

# Prevalencia, valor diagnóstico y características clínicas asociadas a la presencia de niveles circulantes y depósitos renales de anticuerpos contra el receptor tipo M de la fosfolipasa A2 en nefropatía membranosa idiopática

Alfonso Segarra-Medrano<sup>1</sup>, Elías Jatem-Escalante<sup>2</sup>, M. Teresa Quiles-Pérez<sup>3</sup>, M. Teresa Salcedo<sup>4</sup>, M. Antonia Arbós-Via<sup>3</sup>, Helena Ostos<sup>1</sup>, Naiara Valtierra<sup>1</sup>, Clara Carnicer-Cáceres<sup>5</sup>, Irene Agraz-Pamplona<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Servicio de Nefrología. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona

<sup>2</sup> Escuela de Doctorado. Universidad Autónoma de Barcelona

<sup>3</sup> Servicio de Cirugía. Institut de Reserca Vall d'Hebron. Barcelona

<sup>4</sup> Servicio de Anatomía Patológica. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona

<sup>5</sup> Servicio de Bioquímica. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona

Nefrologia 2014;34(2):xx

doi:10.3265/Nefrologia.pre2013.Dec.12291

## RESUMEN

El receptor tipo M de la fosfolipasa A2 (PLA2R) ha sido identificado como uno de los antígenos diana de la respuesta autoinmune en la nefropatía membranosa (NM) idiopática. La prevalencia de anticuerpos anti-PLA2R en enfermos con NM idiopática oscila en torno al 70 %, pero varía en función del área geográfica y hasta la fecha no se ha demostrado que la presencia de anti-PLA2R se asocie a un determinado perfil clínico de presentación de la enfermedad. **Métodos:** Se estudiaron 64 adultos con síndrome nefrótico y diagnóstico de NM confirmado por biopsia renal. Cuarenta y siete pacientes presentaban NM idiopática y 17 NM secundaria. Se determinó la presencia de anticuerpos circulantes anti-PLA2R por inmunofluorescencia indirecta (IFI) y su título mediante ELISA. La presencia de depósitos renales de anticuerpos anti-PLA2R se determinó mediante técnicas de inmunohistoquímica. Se calculó la sensibilidad y especificidad de las técnicas de IFI y ELISA para la identificación de los enfermos con depósitos renales y para la identificación de los enfermos con NM idiopática. Se analizó si había diferencias en el perfil clínico de la enfermedad en el momento del diagnóstico en función de la presencia o no

de anticuerpos anti-PLA2R. **Resultados:** No se observaron diferencias significativas en las variables clínico-demográficas entre enfermos con NM idiopática y secundaria. La prevalencia de depósitos glomerulares de anti-PLA2R por IHQ fue del 76,6 %. Las técnicas de IFI y de ELISA tuvieron una sensibilidad (94,4 % IFI y 97,2 % ELISA) y una especificidad (100 %) similar para la identificación de los enfermos con depósitos renales de anti-PLA2R. La determinación de anti-PLA2R por IFI identificó a los enfermos con NM idiopática con una sensibilidad del 72,3 % y una especificidad del 94,2 %. Un título de anticuerpos > 15 RU/ml medido por ELISA tuvo una sensibilidad del 74,45 % y una especificidad del 94,2 % para la identificación de los enfermos con NM idiopática. Los pacientes con NM idiopática y anti-PLA2R presentaron cifras de proteinuria significativamente mayores (13,25 [P25-P75: 9,05-15,87] frente a 9,43 [P25-P75: 6,30-15] g/día, p: 0,018). No se apreció correlación estadística entre el título de anticuerpos medido por ELISA con la edad, el filtrado glomerular, la albuminemia y la proteinuria en 24 horas. **Conclusiones:** Las técnicas empleadas para la determinación de anti-PLA2R en pacientes con NM presentan alta especificidad para el diagnóstico de formas idiopáticas de la enfermedad glomerular. La frecuencia con la que se identifican pacientes con NM y anti-PLA2R es parecida a la descrita en estudios previos. La tinción por inmunohistoquímica es el método más sensible para la detección de casos de NM asociados a presencia de anticuerpos anti-PLA2R. Las técni-

**Correspondencia:** Elías Jatem Escalante

Escuela de Doctorado.

Universidad Autónoma de Barcelona. Idumea. 08035 Barcelona.

jatemelias@gmail.com

eliasjatem@gmail.com

cas de IFI y de ELISA permiten la detección de anticuerpos circulantes anti-PLA2R en la mayor parte de los enfermos con depósitos renales, pero con muy baja frecuencia pueden dar resultados falsamente negativos. La concordancia de estas pruebas es alta. Los enfermos con NM idiopática y depósitos renales de anticuerpos anti-PLA2R tienen mayor proteinuria que los enfermos anti-PLA2R negativos, pero las diferencias tienen escasa relevancia clínica.

**Palabras clave:** Glomerulonefritis membranosa idiopática. Anticuerpos antirreceptor tipo M de la fosfolipasa. Enfermedad glomerular. ELISA. Inmunofluorescencia indirecta.

**Prevalence, diagnostic value and clinical characteristics associated with the presence of circulating levels and renal deposits of antibodies against the M-type phospholipase A2 receptor in idiopathic membranous nephropathy**

#### ABSTRACT

The M-type phospholipase A2 receptor (PLA2R) has been identified as one of the target antigens of the autoimmune response in idiopathic membranous nephropathy (MN). The prevalence of anti-PLA2R antibodies in patients with idiopathic MN is around 70% but this varies in accordance with geographic region, and until present, anti-PLA2R has not been shown to be associated with any particular clinical profile of the disease. **Methods:** We studied 64 adults with nephrotic syndrome who were diagnosed with MN, confirmed by renal biopsy. Forty-seven patients had idiopathic MN and 17 had secondary MN. We determined the presence of circulating anti-PLA2R antibodies by indirect immunofluorescence (IIF) and their titre by ELISA, and we analysed the presence of anti-PLA2R antibody renal deposits by immunohistochemical techniques. We calculated the sensitivity and specificity of the IIF and ELISA techniques for the identification of patients with renal deposits and for the identification of those with idiopathic MN and we tested whether there were differences in the clinical profile of the disease at the time of diagnosis according to the presence or absence of anti-PLA2R antibodies. **Results:** We did not observe significant differences in the clinical-demographic variables between patients with idiopathic and secondary MN. The prevalence of anti-PLA2R glomerular deposits by IHC was 76.6%. The IIF and ELISA techniques had a similar sensitivity (IIF 94.4% and ELISA 97.2%) and specificity (100%) for the identification of patients with anti-PLA2R renal deposits and the detection of circulating anti-PLA2R antibodies. The determination of anti-PLA2R by IIF identified patients with idiopathic MN with a sensitivity of 72.3% and a specificity of 94.2%. A titre of antibodies >15RU/mL measured by ELISA had a sensitivity of 74.45% and a specificity of 94.2% for the identification of patients with idiopathic MN. Patients with idiopathic MN and anti-PLA2R had significantly higher proteinuria figures (13.25 [P25-P75: 9.05-15.87] compared to 9.43 [P25-P75: 6.30-15] g/day, P:.018). No statistical co-

relation was observed between the antibody titre measured by ELISA and age, glomerular filtration rate or 24-hour proteinuria or albuminaemia. **Conclusions:** The techniques employed to determine anti-PLA2R in patients with MN are highly specific for the diagnosis of idiopathic forms of the glomerular disease. The frequency with which patients with MN and anti-PLA2R were identified is similar to that reported in previous studies. Staining by immunohistochemistry is the most sensitive method for detecting cases of MN associated with the presence of anti-PLA2R antibodies. The IIF and ELISA techniques allow circulating anti-PLA2R antibodies to be detected in most patients with renal deposits, but they may very infrequently have false negative results. The concordance of these tests is high. Patients with idiopathic MN and anti-PLA2R antibody renal deposits have higher proteinuria than patients that are anti-PLA2R negative, but the differences have little clinical importance.

**Keywords:** Idiopathic membranous glomerulonephritis. Anti-PLA2R antibodies. Glomerular diseases. ELISA. Indirect immunofluorescence.

#### INTRODUCCIÓN

La nefropatía membranosa (NM) es la primera causa de síndrome nefrótico idiopático en el adulto<sup>1</sup>. Su base fisiopatológica es la formación de depósitos inmunes en el espacio subepitelial, entre la lámina rara externa de la membrana basal glomerular y el podocito<sup>2</sup>. La NM se clasifica en idiopática o secundaria en función de si es o no posible hallar una etiología responsable de ella. En ausencia de una enfermedad sistémica, infecciosa, neoplásica o de exposición a fármacos, distinguir entre ambas formas es con frecuencia complejo y no puede hacerse únicamente con los datos que proporciona la biopsia renal. La mayor parte de la evidencia disponible indica que en las formas idiopáticas los depósitos renales se forman *in situ* tras la fijación del anticuerpo a un antígeno diana propio del podocito<sup>3</sup>, mientras que las formas secundarias se producen o bien como consecuencia del depósito subepitelial de inmunocomplejos circulantes que contienen antígenos extrarrenales o bien como consecuencia de la formación de anticuerpos frente a antígenos extrarrenales que se han fijado a la superficie externa de la membrana basal<sup>4</sup>. Recientemente, se ha identificado el receptor (R) tipo M de la fosfolipasa A2 (PLA2R), presente en la membrana podocitaria, como uno de los antígenos diana de la respuesta autoinmune en la NM idiopática<sup>5</sup> y se ha descrito que los anticuerpos mayormente IgG4 circulantes frente a él (anti-PLA2R) tienen correlación significativa con la actividad clínica de la enfermedad<sup>6</sup> y con la respuesta al tratamiento<sup>7,8</sup>. Por otra parte, mediante técnicas de inmunofluorescencia o de inmunohistoquímica, es posible demostrar la presencia de depósitos renales de anticuerpos anti-PLA2R. La descripción de estos anticuerpos ha generado grandes expectativas en cuanto a su utilidad para identificar subgrupos

de NM idiopática con perfil clínico o pronóstico distinto y en cuanto a la posibilidad de diferenciar entre formas idiopáticas y secundarias. La evidencia disponible indica que la prevalencia de anticuerpos anti-PLA2R en enfermos con NM idiopática oscila alrededor del 70 %<sup>5,9</sup>, pero hasta la fecha no se ha demostrado que la presencia de anti-PLA2R se asocie a un determinado perfil clínico de presentación de la enfermedad. Por otra parte, aunque se ha descrito que estos anticuerpos son altamente específicos de NM idiopática, la frecuencia de detección de posibles etiologías secundarias en enfermos anti-PLA2R positivos descrita en distintos estudios es variable<sup>9-16</sup>. La correlación descrita entre niveles circulantes y evidencia de depósito renal es elevada; sin embargo, se ha observado la presencia de depósitos de anticuerpos anti-PLA2R en enfermos en los que el nivel circulante de anticuerpos es negativo<sup>17,18</sup>. Las diferencias entre estudios podrían deberse a razones étnico-geográficas, pero podrían también estar relacionadas con el tipo de técnica utilizada para la detección (dado que las técnicas de detección empleadas en los estudios publicados han sido distintas y no estandarizadas) y con el hecho de haber o no analizado simultáneamente el nivel de anticuerpos (ac) circulantes y la presencia de depósitos renales.

Los objetivos del presente estudio son:

1. Analizar la prevalencia de enfermos con NM idiopática que presenta niveles elevados de ac anti-PLA2R circulantes mediante técnicas de inmunofluorescencia y ELISA.
2. Analizar la concordancia entre niveles circulantes y depósitos renales de ac anti-PLA2R.
3. Analizar la utilidad de los niveles circulantes y depósitos renales de anti-PLA2R para diferenciar entre formas de NM idiopáticas y secundarias.
4. Analizar si en los pacientes con NM idiopática existe alguna diferencia en el perfil clínico basal en función de la positividad inicial para anti-PLA2R.

## PACIENTES Y MÉTODOS

Se estudió una muestra de 64 pacientes mayores de 18 años, con criterios de síndrome nefrótico y diagnóstico de NM confirmado por biopsia renal. Cuarenta y siete de ellos presentaban NM idiopática y 17 NM secundaria. El diagnóstico de NM se realizó ante la presencia de un patrón morfológico compatible, asociado a la evidencia de depósitos subepiteliales de IgG y C3 en la inmunofluorescencia y en la microscopía electrónica. Tras un estudio protocolizado (que, además de una anamnesis y un examen físico completos, incluía estudios serológicos relacionados con autoinmunidad, serologías virales, ecografía renal y vías urinarias, radiografía de tórax y tomografía tóraco-abdominal en todos los casos, seguidos de estudios endoscópicos en función de los hallazgos encontrados inicialmente), los enfermos en los que no se identificó una etiología responsable fueron clasificados como NM idiopática y los pacientes

en los que se identificó una etiología responsable fueron clasificados como afectados de formas secundarias (uno con adenocarcinoma de colon, uno con adenocarcinoma renal de células claras, tres casos de NM asociada a tiroiditis autoinmune, ocho con nefropatía lúpica tipo V, dos con enfermedad mixta del tejido conectivo y dos secundaria a tratamiento con antiinflamatorios no esteroideos). En el momento del diagnóstico, se realizaron mediciones séricas de colesterol total, creatinina, albúmina, proteinuria de 24 horas, filtrado glomerular estimado mediante la fórmula CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration)<sup>19</sup>, niveles de ac anti-PLA2R por inmunofluorescencia indirecta (IFI) (Anti-Phospholipase A2 receptor IIFT; Euroimmun AG, Lübeck, Alemania)<sup>20</sup> y por ELISA (Euroimmun, Lübeck, Alemania; linealidad: 6-1500 RU/ml; límite inferior de detección 0,6 RU/ml).

Las biopsias renales fueron teñidas con hematoxilina-eosina, PAS-metenammina de plata y tricrómico de Mason para análisis morfológico, y se realizaron estudios de inmunofluorescencia con ac frente a IgA, IgG, IgM, C3, fibrinógeno y cadenas ligeras. Los procedimientos de inmunohistoquímica para la detección de ac anti-PLA2R se realizaron en tejido incluido en parafina tras desparafinización y rehidratación, según el método de avidina-biotina-peroxidasa, usando ac anti-PLA2R (HPA012657 Sigma-Aldrich Co.LLC).

El presente trabajo siguió los parámetros de la Declaración de Helsinki. Todos los pacientes otorgaron consentimiento informado por escrito y el comité de bioética del centro aprobó el estudio.

## Análisis estadístico

Los resultados se expresan como media y desviación típica para variables de distribución normal o la mediana y cuartiles para las de distribución no normal. Las diferencias entre medias de grupos se analizan mediante la prueba t de Student para datos independientes o la prueba U de Mann Whitney. Las diferencias en proporciones se analizan mediante la prueba de  $\chi^2$  o el test exacto de Fisher. Se calculó la sensibilidad y especificidad de la determinación de anti-PLA2R por IFI y de la presencia de depósitos renales de ac anti-PLA2R para el diagnóstico de NM idiopática. Asimismo, mediante curvas ROC, se determinó el título de ac anti-PLA2R medido por ELISA con mayor sensibilidad y especificidad para identificar a los pacientes con depósitos renales de ac anti-PLA2R. Una vez determinado, se calculó la sensibilidad y la especificidad de dicho valor para el diagnóstico de la NM idiopática. Se consideraron estadísticamente significativos todos los valores de  $p < 0,05$ . Se utilizó el programa estadístico SPSS versión 20.0.

En la tabla 1 se resumen las características clínico-demográficas de los pacientes con NM estudiados. No se observaron diferencias significativas en cuanto a sexo, edad, colesterol total, proteinuria, albúmina sérica y filtrado glomerular entre enfermos con NM idiopática y secundaria.

En la figura 1, se presentan imágenes representativas de positividad y negatividad del estudio de IFI para detección de ac anti-PLA2R circulantes y en la figura 2 se presentan imágenes representativas de estudios inmunohistoquímicos con y sin evidencia de depósitos renales de ac anti-PLA2R.

La prevalencia de depósitos renales de ac anti-PLA2R por IHQ fue del 76,6 % en los enfermos con NM idiopática frente al 5,8 % en los enfermos con NM secundaria (p: 0,0001). La IFI tuvo una sensibilidad del 94,4 % y una especificidad del 100 % para la identificación de los enfermos con depósitos renales, y una sensibilidad del 74,4 % y una especificidad del 94,1 % para la identificación de los enfermos con NM idiopática (tabla 2). Por ELISA, la mediana del título de ac en el momento del diagnóstico fue de 42,41 RU/ml (P25-75: 17-90 RU/ml) en los enfermos con NM idiopática y 12 RU/ml (P25-75: 0-13,4 RU/ml) en los enfermos con NM secundaria (p: 0,0026). Los enfermos con NM idiopática y evidencia de depósitos renales de ac anti-PLA2R presentaron un título de ac significativamente superior al de los enfermos con NM idiopática sin depósitos de ac en la biopsia (43,8 RU/ml [P25-75: 16-100 RU/ml] frente a 1,23 RU/ml [P25-75: 0-3,8 RU/ml], p: 0,00014). Mediante curvas ROC, se apreció que, por ELISA, un título de ac anti-PLA2R > 15 RU/ml fue el valor con mayor sensibilidad (94,5 %) y especificidad (100 %) para la identificación de los enfermos con depósitos renales de ac anti-PLA2R, por lo que se tomó este valor como punto de corte para considerar un resultado de ELISA como positivo. Aplicando dicho criterio a la

muestra estudiada, el ELISA tuvo una sensibilidad del 74,4 % y una especificidad del 94,2 % para el diagnóstico de NM idiopática (tabla 2). Solo se encontró evidencia de depósitos renales y niveles de anti-PLA2R detectables por IFI y ELISA en 1 (5,8 %) de los 17 pacientes clasificados como NM secundaria. En dicho paciente, tras realizar las exploraciones protocolizadas para descartar etiologías secundarias, se llegó al diagnóstico de adenocarcinoma renal de células claras. Dos enfermos con depósitos renales de ac anti-PLA2R presentaron estudio negativo por IFI y uno de ellos adicionalmente por ELISA. Ambos, en el momento en que se extrajeron las muestras, presentaban síndrome nefrótico con niveles medios de proteinuria de  $12 \pm 2,6$  g/día. Los títulos de ELISA fueron de 13,2 y 15,4 RU/ml, respectivamente.

En la tabla 3, se resumen las características clínico-demográficas de los pacientes con NM idiopática en función de la presencia o no de ac anti-PLA2R por IHQ. El grupo de enfermos con NM idiopática y ac anti-PLA2R negativos estuvo integrado exclusivamente por varones. Los pacientes con anti-PLA2R positivo presentaron cifras de proteinuria significativamente mayores (13,25 [P25-P75: 9,05-15,87] frente a 9,43 [P25-P75: 6,30-15] g/día, p: 0,018), pero no se observaron diferencias significativas en ninguna de las demás variables estudiadas. No se apreció correlación estadística entre el título de ac medido por ELISA y la edad, la función renal, el nivel de albúmina sérica o la proteinuria en 24 horas.

## DISCUSIÓN

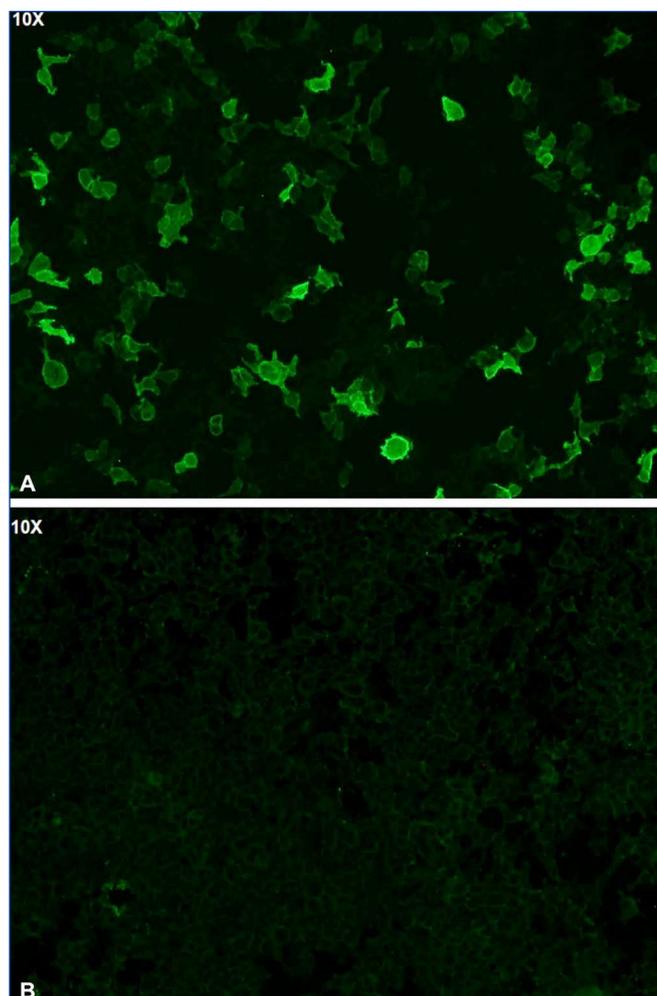
Los resultados de nuestro estudio indican que el 76,6 % de los enfermos con NM idiopática presentan depósitos renales de ac anti-PLA2R detectables por IHQ. La presencia de estos depósitos se asocia a niveles circulantes de ac anti-PLA2R,

**Tabla 1.** Variables clínico-demográficas basales en la muestra

	Idiopática	Secundaria	p
Pacientes (n)	(47)	(17)	
Sexo % (n)			
H	68,1 (32)	52,9 (9)	0,219
M	31,9 (15)	47,1 (8)	
Edad (años)	52,4 ± 15,1	52,2 ± 16,2	0,96
Col tot (mg/dl)	348,02 ± 76,6	348,6 ± 51,2	0,97
Albúmina (mg/dl)	2,3 ± 0,62	2,3 ± 0,29	0,85
Creatinina (mg/dl)	1,1 ± 0,55	1 ± 0,27	0,44
Proteinuria (g/24 h) <sup>a</sup>	12,40 [8,60-15]	8,30 [7,55-11]	0,150
eGFR (ml/min)	97,1 ± 30,8	106,9 ± 18,8	0,22

Col tot: colesterolemia total media; eGFR: filtrado glomerular estimado; H: varones; M: mujeres.

<sup>a</sup> Mediana [P25-P75].



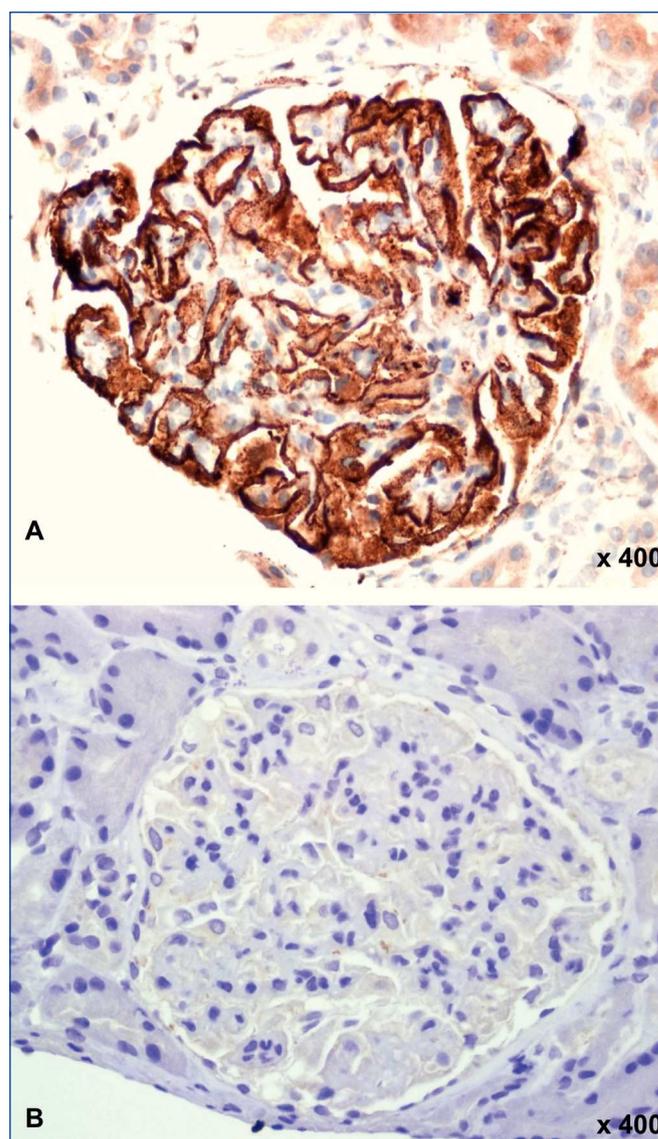
**Figura 1.** Inmunofluorescencia indirecta para anti-PLA2R en suero.

Ejemplos representativos de tinciones de inmunofluorescencia indirecta con resultado positivo: A, y negativo: B, para la detección de anticuerpos anti-PLA2R circulantes (IFI x 10).

cuya presencia se puede demostrar en el 94,4 % de los casos mediante técnicas de IFI y en el 97,2 % de los casos mediante ELISA. La prevalencia de ac circulantes con ambas técnicas es similar a la descrita en estudios previos con técnicas tanto de IFI<sup>20</sup> como de ELISA<sup>21</sup> o de Western Blot<sup>5</sup>.

El primer aspecto de interés en cuanto a las técnicas de detección de ac circulantes anti-PLA2R es su sensibilidad para la identificación de los enfermos en los que hay evidencia de depósitos renales de aquellos A este respecto, en nuestra experiencia, las técnicas de ELISA y de IFI tienen resultados similares. Todos los enfermos con niveles de ac circulantes detectables por una u otra técnica presentaron depósitos renales de anti-PLA2R. Sin embargo, fue posible demostrar la presencia de depósitos renales de ac anti-PLA2R en ausencia de niveles circulantes detectables. Esta evidencia coincide con datos previamente descritos por otros grupos<sup>17,18</sup> y podría

explicarse por una ausencia de paralelismo entre la evolución de los títulos de ac circulantes y la de los depósitos renales de anti-PLA2R. En nuestra experiencia, los enfermos en los que se detectaron depósitos renales, pero no ac circulantes anti-PLA2R, presentaron títulos medidos por ELISA próximos al valor de corte definido para la clasificación de los grupos y, en todos los casos, presentaron criterios indiscutibles de síndrome nefrótico sin diferencias clínicas en relación con los enfermos con niveles circulantes de anti-PLA2R. Dada la gran diferencia en el título de ac entre estos casos y el que se detecta en las formas de NM en las que no hay evidencia de depósitos renales de anti-PLA2R (valores próximos a 0), nuestros datos sugieren que cuando por las técnicas de IFI no



**Figura 2.** Inmunohistoquímica para anti-PLA2R en biopsia renal.

Ejemplos representativos de la presencia (A) y ausencia (B) de depósitos subepiteliales de anticuerpos anti-PLA2R mediante tinción inmunohistoquímica (x 400).

**Tabla 2.** Sensibilidad, especificidad y valores predictivos de cada una de las pruebas para el diagnóstico de nefropatía membranosa idiopática

	Inmunohistoquímica	IFI	ELISA > 15 RU/ml
Sensibilidad	76,6 (63-88)	72,3 (57,3-83)	74,4 (59-85)
Especificidad	94,2 (69-99,6)	94,2 (69-99,6)	94,2 (69-99,6)
VPP	97,3 (84,1-99,8)	97,3 (84,1-99,8)	97,3 (84,1-99,8)
VPN	59,3 (39-76,9)	55,1 (36-73)	57,1 (37-75)

IFI: inmunofluorescencia indirecta; VPP: predictivo positivo; VPN: predictivo negativo.

se detectan niveles circulantes de ac anti-PLA2R, aunque el resultado del ELISA sea también negativo, si los títulos detectados por esta última son próximos a 15 RU/ml, es posible que en la biopsia renal se hallen depósitos subepiteliales de ac anti-PLA2R.

El segundo aspecto de interés en cuanto a las técnicas de detección de ac anti-PLA2R circulantes es su valor clínico para diferenciar entre NM idiopática y secundaria. Las técnicas de IFI, al ser cualitativas, pueden dar lugar a resultados difíciles de interpretar o falsamente negativos a títulos bajos de ac. Las técnicas de ELISA requieren la definición de un punto de corte a partir del cual el resultado obtenido se considera positivo. En nuestra experiencia, el título con mayor sensibilidad y especificidad para la identificación de los enfermos con depósitos renales de ac anti-PLA2R fue de 15 RU/ml, valor ligeramente inferior al punto de corte definido por el laboratorio que desarrolló el sistema de medida. Este valor tuvo una sensibilidad similar a

la de la IFI, por lo que debe concluirse que ambas técnicas son comparables. Las ventajas de una u otra dependerían de algunas de sus características diferenciales. Las técnicas de ELISA permiten la detección de ac circulantes y su cuantificación. Por ello, serían teóricamente aplicables en los casos en los que se pretenda monitorizar la evolución de los títulos en seguimientos prospectivos, aunque su utilidad clínica para este fin todavía no ha sido formalmente analizada. Como contrapartida, las técnicas de ELISA actualmente disponibles tienen un coste elevado, son de procesamiento lento y no pueden aplicarse para el análisis de muestras individuales, mientras que las técnicas de IFI, al permitir el análisis de grupos reducidos de muestras, pueden proporcionar un resultado cualitativo o semicuantitativo en un menor plazo de tiempo.

Tras la identificación de los ac anti-PLA2R como posibles mediadores de la lesión renal en la NM idiopática, se generaron expectativas sobre la posibilidad de que su detec-

**Tabla 3.** Características clínicas y demográficas en función de la presencia de depósitos de anti-PLA2R en enfermos con nefropatía membranosa idiopática

	Positiva	Negativa	p
Pacientes (n)	(37)	(10)	
Sexo % (n)			
H	54 (20)	100 (10)	<b>0,008</b>
M	45,94 (17)	0 (0)	
Edad (años)	51,7 ± 14,8	54,3 ± 16,4	0,61
Col tot (mg/dl) <sup>a</sup>	360 ± 79,7	315 ± 57,8	0,081
Albúmina (mg/dl)	2,3 ± 0,5	2,5 ± 0,7	0,41
Creatinina (mg/dl)	1,01 ± 0,35	1,35 ± 0,86	0,071
Proteinuria (g/24 h)	13,25 [9,05-15,87]	9,43 [6,30-15]	<b>0,018</b>
eGFR (ml/min) <sup>a</sup>	98,2 ± 28,8	94,2 ± 37,3	0,704
HTA % (n)	29,7 (11)	50 (5)	0,23
DM % (n)	8,1 (3)	0 (0)	0,539

Col tot: colesterolemia total media; DM: diabetes mellitus; eGFR: filtrado glomerular estimado; H: varones; HTA: hipertensión arterial; M: mujeres.

<sup>a</sup> Mediana [P25-P75].

ción permitiera excluir el diagnóstico de NM secundaria y especialmente de neoplasias asociadas. Desde su descripción, la mayor parte de los estudios indican que la detección de depósitos renales o de ac circulantes anti-PLA2R es altamente específica de NM idiopática. Sin embargo, entre los diferentes estudios hay ciertas discrepancias en cuanto al porcentaje de enfermos con ac anti-PLA2R positivos en los que se detecta una posible etiología responsable<sup>9</sup>. Hay pocos casos descritos en los que una NM con ac anti-PLA2R se asocia a una enfermedad sistémica o infecciosa<sup>9,11,20</sup>. Nuestros datos coinciden con estudios previos<sup>5,11,13,18</sup> en que la presencia de ac anti-PLA2R tiene una especificidad muy elevada para el diagnóstico de NM idiopática. En nuestra experiencia, en ninguno de los enfermos con NM asociada a enfermedad sistémica o a fármacos pudo demostrarse la presencia de depósitos renales o de niveles circulantes de ac anti-PLA2R, pero uno de los dos enfermos en los que la NM se asoció a neoplasia presentó depósitos renales y niveles circulantes de ac. Por ello, a pesar de que la asociación de ac anti-PLA2R con neoplasia descrita en diferentes estudios es muy baja<sup>9,11</sup> y de que en algunos casos pueda tratarse de asociaciones casuales, hasta que no se disponga de mayor experiencia, no parece prudente dejar de realizar estudios con la finalidad de descartar posibles formas secundarias en los enfermos con NM y evidencia de ac anti-PLA2R. El último de los objetivos planteados en el presente estudio fue analizar si en los enfermos con NM idiopática hay algún tipo de diferencia en el perfil clínico de la enfermedad en función de la presencia o no de ac anti-PLA2R. A este respecto, nuestros resultados coinciden con estudios previos en los que se describe que los enfermos con ac anti-PLA2R positivos presentan un nivel de proteinuria significativamente superior (pero de escasa relevancia clínica), en el momento del diagnóstico, pero no diferencias significativas en ninguna de las demás variables analizadas.

En resumen, nuestros datos indican que, tras el diagnóstico de NM por biopsia renal, la tinción por inmunohistoquímica es la técnica preferible para la localización de los casos que se asocian a presencia de ac anti-PLA2R. Las técnicas de IFI y de ELISA permiten la detección de ac circulantes anti-PLA2R en la mayor parte de los enfermos con depósitos renales, por lo que, como sugieren algunos autores<sup>9</sup>, podría considerarse su utilización como *screening* no invasivo en enfermos con síndrome nefrótico. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que, aunque con escasa frecuencia, pueden dar lugar a resultados falsamente negativos. Cuando se utilizan para la clasificación de los pacientes en formas idiopáticas y secundarias, ambas técnicas dan lugar a resultados comparables. Las técnicas de ELISA tienen el valor adicional de permitir la cuantificación de los títulos de ac de una manera sencilla. Por ello, podrían ser preferibles o complementarias a la IFI si se demuestra relación entre el título de ac y el curso clínico espontáneo de la enfermedad, la respuesta al tratamiento y/o la predicción

de recidivas.

### Conflictos de interés

Los autores declaran que no tienen conflictos de interés potenciales relacionados con los contenidos de este artículo.

### REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Tiebosch AT, Wolters J, Frederik PF, van der Wiel TW, Zeppenfeldt E, van Breda Vriesman PJ. Epidemiology of idiopathic glomerular disease: a prospective study. *Kidney Int* 1987;32(1):112-6.
2. Kerjaschki D. Pathomechanisms and molecular basis of membranous glomerulopathy. *Lancet* 2004;364(9441):1194-6.
3. Debiec H, Ronco P. Fetomaternal alloimmunization with antenatal glomerulopathies. *Ann N Y Acad Sci* 2007;1110:559-66.
4. Glassock RJ. Human idiopathic membranous nephropathy — a mystery solved? *N Engl J Med* 2009;361:81-3.
5. 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.
6. Hofstra JM, Beck LH Jr, Beck DM, Wetzels JF, Salant DJ. Anti-phospholipase A2 receptor antibodies correlate with clinical status in idiopathic membranous nephropathy. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6(6):1286-91.
7. 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.
8. Oh YJ, Yang SH, Kim DK, Kang SW, Kim YS. Autoantibodies against phospholipase A2 receptor in Korean patients with membranous nephropathy. *PLoS One* 2013;8(4):e62151.
9. Hofstra JM, Wetzels JF. Anti-PLA2R antibodies in membranous nephropathy: ready for routine clinical practice? *Neth J Med* 2012;70(3):109-13.
10. Ronco P, Debiec H. Membranous glomerulopathy: the evolving story. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2010;19(3):254-9.
11. Qin W, Beck LH Jr, Zeng C, Chen Z, Li S, Zuo K, et al. Anti-phospholipase A2 receptor antibody in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2011;22(6):1137-43.
12. Ronco P, Debiec H. Advances in membranous nephropathy: success stories of a long journey. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2011;38(7):410-6.
13. Hofstra J, Debiec H, Short C, Pellé T, Kleta R, Mathieson PW, et al. Antiphospholipase A2 receptor antibody titer and subclass in idiopathic membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2012;23:1735-43.
14. Rees A, Kain R. Nephrotic syndrome: a watershed in the understanding of membranous nephropathy. *Nat Rev Nephrol* 2009;5:617-8.
15. Salant DJ. In search of the elusive membranous nephropathy antigen. *Nephron Physiol* 2009;112:p11-2.

16. Ronco P, Debiec H. Antigen identification in membranous nephropathy moves toward targeted monitoring and new therapy. *J Am Soc Nephrol* 2010;21(4):564-9.
17. Debiec H, Ronco P. PLA2R autoantibodies and PLA2R glomerular deposits in membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2011;364(7):689-90.
18. Hoxha E, Zahner G, Velden J, Fechner K, Stege G, Harendza S, Stahl R, Helmchen U. Phospholipase A2 receptor autoantibodies (PLA2R-AB) and increased PLA2R expression in glomeruli discriminate primary from secondary membranous nephropathy (MN) [Abstract]. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22:68A.
19. Levey AS, Stevens SA, Schmid CH, Zhang Y, Castro AF 3rd, Feldman HI, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009;150:604-12.
20. Hoxha E, Harendza S, Zahner G, Panzer U, Steinmetz O, Fechner K, et al. An immunofluorescence test for phospholipase-A2-receptor antibodies and its clinical usefulness in patients with membranous glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26(8):2526-32.
21. Kanigicherla DKA, Brenchley PE, Venning M, Poulton KV, McKenzie EA, Gummadova JO, Short CD. Association of anti-PLA2R with disease activity and outcome in idiopathic membranous nephropathy [Abstract]. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22:33A.