatía. En la mayoría de las series alrededor de un 70% de los pacientes vírgenes de tratamiento con nefropatía membranosa en actividad son positivos para este anticuerpo.

Objetivo: Nuestro objetivo fue determinar el nivel de anticuerpo en los pacientes con nefropatía membranosa y en los pacientes con síndrome nefrótico. **Material y métodos:** Estudio retrospectivo y observacional en donde se evaluaron 101 pacientes (86 nefropatías membranosas confirmadas por biopsia renal y 15 sin diagnóstico anatomopatológico) a quienes se les realizó medición de Anti-PLA2R. Analizamos datos demográficos, de laboratorio (creatinina, albúmina, proteinuria), histopatología renal y tratamientos instaurados. Dividimos a los pacientes con nefropatía membranosa confirmada por biopsia de acuerdo al resultado del Anti-PLA2 en 2 grupos: Positivos a los que presentaban un valor igual o > a 20 U/ml y los negativos (n=56) igual o < a 14 U/ml. Descartamos a

los pacientes con resultado dudoso. **Resultados:** En los pacientes que tenían biopsia renal con patrón de nefropatía membranosa el dosaje de Anti-PLA2R fue positivo en el 29% (n=25) de la muestra total, dudoso en 5,8% (n=5) y negativo en 65,2% (n=56), mientras que solo 1 de los 15 pacientes que cursaban síndrome nefrótico sin diagnóstico anatomopatológico fue positivo para Anti-PLA2. El dosaje de Anti-PLA2R fue positivo en el 47,7% en un subgrupo de pacientes (n=35) que se realizó el dosaje no más de 6 meses posteriores a la biopsia renal. No encontramos diferencias significativas entre los grupos de Anti-PLA2R positivos (n=25) y negativos (n=56) en cuanto a edad, sexo, valor de albúmina, creatinina plasmática y proteinuria. **Conclusiones:** En nuestra muestra obtuvimos bajo porcentaje de positividad para Anti-PLA2R comparado con lo reportado en la literatura. El dosaje de Anti-PLA2R debería ser efectuado al comienzo de un síndrome nefrótico, previo a cualquier tratamiento para determinar la necesidad de biopsia renal o con el resultado de la misma para determinar si se trata de una forma primaria o secundaria y evaluar la respuesta a fármacos o a una conducta de "vigilancia activa".

Palabras Clave: nefropatía membranosa; síndrome nefrótico; dosaje de anti-PLA2R; anticuerpo antifosfolipasa A2; anti-PLA2R

1) Sección Nefrología, Servicio de Medicina Interna, Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas Norberto Quirno (CEMIC), Buenos Aires, Argentina

2) Sección Reumatología, Servicio de Laboratorio, Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas Norberto Quirno (CEMIC), Buenos Aires, Argentina

3) Servicio de Anatomía Patológica, Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas Norberto Quirno (CEMIC), Buenos Aires, Argentina

Correspondencia:
Dra. María Elena Biaiñ
ORCID: 0000-0003-0679-3550
mariaelenabiain@gmail.com

Financiamiento:
Ninguno.

Conflicto de intereses:
Ninguno que declarar.

Recibido: 14-05-2020
Corregido: 2-06-2020
Aceptación: 28-07-2020

ABSTRACT

Introduction: Primary membranous nephropathy is one of the most frequent histological and immunohistochemical phenotypes in adult patients with nephrotic syndrome. With the identification of the M-type phospholipase A2 receptor (PLA2R), detection of serum anti-PLA2 has changed the diagnostic approach, the control of therapeutic efficacy and the evolution follow-up of this nephropathy. In most series, about 70% of MN treatment-naive patients test positive for this antibody. **Objective:** Our aim is to ascertain antibody level in MN patients and in nephrotic syndrome patients. **Methods:** In this retrospective observational study, 101 patients were evaluated (86 cases of MN diagnosed by renal biopsy and 15 with no pathologic diagnosis). They underwent the anti-PLA2R test. Demographic data, lab results (creatinine, albumin, proteinuria), renal histopathology and treatments administered were analyzed. We split MN patients diagnosed by renal biopsy into two groups according to anti-PLA2R results: Positive (those having values ≥ 20 U/mL) and Negative ([n=56] values ≤ 14 U/mL). Patients with equivocal results were not included. **Results:** From the total number of PMN patients diagnosed by renal biopsy, 29% (n=25) were positive for anti-PLA2R; 5.8% (n=5) had equivocal results, and 65.2% (n=56) were negative. Only 1 of the 15 patients suffering from nephrotic syndrome with no pathologic diagnosis was positive for anti-PLA2R. Anti-PLA2R testing results were positive for 47.7% of patients in a subgroup (n=35) that underwent the test no more than months after renal biopsy. No significant differences were found between the anti-PLA2R positive (n=25) and negative (n=56) groups regarding age, sex, albumin level, plasmatic creatinine and proteinuria. **Conclusions:** In our sample we obtained a low percentage of anti-PLA2R positivity compared to what was reported in the literature. Anti-PLA2R testing should be performed at the beginning of a nephrotic syndrome, prior to any treatment so as to determine the need of a renal biopsy, or with the result of a renal biopsy to determine if it is a primary or secondary form and evaluate the response to drugs or to “active surveillance”.

Keywords: membranous nephropathy; anti phospholipase A 2 antibody; nephrotic syndrome; Anti-PLA2R dosage

INTRODUCCIÓN

La nefropatía membranosa (NM) primaria es el fenotipo histológico e inmunohistoquímico más frecuente en los pacientes adultos no diabéticos que se presentan con un síndrome nefrótico idiopático. Si bien el rango etario de presentación es amplio, tiene una incidencia pico en la quinta y sexta década de la vida, su curso clínico es variable y su pronóstico incierto. Un tercio puede presentar remisión espontánea sin recibir tratamiento alguno, otro tercio persiste estable a lo largo del tiempo, y el tercio restante deteriora la función renal hasta alcanzar el estadio 5 (tasa de filtración glomerular < 15 mil/min/1,73 m²) de la enfermedad renal crónica (ERC) en el lapso de 5 a 15 años.

Su característica distintiva en la microscopía óptica, de la cual deriva el término “membranosa”, es el engrosamiento de la membrana basal glomerular debido a depósitos ubicados entre la lámina rara externa de la membrana basal glomerular y los podocitos y por la expansión de matriz entre estos depósitos inmunes. Las formas primarias o idiopáticas constituyen el 80% de los casos e históricamente no han tenido una etiopatogenia identificable, mientras que las formas secundarias lo son a enfermedades autoinmunes, infecciosas, neoplásicas, o por exposición a fármacos.

Si bien en el modelo experimental, la nefritis de Heymann, la naturaleza del antígeno blanco en los inmunocomplejos formados *in-situ* era bien conocido, la megalina, su caracterización en la NM humana resultó esquivada para los numerosos grupos que la intentaron hasta que Debiec y Ronco⁽¹⁾ identificaron al complejo formado por la endopeptidasa neutra y el aloanticuerpo sintetizado por la madre en casos en los que ésta- por ser genéticamente deficiente en esta proteína- sintetizaba intra-útero anticuerpos dirigidos contra la endopeptidasa neutra fetal, un fenómeno extremadamente infrecuente, induciendo un síndrome nefrótico análogo a la NM experimental.

Este hallazgo marcó el comienzo de una nueva era. Fue así que, en el año 2009, el laboratorio de David Salant en Boston y, en 2014, este mismo grupo, con la participación del grupo de Lambeau en Niza y de Stahl en Hamburgo, lideraron la identificación de dos antígenos, el receptor tipo M de la fosfolipasa A2 (PLA2R),

que representa aproximadamente el 70% de los pacientes con NM y la trombospondina tipo 1 con contenido de 7 A (TH D7A) entre 1-5% de los pacientes.⁽²⁻³⁾ Recientemente, se descubrió otro antígeno proteína tipo 1 del factor de crecimiento epidérmico neural (NELL 1) que también definirá un tipo diferente de NM primaria.⁽⁴⁾

Las descritas anteriormente son glicoproteínas de transmembrana expresadas por el podocito. Se desconocen hasta ahora los factores que gatillan la respuesta inmune. Esta proporción, en especial el 70% vinculable a anti-PLA2R, es bastante constante en los distintos grupos étnicos estudiados que no han recibido tratamiento aún, con la posible excepción de los japoneses⁽⁵⁾ en los que parece estar más cercano al 50%.

Los anticuerpos, en general de la subclase IgG4, son detectables en el suero de los pacientes y reconocen un solo epítipo sensible, exclusivamente en condiciones reductoras, es decir, de captación de electrones.⁽⁶⁾ El antígeno forma parte de los depósitos granulares de la NM, aun en los pacientes seronegativos en los que este sistema antígeno-anticuerpo es responsable, y su presencia puede ser determinada en el tejido obtenido por biopsia renal.

Estos estudios han resultado cruciales para una mejor caracterización de los adultos con un síndrome nefrótico vinculable a un fenotipo membranoso, el énfasis con que debe efectuarse el tamizaje buscando tumores, la probabilidad alta o baja de una remisión espontánea, la respuesta serológica a la terapéutica instituida, la anticipación de una respuesta clínica (descenso de la proteinuria y ascenso de la albúmina sérica) antes de que estos cambios se produzcan, la probabilidad de una recurrencia y de la reaparición de la enfermedad en el trasplante renal. Así entonces el anti-PLA2R constituye un biomarcador simple, disponible comercialmente y de gran utilidad práctica.⁽⁷⁻⁸⁾

Si bien los estudios originales utilizaron técnicas de Western Blot e inmunofluorescencia, más recientemente una determinación, basada en la técnica de ELISA o ensayo inmunoenzimático (Ensayo por Inmunoabsorción Ligado a Enzimas), ha sido aprobada por la Food and Drug Administration (FDA) de los EE.UU. y permite detectar a los pacientes con actividad en quienes los inmunocomplejos PLA2R-Anti-PLA2R participan de su patogénesis. Si bien se

ha señalado que existen pacientes clínicamente en remisión que no tienen anticuerpos circulantes pero que el antígeno sí está presente en el tejido obtenido por biopsia y también, hay pacientes activos, es decir nefróticos, seronegativos que no obstante muestran tinción positiva para el antígeno en la biopsia- tal vez por atrapamiento en el tejido blanco y que más tarde se tornan seropositivos.

Esta prueba de laboratorio es muy específica (> 90%) pero no es tan sensible (70%) para NM. Debe mencionarse que un cierto porcentaje de los pacientes con NM vinculables a hepatitis B, hepatitis C y sarcoidosis son positivos para Anti-PLA2R. No se detectaron anticuerpos en otras glomerulopatías.⁽⁹⁻¹⁰⁾

El objetivo del presente estudio fue analizar la experiencia recogida en un solo Centro de Argentina relativa a algunos aspectos vinculados con el uso clínico del anticuerpo anti-PLA2R, a saber:

1. Determinar los niveles de anti-PLA2R en pacientes con NM en la biopsia renal en diferentes estadios de su evolución.
2. Determinar los niveles de anti-PLA2R en pacientes en proceso de estudio de un síndrome nefrótico previamente a la realización de una biopsia renal.
3. Correlacionar los niveles de anti-PLA2R con variantes del fenotipo histológico, presentación clínica original y la situación clínica en el momento de la determinación.
4. Correlacionar los cambios en los niveles de anticuerpos con la respuesta terapéutica observadas con el tratamiento.
5. Determinar los niveles de anti-PLA2R en pacientes con NM lúpica y otras glomerulopatías.

MATERIAL Y MÉTODOS

Es un estudio observacional, descriptivo, retrospectivo de corte transversal donde se analizaron 169 sueros de pacientes que presentaban NM confirmada por biopsia renal o tenían un síndrome nefrótico en estudio sin biopsia realizada. La determinación de anticuerpos se realizó entre el 1° de julio del 2015 y el 1° de noviembre del 2018. Los pacientes incluidos consultaron en nuestra Institución o fueron derivados de varios hospitales públicos

y privados de Argentina para la realización del dosaje de anti-PLA2R. Obtuvimos datos clínicos en 101 pacientes (59,7%). Se analizaron datos demográficos, de laboratorio, resultados de la histopatología renal, tratamiento recibido y la respuesta al mismo, presencia de recaídas y su evolución. Dividimos a la población de estudio en 2 grupos de acuerdo al valor de anti-PLA2 en positivos y negativos.

Las muestras se procesaron por medio de un equipo de enzima inmunoensayo comercial (ELISA; Euroimmun) de acuerdo a las instrucciones provistas por el fabricante. Los sueros fueron diluidos 1:100 se incubaron 30 min. En micro placas cubiertas con PLA2R junto con los calibradores y controles positivo y negativo. Los anticuerpos se detectaron por la incubación de una anti IgG humana conjugada con peroxidasa de rábano (HRP) que reconoce todas las subclases de IgG. De acuerdo con las especificaciones del fabricante y con las pautas que surgen de la literatura en este tema se consideraron positivas todas las muestras iguales o mayores a 20 U/ml, negativas aquellas con valores < a 14 U/ml y dudosas aquellas con valores entre 15 y 19 U/ml.

Análisis estadístico

Todos los resultados son expresados como media y desviación standard y/o mediana con su rango intercuartílico (percentil 25-75) según corresponda y las variables categóricas como porcentajes. Utilizamos T test o Mann Whitney para comparar variables continuas y Chi cuadrado para las categóricas entre los grupos con anti-PLA2R positivos y negativos. Para analizar la relación entre anti-PLA2R y proteinuria utilizamos correlación bivariada de Pearson. La asociación con $p < 0.05$ fue considerada estadísticamente significativa.

RESULTADOS

La edad media fue 53 años, 62,4% eran de sexo masculino, la creatinina al momento del estudio fue de 1(0.8-1.5) mg/dl, la albúmina sérica fue 2.84 g/dl y la proteinuria de 24 horas fue 4 (3.5-10) g/24 horas (**Tabla 1**). El 38,6% (39/101) fueron asistidos en el Centro de Educación Médica e Investigaciones Clínicas Norberto Quirno (CEMIC), mientras que 61,4% fueron derivados solo para realizar el dosaje de anti-

PLA2R y eran seguidos en otra Institución. La manifestación inicial de la enfermedad se detalla en la (**Tabla 2**). De los 101 pacientes sobre los que dispusimos la información necesaria, 86 tuvieron una biopsia renal compatible con NM y 15 pacientes estaban siendo estudiados por síndrome nefrótico a los cuales se les solicitó el dosaje de anti-PLA2R. (**Diagrama 1**)

Tabla 1. Datos demográficos y de laboratorio

| VARIABLE | n=101 |
|---------------------------|--------------|
| Edad (años) | 53,24 ± 17,5 |
| Sexo masculino (%) | 62,4 |
| Creatinina sérica (mg/dl) | 1 (0,8-1,5) |
| Albúmina sérica (g/dl) | 2,84 ± 0,67 |
| Proteinuria (g/24 horas) | 4 (3,5-10) |

Tabla 2. Fenotipo Inicial de presentación: (n=101)

| Fenotipo Inicial | N (%) |
|--|-----------|
| Síndrome nefrótico | 76 (75,3) |
| Proteinuria nefrótica | 13 (12,8) |
| Proteinuria no nefrótica | 4 (3,9) |
| Síndrome nefrótico en el embarazo | 2 (1,9) |
| Síndrome nefrótico en trasplante renal | 5 (4,9) |
| ERC evaluación pre TX | 1 (1,0) |

De los pacientes que tenían biopsia renal (n=86): 70 pacientes presentaban un fenotipo histológico de NM en la microscopía óptica, con depósitos granulares epimembranosos de IgG (es decir el patrón típico y esperable en las formas idiopáticas o primarias), 6 pacientes mostraron NM con algunas características inmunohistoquímicas atípicas (depósitos mesangiales, depósitos de IgA, C3 y C1q: 6,9%); 5 pacientes tenían NM lúpica y 5 pacientes tenían recidiva de una NM en un trasplante renal. (**Gráfico 1**)

Diagrama 1. Flujo de los pacientes que se realizaron una biopsia y los pacientes que tenían un síndrome nefrótico y se realizaron biopsia en diferido

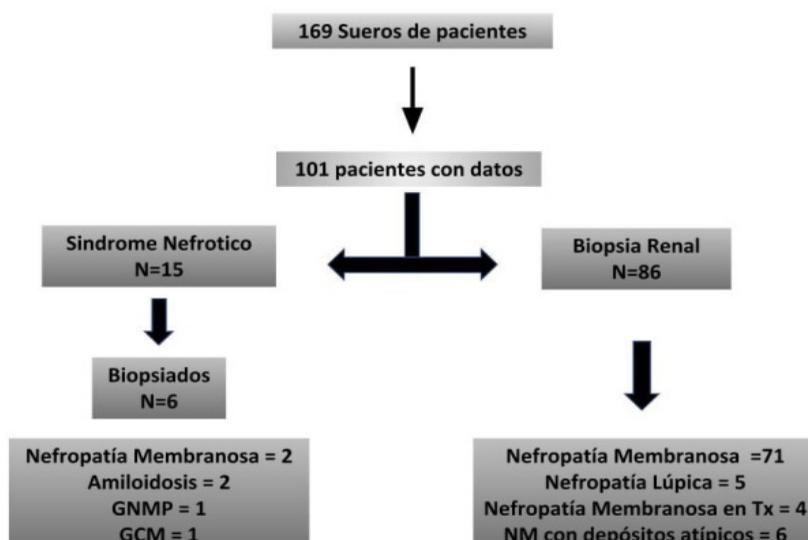
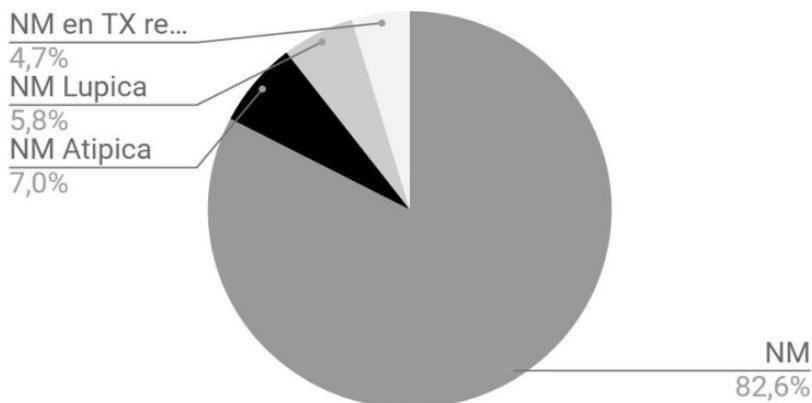


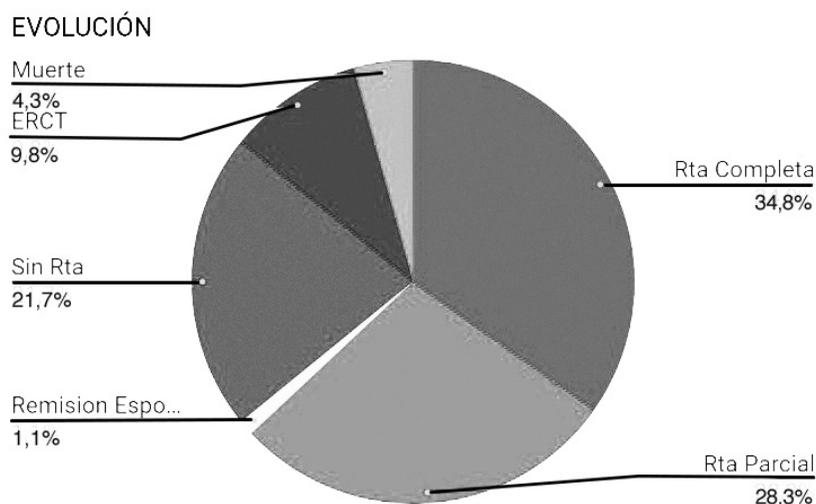
Gráfico 1. Descripción de anatomía patológica, en los pacientes con biopsia renal, con patrón morfológico de NM



Respecto del tratamiento de los pacientes que tenían NM confirmada por biopsia (n=86) el 23,4% (n=20) recibía tratamiento conservador sin haber sido tratado con inmunosupresión; el 38,5% (n=33) había recibido tratamiento con ciclofosfamida y esteroides en meses alternos durante 6 meses, el 16,3% (n=14) recibió un inhibidor de la calcineurina (ciclosporina o tacrolimus), 2,3% (n=2) recibió tratamiento con clorambucilo y esteroides en meses alternos (ambos esquemas propuestos por Ponticelli, conocidos por el epónimo);⁽¹⁵⁾ 5,8% (n=5) esteroides solos; 3,4% (n=3) rituximab, un paciente recibió hormona adrenocorticotropa (ACTH) subcutánea, 3 pacientes recibieron micofenolato mofetil, tacrolimus y esteroides, y 5 pacientes recibieron MMF y esteroides. La evolución luego del primer tratamiento se ilustra en el **Gráfico 2** y en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Primer tratamiento realizado a los pacientes con NM confirmados por biopsia (n=86)

| Tratamiento | N (%) |
|--------------------------------------|------------|
| Tratamiento conservador | 20 (23,4%) |
| Ciclofosfamida/Esteroides | 33 (38,5%) |
| Clorambucilo/Esteroides | 2 (2,3%) |
| Inhibidores de calcineurina (CSA-FK) | 14 (16,3%) |
| Esteroides | 5 (5,8%) |
| Rituximab | 3 (3,4%) |
| MMF/Esteroides | 5 (5,8%) |
| ACTH | 1 (1,1%) |
| Esteroides/MMF/FK | 3 (3,4%) |

Gráfico 2. Evolución luego del primer tratamiento

De esta cohorte de pacientes con NM estudiada 26,7% (n=23) presentaron una recaída en algún momento de su evolución. En cuanto al tratamiento de las recaídas solo obtuvimos datos de 20 pacientes.

(Tabla 4)

Tabla 4. Tratamiento de recaídas (n=20)

| Tratamiento | Pacientes |
|--------------|-----------|
| Rituximab | 9 |
| EST/CFM | 3 |
| Ciclosporina | 5 |
| Tacrolimus | 2 |
| Esteroides | 1 |

El dosaje de anti-PLA2R realizado a nuestra cohorte de 86 pacientes con NM fue procesado en diferentes momentos de la evolución de la enfermedad. La mediana del tiempo entre el primer dosaje de anti-PLA2R y la biopsia fue de 12,1 (2,8-45) meses. El mismo fue positivo en el 29% (n=25), dudoso en 5,8% (n=5) y negativo en 65,2% (n=56). La media y mediana del título de anticuerpos anti-PLA2 fueron de $81,14 \pm 250$ UI/ml y 3 (2-31) UI/ml, respectivamente.

En el grupo de pacientes con síndrome nefrótico en estudio un paciente fue positivo y el resto tuvieron un dosaje negativo (n=14).

Dividimos a los pacientes en 2 grupos de acuerdo al resultado de Anti-PLA considerado positivo o negativo. No encontramos diferencias significativas entre ambos en cuanto a edad, sexo, valor de albúmina, creatinina plasmática y proteinuria (Tabla 5). Tampoco encontramos diferencias en cuanto al fenotipo de inicio de la enfermedad (dato no mostrado). En cuanto a la histología tampoco encontramos diferencias significativas. (Tabla 5)

Seleccionamos un subgrupo de pacientes cuyo primer dosaje de anti-PLA2R fue efectuado dentro de los 6 meses de realizada la biopsia. En este grupo (n=35) observamos que el dosaje fue positivo el 45,7% (n=16) y negativo en 54,3% (n=19). La proteinuria media fue 7,7 y 9 g/24 horas en los positivos y negativos respectivamente con una diferencia no significativa entre ambos grupos.

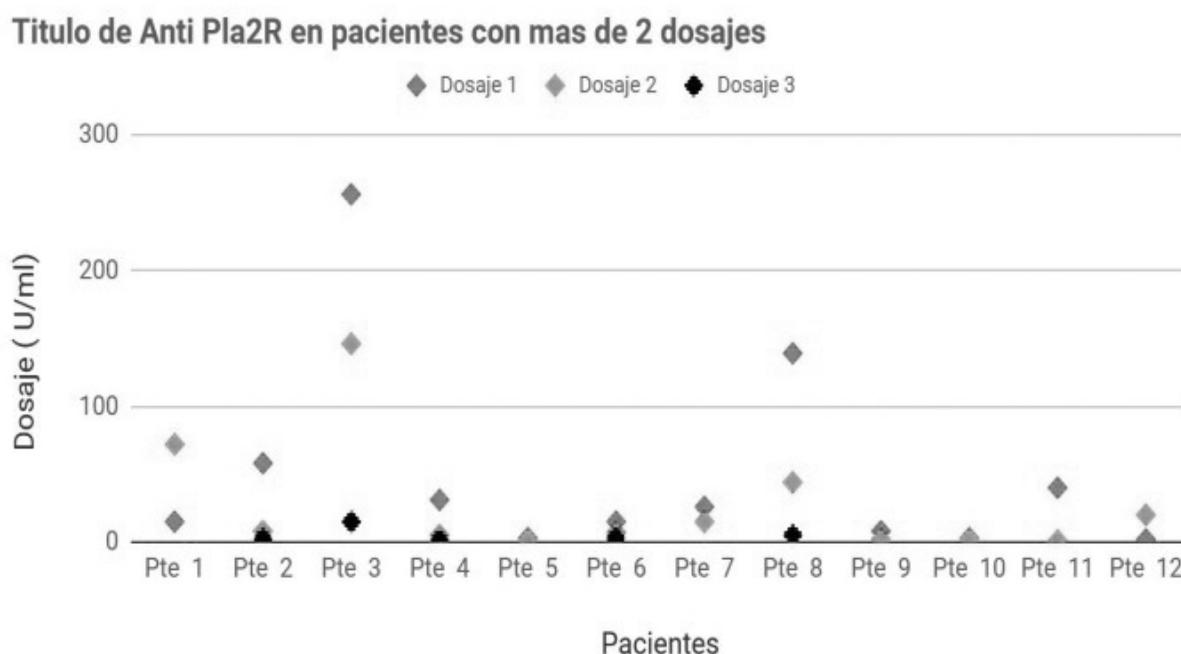
De los 86 pacientes que tenían NM a 12 de ellos se les realizó un segundo dosaje y sólo 5 tuvieron un tercer dosaje. De estos pacientes en 8 se observó un descenso en el título de anticuerpos en respuesta al tratamiento inmunosupresor (n=7) o con tratamiento conservador (n=1). En 2 pacientes el primer dosaje fue negativo y el segundo positivo consecuencia de una recaída con un tiempo medio de 18 meses entre ambos dosajes. En los 2 restantes se mantuvo negativo; eran pacientes en remisión en quienes se les solicitó la determinación como control de su enfermedad. (Gráfico 3)

Tabla 5. Comparación entre pacientes con dosajes de anti-PLA2R considerados negativos y positivos (n=81)

| Variable | Positivo n=25 (30.9%) | Negativo n=56 (69.1%) | P |
|--------------------------------|--------------------------|--------------------------|-------|
| Edad (años) | 54,9 | 50,3 | 0,238 |
| Sexo masculino (%) | 71 | 63,6 | 0,636 |
| Albumina sérica (g/L) | 2,7 | 2,9 | 0,210 |
| Creatinina sérica (mg/dl) | 1 (0,8 -1,7) | 1 (0,8- 1,5) | 0,76 |
| Proteinuria (g/día) | 4 (3,5-10,7) | 3,5 (3,3-8,1) | 0,082 |
| Histología: | | | |
| •NM (%) | 93,5 | 81,8 | 0,117 |
| •NM con depósitos atípicos (%) | 3,2 | 9,1 | |
| •NM lúpica (%) | 0 | 9,1 | |
| •NM en Tx renal (%) | 3,2 | 0 | |

Se descartaron los que presentaban resultado dudoso. Se realizó un Chi cuadrado (no significativo) comparando la histología entre los pacientes que tenían anti-PLA2 positivos y negativos en 81 pacientes (se descartaron 5 porque tenían resultados dudosos). Respecto a la creatinina la misma está puesta en mediana con su rango intercuartil (25-75%).

Gráfico 3. Título de anticuerpos en pacientes con más de dos mediciones



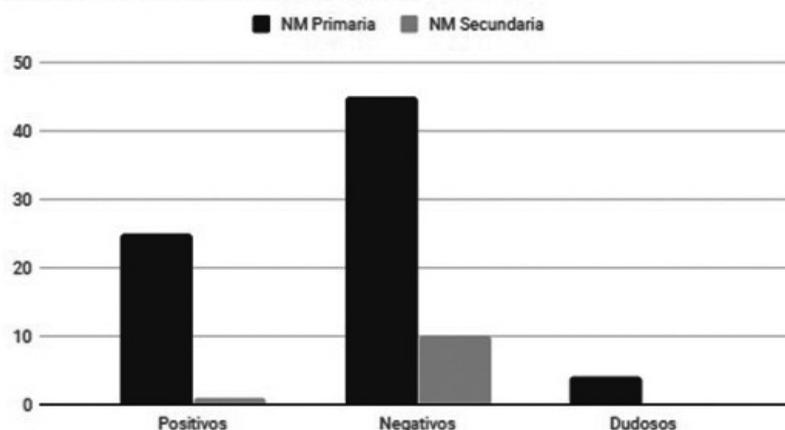
En 8 pacientes se observa descenso del título de anticuerpo en respuesta al tratamiento. En 2 pacientes se observó elevación del título de anticuerpos por presentar recaída de la enfermedad. En dos pacientes se mantuvieron negativos. (Gris Oscuro: 1^{er} dosaje; Gris Claro: 2^{do} dosaje; Negro: 3^{er} dosaje)

Se estudiaron 5 pacientes con trasplante renal que presentaron recidiva de NM en el injerto renal. De estos pacientes, uno tenía dosaje de anti-PLA2R positivo y tres fueron negativos y uno dudoso.

La comparación de los niveles de anti-PLA2R entre las formas de NM “primaria” y “secundaria” se detalla en el **Gráfico 4**.

Gráfico 4. Correlación de formas primarias y secundaria con título de anticuerpos de Anti-PLA

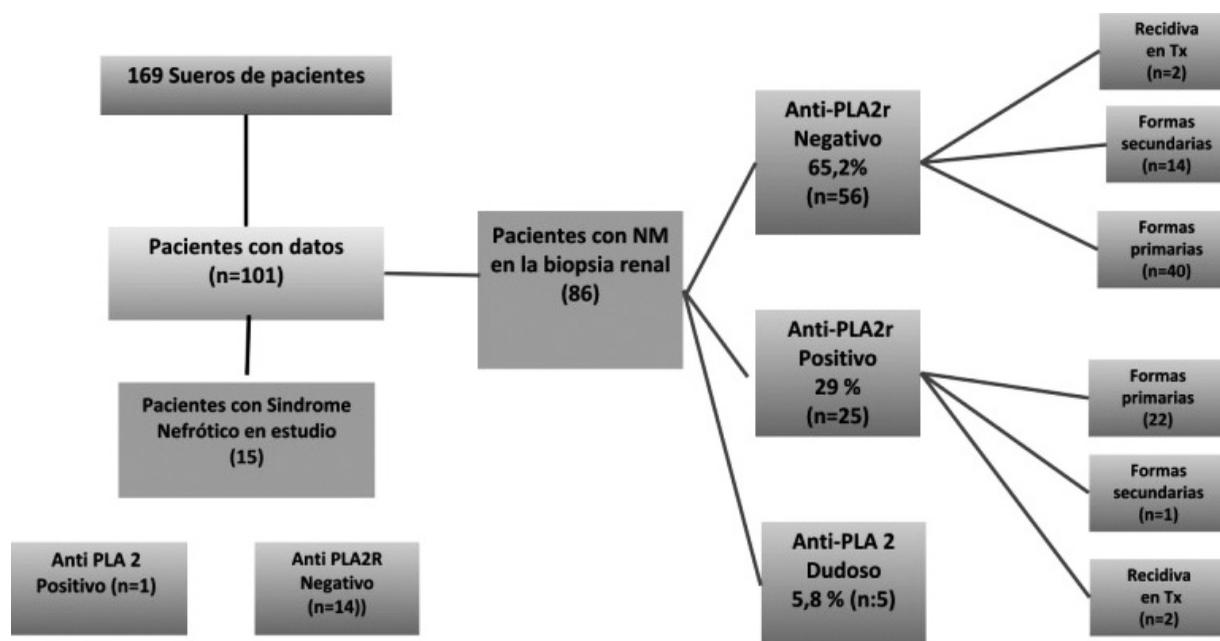
NM Primaria y Secundaria vs Anti PLA2 R



Las distribución de los pacientes, según el dosaje de anti-PLA2R positivo, dudoso o negativo y la

correlación con las formas clínicas de presentación se muestran en el **Diagrama 2**.

Diagrama 2. Distribución de los pacientes según el dosaje de anti-PLA2R positivo, dudoso o negativo y las formas clínicas de presentación.



De los quince pacientes que se encontraban en estudio por síndrome nefrótico solo uno tuvo dosaje positivo para anti-PLA2R. A seis pacientes de este grupo se les realizó biopsia renal en diferido, ósea luego de obtener el dosaje de Anti-

PLA2. De los seis pacientes que se les realizó biopsia renal: dos tuvieron NM (en una paciente el dosaje fue positivo), dos pacientes presentaron amiloidosis, un paciente glomerulopatía a cambios mínimos y un paciente glomerulonefritis

membranoproliferativa (GN).

El resto de los pacientes del grupo síndrome nefrótico en estudio, 9 pacientes, continuaban bajo seguimiento nefrológico, 4 de los cuales tenían diabetes y recibían tratamiento con inhibidores de la enzima de conversión (IECA) o bloqueantes de la angiotensina II (ARA II).

Si cambiamos el valor de corte del título de anti-PLA2 positivo > 2 U/ml y negativo < 2 U/ml como lo plantean algunos autores. Observamos que fueron positivos 53 pacientes (61,6%) y negativos 33 pacientes (38,3%).

DISCUSIÓN

Se realizó un análisis retrospectivo de corte horizontal de pacientes con NM y de pacientes en estudio de síndrome nefrótico realizado desde que implementamos el método de ELISA para determinación de anticuerpos anti-PLA2R en CEMIC en julio del 2015.

El dosaje de anticuerpos se efectuó en 169 pacientes pero de éstos tuvimos acceso a datos de historia clínica, laboratorio, anatomía patológica, tratamiento y evolución de 101 pacientes (86 pacientes con biopsia renal con patrón de NM y 15 pacientes sin biopsia renal que cursan un síndrome nefrótico en estudio) y este hecho constituye una importante limitación para el análisis de los datos.

La población estudiada de pacientes con NM fue muy heterogénea ya que el dosaje se realizó en diferentes momentos de su enfermedad, algunos pacientes estaban en remisión clínica y otros cursando una recaída o con el debut de su enfermedad.

Un 38,6% de la muestra eran pacientes en seguimiento en CEMIC. El resto de los pacientes (61,4%) correspondió a pacientes de quienes recibimos las muestras de suero para realizar el dosaje de anti-PLA2R y procedían de varios hospitales públicos y privados de toda Argentina razón por la cual no intervenimos en las indicaciones de tratamiento ni el momento de indicación del dosaje de anticuerpos.

Los resultados muestran menor positividad del anticuerpo que lo reportado en la bibliografía en la población con NM.⁽²⁾ Cuando seleccionamos el grupo de pacientes con dosaje de anti-PLA2R y biopsias dentro de los seis meses el porcentaje de pacientes con dosaje positivo asciende pero no llega a ser cercano al 70% como reporta la bibliografía.

Si tomamos los dosajes de anti-PLA2R > 2 UI/

ml como positivos y de esta forma eliminamos los dosajes “dudosos” y algunos negativos el porcentaje de positividad asciende a 61,6%, como lo muestran Bobart *et al.* al tomar como positivo a un valor $> a$ 2 UI por ELISA.⁽¹¹⁾

Con respecto a la baja positividad obtenida aún en los casos casi con seguridad primarios o idiopáticos interpretamos que los pacientes fueron estudiados tardíamente con respuesta clínica favorable o habiendo comenzado el tratamiento inmunosupresor o en el contexto de una respuesta completa. Es decir que no obtuvimos suero al inicio del cuadro clínico y que a muchos pacientes se les realizó el dosaje habiendo comenzado con tratamiento inmunosupresor o habiendo finalizado el mismo.

Así en aquéllos con sedimento blando, función renal normal, ausencia de diabetes o enfermedades sistémicas o infecciosas o antecedentes sugestivos de una posible neoplasia, un título inequívocamente positivo podría evitar una biopsia renal y permitir decisiones terapéuticas sobre la base exclusiva de la presentación clínica, el grupo etario, el género, negatividad para infecciones o enfermedades autoinmunes y comorbilidades. Esto es especialmente válido cuando la ecuación riesgo/beneficio no es clara. Si el título es positivo pero bajo se puede esperar a una respuesta espontánea.⁽¹²⁾

No observamos diferencias significativas entre pacientes con dosaje de anti-PLA2R positivo y negativo en el valor de proteinuria, albúmina, creatinina, fenotipo inicial y patrón anatomopatológico.

Con respecto a la histología observamos que subgrupo de pacientes tenían un patrón membranoso en la microscopía óptica pero en la inmunofluorescencia tenían depósitos de IgG, IgM, IgA, C3 y C1Q así como también depósitos mesangiales sin tener estigmas de enfermedad sistémica y sin serologías positivas para Lupus Eritematoso Sistémico. En este subgrupo sólo un 16,7% de los pacientes tuvieron un dosaje positivo. Quizá estas formas interpretadas inicialmente “secundarias” hoy día con el dosaje de anti-PLA2R corresponderían a formas “primarias”. El 83,3% tuvo un dosaje de anti-PLA2R negativo y en concordancia con los hallazgos de la inmunohistoquímica probablemente correspondan a formas secundarias.⁽¹³⁾

Los dosajes de Anti-PLA2R realizados en

pacientes con NM lúpica fueron todos negativos al igual que en los pacientes que se biopsian en diferido en el grupo de síndrome nefrótico en estudio y presentaron otras glomerulopatías (amiloidosis, cambios mínimos y GN membranoproliferativa).

En los pacientes que tuvieron dos o más dosajes observamos la negatividad del título de anticuerpos en respuesta al tratamiento inmunosupresor o en el caso de remisión espontánea en un paciente en concordancia con la bibliografía.⁽¹⁴⁾ En este grupo de pacientes todos aquéllos que presentaron una respuesta completa mostraron negatividad del anticuerpo. En dos pacientes se observó ascenso del título de anticuerpo por recaída de la enfermedad. Dos pacientes tuvieron dos mediciones negativas consecutivas, en las dos circunstancias con respuesta completa sostenida. Estos hallazgos relacionan el título de anticuerpos con la actividad de la enfermedad y es de utilidad para predecir respuestas terapéuticas. Así mismo la bibliografía coincide con nuestros hallazgos en que el título es mucho menor en pacientes inactivos o con remisiones parciales, tratados o no.⁽¹⁵⁻¹⁹⁾

En cuanto al tratamiento indicado solo en los pacientes que tenían un seguimiento en CEMIC la decisión terapéutica fue evaluada y discutida por nosotros y se correspondió con guías y pautas internacionalmente aceptadas. En el resto de los pacientes la decisión terapéutica fue tomada por cada nefrólogo y basada en los recursos disponibles según el medio socioeconómico.

No es esta una prueba 100% específica, como lo explicamos anteriormente tiene una especificidad del 90% y una sensibilidad del 70%. Por otra parte en general las que los son es porque su positividad forma parte de los criterios diagnósticos. Es sabido que algunas formas secundarias son positivas tanto en lupus, hepatitis B y sarcoidosis.

Finalmente la interpretación de nuestros resultados y la discusión precedente deben ser vistas a la luz de ciertos fenómenos claves en la cronología de esta enfermedad. La sensibilidad de la prueba depende en alguna medida de la etnicidad de la población, del método de laboratorio usado – Western blot, inmunofluorescencia indirecta, ELISA– pero sobre todo de la biología de esta enfermedad. Existe un retardo entre el depósito de anticuerpos en el tejido renal, la seropositividad y la actividad clínica. En el comienzo de la enfermedad cuando la producción de anticuerpos recién comienza, ya hay cambios estructurales en

el glomérulo, depósitos de inmunoglobulinas y presencia del antígeno PLA2R en la biopsia pero todavía no existe un daño podocitario marcado, consecuentemente no hay proteinuria o es mínima y, muy especialmente, no hay anticuerpos circulantes detectables. Han sido atrapados por el riñón actuando como lo que algunos con el fin de ser gráficos denominan una “pileta de cocina”.⁽²⁰⁾ Por esta razón la detección del antígeno en tejido renal, procedimiento más laborioso y caro, que además demanda disponer de una biopsia es indispensable si se desea conocer con precisión la situación patogénica de un paciente determinado.

A medida que la enfermedad avanza el tejido renal se satura y el paciente se convierte en seropositivo. En el proceso de remisión de la enfermedad se recorre el camino inverso: el título cae pero pueden persistir los depósitos de inmunoglobulinas en el riñón y sobre todo de expresión del PLA2R, que es el último fenómeno en desaparecer: primero cae el título de anticuerpos, después la proteinuria y finalmente desaparecen los depósitos de PLA2R en la biopsia. Es en esta situación donde nosotros consideramos debe usarse el término “remisión completa”, y preferimos utilizar “respuesta completa” cuando la proteinuria y la albúmina se han normalizado.

Como mencionamos anteriormente creemos que, a la luz de la fisiopatología de esta enfermedad, es altamente conveniente el uso adecuado del título de Anti-PLA2R para que contribuya al diagnóstico y la terapéutica. Es decir usar esta prueba de laboratorio con objetivos precisos: para diagnóstico de NM idiopática de modo no invasivo; para excluir formas secundarias de NM; para anticipar respuestas o recaídas y como guía para adoptar decisiones terapéuticas.⁽²¹⁾

CONCLUSIONES

La positividad del título de anti-PLA2R en nuestra población con NM es inferior en al reportado en la literatura. El alto porcentaje de pacientes con títulos negativos probablemente se vincule a inactividad o al tratamiento recibido con citotóxicos.

ANEXO

Síndrome nefrótico: pacientes con proteinuria > 3,5 g/día y que tenían además edemas e hipoalbuminemia definida por albúmina sérica menor a 3,5 g/dl.

Proteinuria nefrótica: pacientes que solo tenían proteinuria > a 3,5 g/día en ausencia de síndrome nefrótico clínico.

Proteinuria no nefrótica: pacientes que tenían valores de proteinuria < 3,5 g/día.

Screening de síndrome nefrótico: pacientes que tenían un síndrome nefrótico y se le realizó dosaje de anti-PLA2R para evaluar la necesidad de biopsia renal.

Enfermedad renal crónica: anomalías en la estructura o función del riñón, por más de tres meses con implicancias para la salud.

Pérdida de seguimiento: pacientes a los que su nefrólogo de cabecera no volvió a ver una vez obtenido el resultado de anti-PLA2R.

Respuesta completa: pacientes con proteinuria < 500 mg/día luego del tratamiento inmunosupresor.

Respuesta parcial: pacientes con proteinuria < 3,5 g/día previamente al tratamiento inmunosupresor y que fue < a 3,5 g/día luego del mismo.

Respuesta espontánea: pacientes con síndrome nefrótico que presentaron valores de proteinuria < 500 mg/día sin haber recibido tratamiento inmunosupresor.

Enfermedad renal crónica terminal (ERCT): pacientes en estadio 5 (tasa de filtración glomerular estimada < 15 ml/min/1,73 m²)

Tratamiento conservador: los pacientes que fueron tratados con inhibidores de la enzima de conversión (IECAs) o antagonistas o bloqueadores del receptor AT1 de la ARA II, o ambos combinados, estatinas y/o aspirina, pero no medicación inmunosupresora.

NM “secundaria”: cuando está relacionado a otras patologías como enfermedades autoinmunes, infecciosas o tumorales.

NM “primaria” o “idiopática”: el diagnóstico se hace por exclusión de causas secundarias.

Agradecimientos: Al Hospital Italiano de Buenos Aires, Hospital El Cruce, Hospital Argerich, Hospital de Clínicas José de San Martín, Hospital Churrua Vizca, Nephrology, Hospital Santojanni, Hospital Fernández y Hospital Durand, que nos derivaron pacientes incorporados al presente estudio.

BIBLIOGRAFÍA

1) Ronco P, Debiec H. Pathophysiological advances in membranous nephropathy: time for a shift in patient's

care. *Lancet*. 2015;385(9981):1983-92. doi: 10.1016/S0140-6736(15)60731-0.

- 2) Beck LH Jr, Bonegio RG, Lambeau G, Beck DM, Powell DW, Cummins TD, *et al*. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med*. 2009;361(1):11-21. doi: 10.1056/NEJMoa0810457.
- 3) Tomas NM, Beck LH Jr, Meyer-Schwesinger C, Seitz-Polski B, Ma H, Zahner G, *et al*. Thrombospondin type-1 domain-containing 7A in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med*. 2014;371(24):2277-87. doi: 10.1056/NEJMoa1409354.
- 4) Sethi S, Debiec H, Madden B, Charlesworth MC, Morelle J, Gross LA, *et al*. Neural epidermal growth factor-like 1 protein (NELL-1) associated membranous nephropathy. *Kidney Int*. 2020;97(1):163-74. doi: 10.1016/j.kint.2019.09.014.
- 5) Hihara K, Iyoda M, Tachibana S, Iseri K, Saito T, Yamamoto Y, *et al*. Anti-Phospholipase A2 receptor (PLA2R) antibody and glomerular PLA2R expression in Japanese patients with membranous nephropathy. *PLoS One*. 2016;11(6):e0158154. doi: 10.1371/journal.pone.0158154.
- 6) Beck LH Jr, Salant DJ. Membranous nephropathy: from models to man. *J Clin Invest*. 2014;124(6):2307-14. doi: 10.1172/JCI72270.
- 7) Cravedi P, Abbate M, Gagliardini E, Galbusera M, Buelli S, Sabadini E, *et al*. Membranous nephropathy associated with IgG4-related disease. *Am J Kidney Dis*. 2011;58(2):272-5. doi: 10.1053/j.ajkd.2011.05.002.
- 8) Francis JM, Beck LH Jr, Salant DJ. Membranous nephropathy: a journey from bench to bedside. *Am J Kidney Dis*. 2016;68(1):138-47. doi: 10.1053/j.ajkd.2016.01.030.
- 9) Xie Q, Li Y, Xue J, Xiong Z, Wang L, Sun Z, *et al*. Renal phospholipase A2 receptor in hepatitis B virus-associated membranous nephropathy. *Am J Nephrol*. 2015;41(4-5):345-53. doi: 10.1159/000431331.
- 10) Stehlé T, Audard V, Ronco P, Debiec H. Phospholipase A2 receptor and sarcoidosis-associated membranous nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2015;30(6):1047-50. doi: 10.1093/ndt/gfv080.
- 11) Bobart SA, De Vriese AS, Pawar AS, Zand L, Sethi S, Giesen C, *et al*. Noninvasive diagnosis of primary membranous nephropathy using phospholipase A2 receptor antibodies. *Kidney Int*. 2019;95(2):429-38. doi: 10.1016/j.kint.2018.10.021.
- 12) Hofstra JM, Debiec H, Short CD, Pellé T, Kleta R, Mathieson PW, *et al*. Antiphospholipase A2 receptor antibody titer and subclass in idiopathic membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2012;23(10):1735-43.

- doi: 10.1681/ASN.2012030242.
- 13) Jiang Z, Cai M, Dong B, Yan Y, Yang Y, Wang M, *et al.* Clinicopathological features of atypical membranous nephropathy with unknown etiology in adult chinese patients. *Medicine (Baltimore)*. 2018;97(32):e11608. doi: 10.1097/MD.00000000000011608
 - 14) Díaz M, Agraz I, Soler MJ. Anti-phospholipase A2 receptor antibody and spontaneous remission in membranous nephropathy. *Clin Kidney J*. 2019;12(1):33-5. doi: 10.1093/ckj/sfy079.
 - 15) Fervenza FC, Appel GB, Barbour SJ, Rovin BH, Lafayette RA, Aslam N, *et al.* Rituximab or cyclosporine in the treatment of membranous nephropathy. *N Engl J Med*. 2019;381(1):36-46. doi: 10.1056/NEJMoa181442.
 - 16) Dahan K, Debiec H, Plaisier E, Cachanado M, Rousseau A, Wakselman L, *et al.* Rituximab for severe membranous nephropathy: a 6-month trial with extended follow-up. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28(1):348-58. doi: 10.1681/ASN.2016040449.
 - 17) Wu X, Liu L, Guo Y, Yang L. Clinical value of a serum anti-PLA2R antibody in the diagnosis and monitoring of primary membranous nephropathy in adults. *Int J Nephrol Renovasc Dis*. 2018;11:241-7. doi: 10.2147/IJNRD.S176665.
 - 18) Ruggenenti P, Debiec H, Ruggiero B, Chianca A, Pellé T, Gaspari F, *et al.* Anti-Phospholipase A2 receptor antibody titer predicts post-rituximab outcome of membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26(10):2545-58. doi: 10.1681/ASN.2014070640.
 - 19) Beck LH Jr, Fervenza FC, Beck DM, Bonegio RG, Malik FA, Erickson SB, *et al.* Rituximab-induced depletion of anti-PLA2R autoantibodies predicts response in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22(8):1543-50. doi: 10.1681/ASN.2010111125.
 - 20) Bomback AS. Management of membranous nephropathy in the PLA2R era. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2018;13(5):784-86. doi: 10.2215/CJN.12461117.
 - 21) García-Vives E, Solé C, Moliné T, Alvarez-Ríos AM, Vidal M, Agraz I, *et al.* Antibodies to M-type phospholipase A2 receptor (PLA2R) in membranous lupus nephritis. *Lupus*. 2019;28(3):396-405. doi: 10.1177/0961203319828521.