

## La expresión de Yin-Yang-1 (YY-1) y Fas en las biopsias de niños con nefritis lúpica tipo IV se correlaciona con la condición clínica

Rubén Márquez-Marín<sup>a</sup>, Berenice Sánchez Arellano<sup>b</sup>, César González-Bonilla<sup>b</sup>, Eunice Solís Vallejo<sup>a</sup>, José Luis Matamoros-Tapia<sup>a</sup> y Sara Huerta-Yepez<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Reumatología Pediátrica. Centro Médico Nacional Dr. Gaudencio González Garza La Raza. UMAE. México DF. México.

<sup>b</sup>Unidad de Investigación Médica en Inmunología e Infectología. Hospital de Infectología. Centro Médico Nacional La Raza. IMSS. UMAE. México DF. México.

**Antecedentes:** La apoptosis mediada por Fas participa en la fisiopatología de la nefritis lúpica. Debido a que YY-1 regula negativamente el Fas en líneas celulares de cáncer, es razonable considerar que este factor de transcripción pueda controlar la expresión de Fas en la nefritis lúpica. El objetivo es determinar la correlación de la expresión de YY-1 y Fas en biopsias de niños con nefritis lúpica de tipo IV y su asociación con la condición clínica de los pacientes.

**Material y métodos:** Se estudiaron 18 biopsias de niños con nefritis lúpica de tipo IV y 5 controles. La expresión de Fas y YY-1 se determinó mediante inmunohistoquímica y se cuantificó mediante análisis densitométrico.

Se obtuvo información sobre el estado clínico de los pacientes en el momento de la biopsia a partir de los expedientes, y los resultados se analizaron mediante ANOVA de una vía. Se consideró significativo un valor  $p < 0,005$ .

**Resultados:** Los resultados del análisis densitométrico muestran una relación inversa entre la expresión de YY-1 y Fas. Se agrupó YY-1, de acuerdo con la intensidad de su expresión, en baja, moderada y alta para poder compararla con la expresión de Fas. Las biopsias de nefritis lúpica que mostraron alta expresión de YY-1 correspondieron a pacientes con menor número de complicaciones clínicas, mejor desenlace y menor número de alteraciones en la función renal. En contraste, la expresión de YY-1 baja se correlacionó con alta expresión de Fas y peores condiciones clínicas.

**Conclusiones:** En conclusión, el presente estudio indica que YY-1 regula la expresión de Fas en la nefritis lúpica y que se encuentra asociada con el desenlace clínico de los pacientes, si bien son necesarios más estudios para

determinar si puede servir como marcador pronóstico. Hasta donde sabemos, ésta es la primera evidencia de que YY-1 participa en la fisiopatología de la nefritis lúpica.

**Palabras clave:** Nefritis lúpica. Factor de transcripción YY-1. Fas. Apoptosis.

### Ying-Yang (YY-1) expression and Fas in biopsies of children with type IV lupus nephritis correlates with the clinical condition

**Background:** It has been demonstrated that Fas-mediated apoptosis participates in the physiopathology of lupus nephritis, although it is not clear whether it contributes to the development of the tissue damage. Since YY-1 down regulates Fas in cancer cell lines, it is reasonable to consider that this transcription factor may control Fas expression in lupus nephritis. The objective was to determine the correlation between YY-1 and Fas expression in renal biopsies from children with type IV lupus nephritis, and their association with the clinical condition of the patients.

**Material and methods:** Eighteen biopsies from children with type IV lupus nephritis and 5 controls were studied. Fas and YY-1 expression were determined by immunochemistry and quantified by densytometric analysis. The clinical conditions at the moment the biopsy were obtained from the clinical records and the results were analyzed through a one-way ANOVA with  $p < 0.005$ .

**Results:** The results of the densytometric analysis showed an inverse relationship between YY-1 and Fas expression. YY-1 was grouped according to the intensity of expression in low, moderate and high and compared with the expression of Fas. The lupus nephritis biopsies, which revealed high expression of YY-1, corresponded to patients with less number of clinical complications, better outcome and fewer alterations on renal function. In contrast, low expression of YY-1 correlated with high Fas expression and worst clinical conditions.

**Conclusions:** The present study suggests that YY-1 regulates Fas expression in lupus nephritis and that it is

Correspondencia: Dra. S. Huerta Yepez.  
Unidad de Investigación Médica en Inmunología e Infectología.  
Hospital de Infectología, Centro Médico Nacional La Raza. IMSS. UMAE.  
Calzada Vallejo, s/n, esq. Jacarandas. Colonia La Raza.  
02990 Azcapozalco. México DF. México.  
Correo electrónico: shy@correo.unam.mx

Manuscrito recibido el 15-12-2006 y aceptado el 20-3-2007.

associated with the clinical outcome of the patients, although further studies are necessary to determine whether it factor may serve as a prognosis factor. This is the first evidence of YY-1 participation in the physiopathology of lupus nephritis.

**Key words:** Lupus nephritis. Transcription factor YY-1. Fas. Apoptosis.

## Introducción

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad autoinmunitaria, multisistémica, episódica y caracterizada por la inflamación de los vasos sanguíneos y el tejido conectivo, así como presencia de anticuerpos antinucleares (ANA) y anticuerpos anti-ADN. Sus manifestaciones clínicas son extremadamente variables y su curso es progresivo<sup>1</sup>. Una de las manifestaciones comunes y graves es el daño renal (65-85%), pues se asocia con complicaciones que pueden llevar a la muerte sobre todo en pacientes con LES iniciada en la infancia<sup>2</sup>. Se han determinado diversas formas histológicas de nefritis lúpica y la clasificación más frecuente utilizada es la de la OMS, cuya forma más grave es la de tipo IV<sup>3</sup>.

Se ha descrito que diversas enfermedades autoinmunitarias cursan con un incremento de la muerte celular programada (apoptosis). La apoptosis se activa por receptores para el estrés celular y está regulada por moléculas como el Bcl-2/BclL, FLIP e IAP, así como factores extracelulares de supervivencia. Se ha visto la expresión de factores letales como TNF y FasL en el daño glomerular<sup>4</sup>, así como el incremento en la expresión de Fas, Bcl-2, y Bax en la glomerulonefritis proliferativa en humanos<sup>5</sup>. La apoptosis contribuye en la remodelación y recuperación de la estructura del tejido. Algunos modelos experimentales señalan que la apoptosis coexiste con la proliferación celular renal<sup>4</sup>. Por otro lado, se ha propuesto que la apoptosis favorece la resolución del daño glomerular, pero también puede contribuir al progreso de la enfermedad renal y eventualmente al desarrollo de aplasia glomerular hipocelular esclerótica<sup>6</sup>. Se han realizado estudios para determinar la localización histológica de células en apoptosis; Stollar et al<sup>7</sup> reportan la acumulación de células apoptóticas en los folículos germinales de los pacientes con LES. Makino et al<sup>8</sup> realizaron un estudio en 22 pacientes con nefritis lúpica y encontraron un 93% de apoptosis en los pacientes con glomerulonefritis de tipo IV. El porcentaje de apoptosis en el glomérulo se correlacionó significativamente con el valor serológico de la actividad lúpica, de anticuerpos anti-ADN y complemento. En contraste, en otro estudio que evaluó el porcentaje de apoptosis en 25 biopsias de pacientes de nefropatía lúpica de tipo IV y otras glomerulonefritis, se encontró

que los pacientes con nefritis lúpica tenían menor porcentaje de apoptosis, lo cual tuvo correlación negativa con la depuración de creatinina. Los autores concluyeron que la apoptosis se encuentra disminuida en dicha enfermedad y que este mecanismo conduce al daño renal crónico<sup>9</sup>. En un estudio realizado por Kirim et al<sup>10</sup>, se investigó la relación entre el curso clínico y la apoptosis en biopsias renales con nefritis lúpica; encontraron una correlación entre las células nucleares de las biopsias renales y el índice de actividad en la nefritis lúpica. Los autores concluyeron que la apoptosis puede ser un indicador pronóstico en esta nefropatía.

Diversos estudios demuestran la importancia que tiene Fas en la patogenia de la nefritis lúpica. Sin embargo, no se conoce qué factores regulan su expresión durante el desarrollo de esta enfermedad. YY-1 es un factor de transcripción que participa en la regulación positiva y negativa de diversos genes en mamíferos<sup>11</sup>. Se ha demostrado que YY-1 reprime la transcripción del gen Fas uniéndose a la región silenciadora de su promotor. La sobreexpresión de Fas induce la sensibilización de líneas celulares tumorales a la apoptosis mediada por este receptor<sup>12</sup>. No se ha comunicado hasta la fecha la participación de YY-1 en la fisiopatogenia de la nefritis lúpica, por lo que en este trabajo evaluamos si YY-1 puede estar relacionado a la expresión de Fas y, por lo tanto, tiene alguna participación en la patogenia de la nefritis lúpica.

## Material y método

### Muestras

Se obtuvieron 18 biopsias de nefritis lúpica de tipo IV de pacientes pediátricos de 6 a 15 años, varones y mujeres, con diagnóstico de nefritis lúpica corroborado por un patólogo experto en riñón del mismo hospital, que se protocolizó en el servicio de reumatología pediátrica y se archivó en el Servicio de Patología del Hospital CMN La Raza, IMSS. Se incluyeron también 5 biopsias de riñón sin lesión de pacientes pediátricos. El protocolo fue aprobado por el comité de investigación del Hospital General del CMN La Raza (N.º de proyecto R-2006-3502-6, I.P. Dra. Sara Huerta Yopez).

### Inmunohistoquímica

La determinación de Fas y YY-1 se realizó mediante histoquímica. Con la finalidad de disminuir las variaciones entre experimentos, la reacción para cada marcador se realizó en un solo tiempo en todos los grupos. Los cortes se montaron en laminillas cubiertas con silano. Se mantuvieron en una estufa bacteriológica a 62 °C

por 45 min, para desparafinar, con el siguiente procedimiento. Se procedió a hidratar la muestra: 3 baños en xileno, con duración de 8 min cada uno, 2 baños en etanol al 100%, 1 baño en etanol al 90%, 1 baño en etanol al 70% y 1 baño en agua destilada, cada uno de ellos con duración de 5 min.

Se hizo la recuperación de antígeno con citrato de sodio, por 20 min en baño maría en ebullición y se hicieron lavados para eliminar el exceso de citrato. Se eliminó la actividad de la peroxidasa endógena con metanol y peróxido de hidrógeno al 3% por 15 min 2 veces. Se bloqueó la unión no inmunológica de los anticuerpos al tejido sumergiéndolos durante 60 min en suero normal de cerdo al 2%. Posteriormente, las secciones se incubaron toda la noche a temperatura ambiente en cámaras húmedas con los anticuerpos anti-YY-1 (Santa Cruz, CA, Estados Unidos) 1:250 y anti-Fas (Santa Cruz, CA, Estados Unidos) 1:1.000. Después se incubaron con el segundo anticuerpo conjugado a Biotina link (DAKO), con es-

treptavidina conjugada con peroxidasa de rábano (HPR); por último, el color se generó mediante la adición del sustrato DAB (diaminobenzidina) durante 3 min y 30 s; se detuvo la reacción con agua de grifo y se contratiñó con hematoxilina 15 s. Después el tejido se deshidrató con el siguiente esquema: agua destilada, etanol 70%, etanol 90%, etanol 100% y xileno en baños de 5 min cada uno. Finalmente, las preparaciones se cubrieron con resina y se dejaron secar a temperatura ambiente.

### Análisis densitométrico

Las laminillas se analizaron en un microscopio (Olimpus, BX-40), la intensidad de la inmunotinción (color café) se cuantificó en 4 campos elegidos al azar para cada laminilla, utilizando un analizador de imágenes con el programa Imagen-Pro® Plus (Media cybernetics®, Silver Spring, MD, Estados Unidos).

**TABLA 1. Características generales de los pacientes y su curso clínico durante el estudio de la biopsia renal**

Número	Clasificación histopatológica	Edad	Sexo	Evolución al inicio de síntomas (meses)	IRC	Curso clínico	FR
1	IV C	13	M	> 6		Crisis hipertensiva	IRC
2	IV C	14	M	1			Normal
3	IV C	14	M	> 6			Normal
4	IV C	15	M	> 6			Normal
5	IV B	14	M	2	Sí	Síndrome urémico/ varicela	Normal
6	IV C	15	V	3		Choque hipovolémico/ LES hematológico	Normal
7	IV C	14	M	2	Sí	Síndrome urémico, peritonitis, alteraciones metabólicas, hemodiálisis	Normal
8	IV C	14	M	3		Púrpura vascular	Normal
9	IV C	14	M	1		IVU por <i>Staphylococcus</i> coagulasa negativos	Normal
10	IV B	14	V	2			Normal
11	IV C	10	M	> 6			Normal
12	IV C	14	M	> 6			Normal
13	IV C	12	M	2			Normal
14	IV C	13	M	1			Normal
15	IV C	12	M	2		Derrame pericárdico severo	Normal
16	IV C	6	M	4			Normal
17	IV C	12	V	3			Normal
18	IV C	12	M	> 6			Normal

FR: función renal a los 5 años (normalidad, creatinina < 1 y uranálisis y sedimento urinario normales); IRC: insuficiencia renal crónica; IVU: infección de las vías urinarias; LES: lupus eritematoso sistémico; M: mujer; V: varón.

## Análisis estadístico

Se elaboró una base de datos y la información se procesó utilizando el programa de análisis estadístico Prisma® (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA). Los datos se presentaron mediante medias aritméticas de cada grupo y desviación estándar. La evaluación de la diferencia en el número de células positivas y la densidad de expresión de las reacciones inmunohistoquímicas se realizó mediante ANOVA de una vía. Se utilizó el análisis de comparación múltiple de Tukey para identificar las diferencias entre grupos, con significación si  $p \leq 0,05$ .

## Resultados

### Análisis clínico

Se revisaron los expedientes de niños con diagnóstico de LES según los criterios de clasificación del American College of Rheumatology y afección renal, por la que se les realizó biopsia. Se incluyeron 18 biopsias con nefritis lúpica de tipo IV, de acuerdo con la clasificación morfológica de la OMS. En cuanto a la distribución por sexos, 15 (84%) eran mujeres y 3 (16%), varones. La edad promedio fue 12,8 (intervalo, 6-15) años. Las características clínicas se muestran en las tablas 1 y 2. Para fines de la evaluación, nuestra población de estudio fue dividida en dos grupos, de acuerdo con la expresión de YY-1. El grupo 1 incluyó expresión de YY-1 baja a media y el grupo 2, expresión alta. En el grupo 1, que incluyó a 11 pacientes, el 72,7% tuvo hematuria microscópica, el 63,6% presentó proteinuria (1-2 g/24 h), el 45,4% tuvo síndrome nefrótico y el 91% presentó depuración de creatinina  $< 50$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> sc; asimismo el 63,6% de los pacientes presentaron complemento bajo y azoados elevados. Dos pacientes de este grupo llegaron con síndrome urémico que requirió diálisis y en un tercer paciente se desarrolló insuficiencia renal crónica.

Del grupo de YY-1 alto (7 pacientes), el 100% presentó microhematuria, el 42,8% tuvo proteinuria de 1-2 g/24 h, el 57% tuvo depuración de creatinina  $< 50$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup> sc, el 42% tuvo complemento bajo y el 14%, con azoados elevados. Ninguno manifestó insuficiencia renal aguda o síndrome nefrótico.

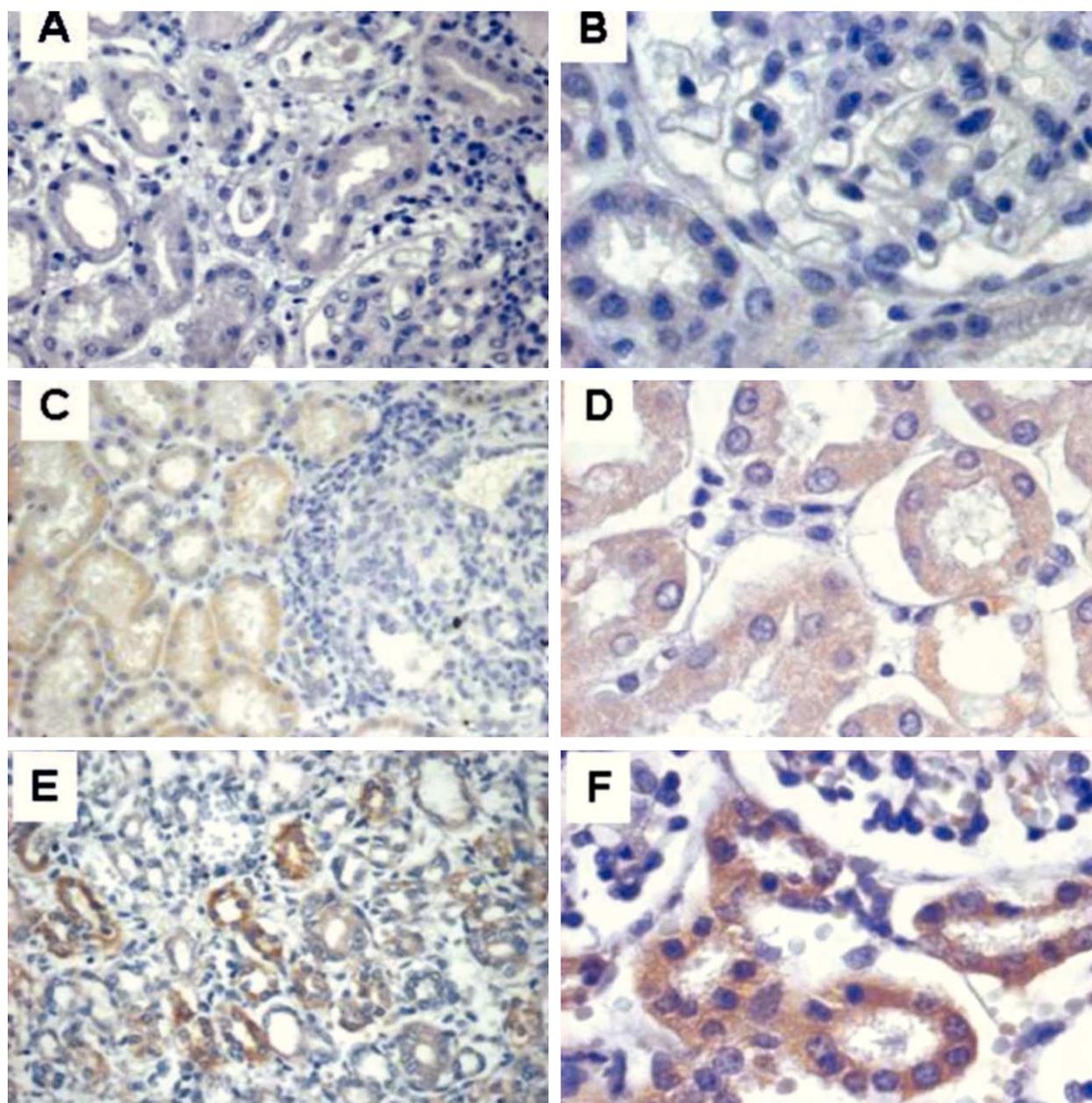
### Hallazgos inmunohistoquímicos

Se encontró expresión de YY-1 (un 80-90% de células positivas) principalmente en los túbulos contorneados proximales y distales, tanto de la médula como en la corteza renal (figs. 1-3). En los controles renales sanos se encontró expresión en los mismos si-

**TABLA 2. Comportamiento clínico de los niños con nefritis lúpica de tipo IV, al momento de tomar la biopsia renal**

Alteraciones de laboratorio	YY-1 bajo-medio (n = 11)	YY-1 alto (n = 7)	Total (n = 18)
Alteraciones del sedimento urinario	11 (100%)	7 (100%)	100%
Microhematuria	8 (72,7%)	7 (100%)	83,3%
Macrohematuria	3 (27,2%)	0	16,6%
Proteinuria $< 1$ g/24 h	1 (9%)	2 (28,5%)	16,6%
Proteinuria 1-2 g/24 h	7 (63,6%)	3 (42,8%)	55,5%
Proteinuria $> 3$ g/24 h	2 (18%)	2 (28,5%)	22,2%
Hipertensión	6 (54,5%)	4 (57,1%)	55,5%
Síndrome nefrótico/nefrítico	5 (45,4%)	0	27,7%
Depuración de creatinina $< 50$ ml/min/1,73 m <sup>2</sup> sc	10 (91%)	4 (57,1%)	77,7%
Anemia	7 (63,6%)	7 (100%)	77,7%
Leucocitopenia	5 (45,4%)	3 (42,8%)	44,4%
Linfocitopenia	6 (54,5%)	4 (57,1%)	55,5%
Trombocitopenia	4 (36,3%)	4 (57,1%)	44,4%
Complemento bajo C3 (80-120), C4 (18-25)	7 (63,6%)	3 (42,8%)	55,5%
Azoados elevados	7 (63,6%)	1 (14%)	44,4%

tios (fig. 1). YY-1 se expresó principalmente en el epitelio tubular distal, con grados variables de intensidad en relación con la proliferación celular, con expresión baja (1-30%), media (31-70%) y alta (71-100%, figs. 2E y 2F). La expresión de esta proteína en los glomérulos fue  $< 30\%$  en relación con la expresión de Fas. En cuanto a la inmunotinción de Fas, se encontró principalmente en los túbulos contorneados proximales y distales tanto de la médula como de la corteza renal (el 90% de células positivas) (figs. 1-3). Los controles renales sanos mostraron expresión en los mismos sitios (fig. 1), aunque claramente menor que en los pacientes con nefritis. Se encontró tinción en la membrana apical y en el citoplasma de las células en los túbulos contorneados proximales (figs. 1D, 3C y 3D). En algunas lesiones, la membrana basal de los túbulos contorneados distales presentó menor intensidad de expresión. En el glomérulo, las lesiones con mayor proliferación celular mostraron tinción positiva para Fas, su distribución fue mayor en las células mesangiales y en las células parietales de la cápsula de Bowman, así como en la matriz mesangial (figs. 1B, 3E, 3F).

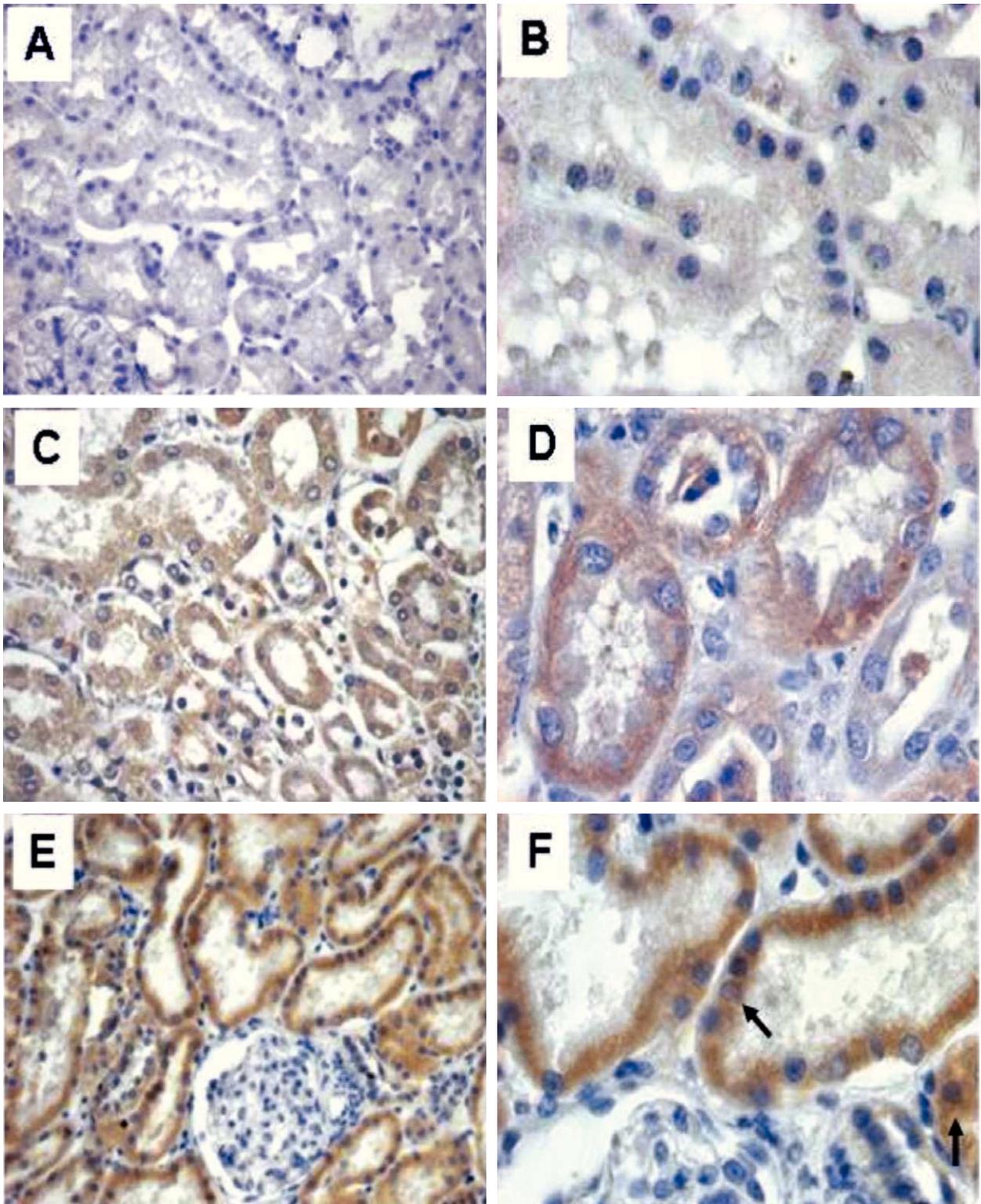


**Figura 1.** Inmunotinción de tejido renal sano. A: control negativo sin anticueros ( $\times 40$ ). B:  $\times 100$ . C: moderada expresión de Fas en los túbulos contorneados proximales y distales ( $\times 40$ ). D: se observa moderada expresión de Fas en el citoplasma y la membrana de los túbulos contorneados proximales ( $\times 100$ ). E: intensa expresión de YY-1 en los túbulos contorneados proximales ( $\times 40$ ). F: a mayor aumento ( $\times 100$ ) se puede apreciar intensa expresión de YY-1 en el citoplasma de los túbulos contorneados proximales.

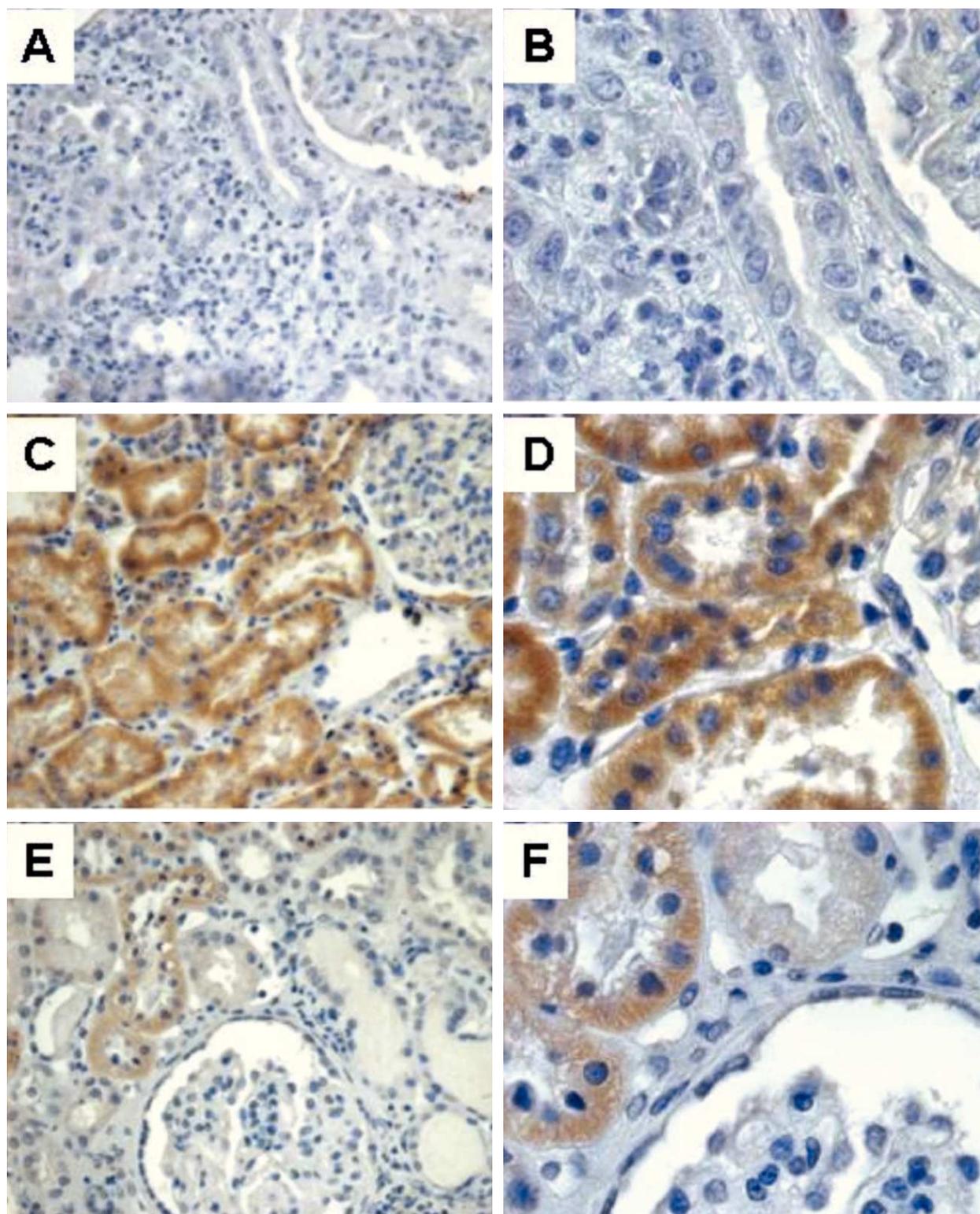
#### Análisis densitométrico de los hallazgos inmunohistoquímicos

El análisis densitométrico de las tinciones para Fas y YY-1 permitió elaborar gráficas de la densidad de expresión, que se procesaron utilizando el programa de análisis estadístico Prisma®. En la figura 4 se muestra

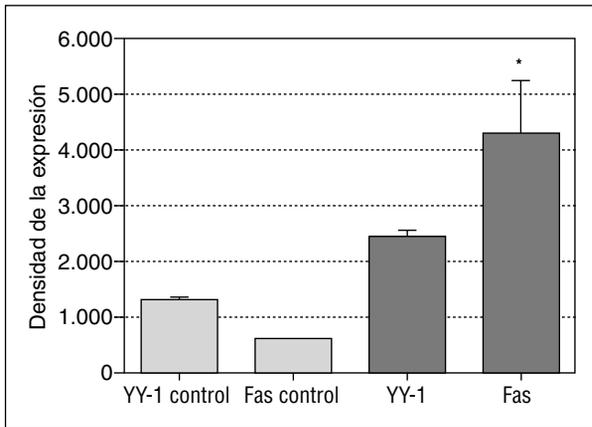
la densidad de la expresión de YY-1 y Fas en los túbulos renales de las muestras con nefritis lúpica y los controles. La densitometría muestra una relación inversamente proporcional entre la expresión de YY-1 y Fas ( $p < 0,037$ ). La expresión de YY-1 y Fas en los glomérulos no revela diferencias significativas (dato no mostrado).



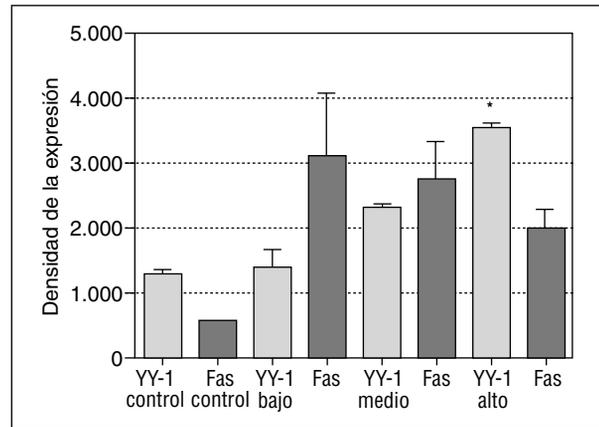
**Figura 2.** Inmunotinción de tejido con nefritis lúpica de tipo IV con baja expresión de Fas y alta expresión de YY-1. A: control negativo ( $\times 40$ ). B:  $\times 100$ . C: moderada expresión de Fas en los túbulos contorneados proximales y distales ( $\times 40$ ). D: se observa moderada expresión de Fas en el citoplasma y la membrana celular de los túbulos contorneados proximales ( $\times 100$ ). E: intensa expresión de YY-1 en los túbulos contorneados proximales y distales, negativo en glomérulo ( $\times 40$ ). F: intensa expresión de YY-1 en el citoplasma de los túbulos contorneados distales; se puede apreciar algunos núcleos positivos (flechas), lo que indica actividad del factor de transcripción; glomérulos negativos ( $\times 100$ ).



**Figura 3.** Inmunotinción de tejido con nefritis lúpica de tipo IV y alta expresión de Fas y baja expresión de YY-1. A: control negativo ( $\times 40$ ). B:  $\times 100$ . C: intensa expresión de Fas en los túbulos contorneados proximales y distales, negativo en glomérulo ( $\times 40$ ). D: el mismo paciente, con intensa expresión de Fas en el citoplasma y la membrana de los túbulos contorneados proximales ( $\times 100$ ). E: baja moderada de YY-1 en túbulos distales ( $\times 40$ ). F: a mayor aumento ( $\times 100$ ) se muestra una baja expresión predominantemente citoplásmica en los túbulos contorneados distales; se observa glomérulos negativos.



**Figura 4.** Densidad de la expresión de YY-1 comparada con Fas en los túbulos de biopsias y controles sanos. Se determinó la densidad de la expresión en 4 campos diferentes de cada laminilla seleccionados al azar, y se obtuvo una media de cada paciente. Las barras representan la media aritmética por grupo y la desviación estándar, donde se observa un aumento significativo de la expresión de Fas inversamente a YY-1 en las biopsias con nefritis lúpica e inversamente proporcional en los controles sanos ( $p < 0,037$ ).



**Figura 5.** La gráfica muestra la presencia de YY-1 cuando se agrupa por densidad de expresión en baja, media y alta respecto a la expresión de Fas (de cada paciente) en los túbulos de las biopsias y los controles sanos. Se determinó la densidad de la expresión en 4 campos diferentes seleccionados al azar de cada laminilla, y se obtuvo una media de cada paciente. Las barras representan la media aritmética por grupo y la desviación estándar. Se observa una distribución inversamente proporcional, cuando se compara la expresión de YY-1 con la de Fas. Nótese en las últimas 2 barras que cuando YY-1 tiene alta expresión la de Fas es baja, algo similar a lo que se observa en los controles ( $p < 0,0003$ ).

En la figura 5 se muestra la densidad de expresión de YY-1 y Fas y se compara la expresión de estas dos proteínas en todos los casos analizados, agrupando YY-1 de acuerdo con la intensidad de la expresión en baja (menos del 30% de células positivas), media (31-70%) y alta (71-100%), y observamos una relación inversa que revela YY-1 alto y Fas bajo (últimas columnas) ( $p < 0,0003$ )

### Discusión

Se sabe que la apoptosis interviene en diversos mecanismos fisiopatológicos en enfermedades autoinmunes<sup>13-16</sup> y que Fas participa en la producción del daño glomerular en LES, pues se ha encontrado su expresión intensa en la nefropatía lúpica<sup>4,17-21</sup>. Por otro lado, se ha descrito que YY-1 regula la transcripción de diversos genes mediante tres vías diferentes, pues reprime, activa, e inicia la transcripción<sup>22,23</sup>. Hay trabajos que muestran la participación de YY-1 en la regulación de genes en líneas celulares tumorales tratadas con óxido nítrico, algunos genes del VIH y ciertos alelos de cromosomas relacionados con LES<sup>12,24-27</sup>.

Estudios recientes muestran que YY-1 regula a la baja la expresión de Fas en un modelo de cáncer de ovario y próstata<sup>26</sup>. Sin embargo, no existen publicaciones sobre la participación de YY-1 en la fisiopatología de nefritis lúpica y si este factor de transcripción regula a la baja la expresión de Fas, proteína central en el daño glomerular. La población estudiada con lupus de inicio en la infancia (18 pacientes) coincide con lo publicado, pues se en-

contró que la nefritis de tipo IV es la predominante en mujeres, con una edad promedio de 13 años, y no afecta a niños menores de 5 años. El diagnóstico de LES se corroboró por la presencia de anticuerpos antinucleares y anti-ADN de doble cadena en el todos los pacientes. El 55% presentó además consumo del complemento. El grupo de YY-1 de baja a moderada expresión presentó un curso clínico desfavorable, con mayores porcentajes de hematuria macroscópica (el 27,7% de los pacientes), síndrome nefrótico (45%), depuración de creatinina baja (91%), mayor consumo de complemento y azoados elevados (63,6%). De éstos, 2 pacientes cursaron con síndrome urémico que requirió diálisis y un tercer paciente concluyó en insuficiencia renal crónica. En contraste, el grupo de YY-1 alto presentó menor frecuencia de estas alteraciones renales (ninguno presentó hematuria macroscópica o síndrome nefrótico, la depuración de creatinina fue en promedio del 57% y hubo azoados elevados en el 14%), y ninguno de este grupo tuvo insuficiencia renal aguda.

Si bien es conocido que Fas se expresa principalmente en los túbulos contorneados, nosotros encontramos expresión de Fas y YY-1 tanto en túbulos como en los glomerulos, sobre todo en las lesiones con mayor grado de proliferación celular, conservando una densidad en la expresión menor para YY-1 y mayor densidad de expresión para Fas en estos sitios. Llama la atención la distribución celular de YY-1 y Fas a nivel tubular en particular en los túbulos contorneados distales en la membrana apical, dato importante para la lesión renal, pues sabemos que ahí hay gran actividad de bombas dependien-

tes de ATPasa en la que actúan algunos factores hormonales como la aldosterona y la vasopresina, así como la regulación del Na y K, que se ven alterados en el proceso inflamatorio. La actividad mitocondrial propia de esta región indica una mayor cantidad de caspasas. En los túbulos contorneados proximales, donde también expresaron tinción en grados variables de intensidad, hubo un mayor porcentaje de células Fas positivas en las lesiones con mayor proliferación celular. Es en este sitio donde corresponde la mayor reabsorción del filtrado glomerular, solutos y solventes y su afección concuerda con la escasa depuración de creatinina, el daño renal agudo y la elevación de azoados.

El análisis densitométrico muestra que la expresión de YY-1 es inversa a la expresión de Fas. Es interesante que, cuando YY-1 se encontró con una densidad elevada, la expresión de Fas fue menor, lo cual se correlacionó con menos complicaciones clínicas, curso favorable de la enfermedad, así como menos alteraciones en la función renal. Es interesante resaltar que la alta expresión de YY-1 fue similar en los pacientes que tuvieron un curso clínico favorable y en los controles sanos. Este hecho indica que YY-1 es importante en el control de la homeostasis en el riñón, lo cual no se había publicado hasta la fecha.

Estos hallazgos señalan que YY-1 regula a la baja la expresión de Fas en este tipo de lesiones y concuerda con los reportes de que se produce esta regulación en algunas células neoplásicas. Lo resultados indican que YY-1 participa en la fisiopatología de la nefritis lúpica, hecho que no se había explorado con anterioridad. Este trabajo requiere un estudio más extenso de YY-1 para valorar su utilidad como factor pronóstico en esta enfermedad.

## Bibliografía

- Cassidy JT, Petty RE. Textbook of pediatric rheumatology. 5.<sup>a</sup> ed. Philadelphia: WB Saunders; 2005.
- Yang LY, Chen WP, Lin CY. Lupus nephritis in children. A review of 167 patients. *Pediatrics*. 1994;94:335-40.
- Orozco Alcalá J. Reumatología en niños. 1.<sup>a</sup> ed. Barcelona: Masson; 2003. p. 69-80.
- Ortiz A. Apoptotic regulatory proteins in renal injury. *Nephrology forum*. *Kidney Int*. 2000;58:467-85.
- Takemura T, Murakami K, Miyazato H, Yagi K, Yoshioka K. Expression of Fas antigen and Bcl-2 in human glomerulonephritis. *Kidney Int*. 1995; 48:1886-92.
- Savill J. Regulation of glomerular cell number by apoptosis [revisión]. *Kidney Int*. 1999;56:1216-22.
- Stollar BD, Stephenson F. Apoptosis and nucleosomes. *Lupus*. 2002;11:787-9.
- Makino H, Sugiyama H, Yamasaki Y, Maeshima Y, Wada J, Kashiara N. Glomerular cell apoptosis in human lupus nephritis. *Virchows Arch*. 2003;443:67-77.
- Wen FS, Xiurong Z, GUO M, Shanyan L. Dysregulation of apoptosis: a possible mechanism leading to chronic progressive renal histological changes in Lupus Nephritis. *Chin Med J*. 2000;113:1082-6.
- Kirim S, Tammer T, Saime P, Gonlusen G. Apoptosis and proliferating cell nuclear antigen in lupus nephritis (class IV) and membranoproliferative glomerulonephritis. *Ren Fail*. 2005, 27(1):107-113.
- Shy Y, Lee JS, Galvain KM. Everything you have ever wanted to know about Yin Yang 1 [revisión]. *Biochim Biophys Acta*. 1997;1332:F49-66.
- Garban HJ, Bonavida B. Nitric oxide inhibits the transcription repressor Yin-Yang 1 binding activity at the silencer region of the Fas promoter: A pivotal role for nitric oxide in the up-regulation of Fas gene expression in human tumor cells. *J Immunol*. 2001;167:75-81.
- Andersen MH, Reker S, Kvistborg P, Becker JC, Straten PT. Spontaneous immunity against Bcl-xL in cancer patients. *J Immunol*. 2005; 175:2709-14.
- Broker LE, Kruyt FA, Giaccone G. Cell death independent of caspases: a review. *Clin Cancer Res*. 2005;11:3155-62.
- Yang E, Korsmeyer SJ. Molecular thanatopsis: a discourse on the BCL2 family and cell death. *Blood*. 1996;88:386-401.
- Yang A, Walker N, Bronson R, Kaghad M, Oosterwegel M, Bonnin J, et al. p73-deficient mice have neurological, pheromonal and inflammatory defects but lack spontaneous tumours. *Nature*. 2000;404:99-103.
- Sugiyama H, Kashiara N, Makino H, Yamasaki Y, Ota Z. Apoptosis in glomerular sclerosis. *Kidney Int*. 1996;49:103-11.
- Papo T, Parizot C, Ortova M, Piette J-C, Frances C, Debre P, et al. Apoptosis and expression of soluble Fas mRNA in systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 1998;7:455-61.
- Badillo-Almaraz I, Daza L, Avalos-Diaz E, Herrera-Esparza R. Glomerular expression of Fas ligand and Bax mRNA in lupus nephritis. *Autoimmunity*. 2001;34:238-9.
- Lorz C, Ortiz A, Justo P, González-Cuadrado S, Duque N, Gómez-Guerrero C, et al. Proapoptotic Fas ligand is expressed by normal kidney tubular epithelium and injured glomeruli. *J Am Soc Nephrol*. 2000;11: 1266-77.
- Tsukinoki T, Sugiyama H, Sunami R, Kobayashi M, Onoda T, Maeshima Y, et al. Mesangial cell Fas ligand: Upregulation in human lupus nephritis and NF-kappaB-mediated expression in cultured human mesangial cells. *Clin Exp Nephrol*. 2004;8:196-205.
- Seto SYE, Chang LS, Shenk T. Transcriptional repression by YY1, a human GLI-Kruppel-related protein, and relief of repression by adenovirus E1A protein. *Cell*. 1991;67:377.
- Flanagan JR, Becker KG, Ennist DL, Gleason SL, Driggers PH, Levi BZ, et al. Cloning of a negative transcription factor that binds to the upstream conserved region of Moloney murine leukemia virus. *Moll Cell Biol*. 1992;12:38.
- Shrivastava A, Calame K. An analysis of genes regulated by the multifunctional transcriptional regulator yin yang-1. *Nucleic Acid Res*. 1994; 22:5151.
- Thomas MJ, Seto E. Unlocking the mechanisms of transcription factor YY-1: are chromatin modifying enzymes the key? *Gene*. 1999;236:197.
- Jazirehi AR, Huerta-Yepez S, Cheng G, Bonavida B. Nitric oxide sensitizes prostate carcinoma cell lines to TRAIL-mediated apoptosis via inactivation of NF-kappa B and inhibition of Bcl-xL expression. *Oncogene*. 2004;23:4993-5003.
- Tsao BP, Cantor RM, Grossman JM, Shen N, Teophilov NT, Wallace DT, et al. PARP alleles within the linked chromosomal region are associated with systemic lupus erythematosus. *J Clin Invest*. 1999;103:1135-40.