



Original breve

MCP-1 en orina como biomarcador de lupus renal en ausencia de citoquinas, interferón- γ y factores de crecimiento

Julia Barbado^a, Luisa Vega^a, Rocío González-Gallego^a, Antonio Jimeno^a, Raúl Ortiz De Lejarazu^b y Jesús F. Bermejo-Martin^{b,*}

^a Unidad de Enfermedades Autoinmunes, Servicio de Medicina Interna, Hospital Clínico Universitario, Valladolid, España

^b Unidad de Investigación en Infección e Inmunidad, Servicio de Microbiología e Inmunología, Hospital Clínico Universitario, IECSCYL, Valladolid, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Historia del artículo:

Recibido el 15 de julio de 2009

Aceptado el 29 de septiembre de 2009

On-line el 8 de junio de 2010

Palabras clave:

Lupus renal

Orina

Mediadores inmunológicos

RESUMEN

Objetivo: Perfilar 17 mediadores inmunológicos en la orina de pacientes con LES.

Introducción: La nefritis lúpica es una enfermedad inflamatoria que afecta al parénquima renal. Citoquinas y quimiocinas son los mediadores inmunes dominantes relacionados con la patogénesis de la enfermedad. La obtención de marcadores de pronóstico no invasivos es un objetivo sumamente deseable para mejorar el manejo clínico de estos pacientes.

Pacientes y métodos: En este estudio nosotros perfilamos 17 mediadores inmunológicos (citoquinas Th1, Th2, Th17, quimiocinas y factores de crecimiento) en la orina de 25 pacientes con lupus y enfermedad renal activa usando un kit Biorad[®] 17-plex en plataforma Luminex[®]. Como grupo control se seleccionaron (n=10) voluntarios sanos con similar edad y sexo que los casos.

Resultados: Los resultados evidenciaron que los únicos mediadores perceptibles en orina eran IL-8, MCP-1 y MIP-1 β . Cuando los niveles de estos mediadores fueron comparados entre los pacientes y los controles, MCP-1 en la orina de los casos fue el único que aumentó de forma significativa ($p < 0,05$) con respecto a los controles. Estos niveles de MCP-1 en orina se correlacionaron de forma positiva con la puntuación de SLEDAI y de forma negativa con los niveles en plasma de la proteína C4 del sistema de complemento.

Conclusiones: Nuestros resultados refuerzan el papel de MCP-1 en orina como biomarcador no invasivo de actividad de enfermedad en el lupus renal, no evidenciando la detección de otros mediadores inmunológicos solubles, como son las citoquinas Th1, Th2, Th17 y factores de crecimiento.

© 2009 Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

MCP-1 in urine as biomarker of renal lupus in absence of cytokines, interferon- γ and growth factors

ABSTRACT

Objective: To characterize 17 immunological markers in the Urine of patients with SLE.

Introduction: Lupus nephritis is an inflammatory disease affecting the renal parenchyma. Cytokines and chemokines are key immune mediators that have been related with the pathogenesis of the disease. Obtaining non invasive prognosis markers is a highly desirable objective in order to improve the clinical management of these patients.

Patients and methods: In this study we profiled 17 immune mediators (Th1, Th2, Th17 cytokines, chemokines and growth factors) in the urine of 25 patients with systemic lupus erythematosus with active renal disease by using a Biorad[®] 17-plex kit on a Luminex[®] platform. A group of healthy volunteers of similar age and comparable sex distribution was recruited as control (n=10).

Results: Results evidenced that the only detectable mediators in urine were IL-8, MCP-1 and MIP-1 β . When levels of these mediators were compared between patients and controls, significantly higher levels of MCP-1 were observed in the urine of the patients. MCP-1 levels in urine correlated positively with the SLEDAI score in a significant way and negatively with plasma levels of complement C4.

Conclusions: Our results reinforce the role of MCP-1 in urine as biomarker of disease activity in renal lupus, excluding the detection of other soluble immune mediators such as Th1, Th2, Th17 cytokines and growth factors as suitable markers in this non invasive sample.

© 2009 Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Keywords:

Renal lupus

Urine

Immune mediators

* Autor para correspondencia.

Correo electrónico: jbermejo@hcuv.sacyl.es (J.F. Bermejo-Martin).

Introducción

La nefropatía lúpica es una enfermedad inflamatoria que afecta al parénquima renal. Las citoquinas y las quimiocinas son los mediadores inmunológicos claves que se han relacionado con la patogénesis de la enfermedad¹. La obtención de marcadores pronósticos no invasivos es un objetivo primordial para mejorar el manejo clínico de estos pacientes². Se ha demostrado la presencia de quimiocinas en la orina de pacientes con la nefritis lúpica^{3,4}. Los métodos multiplex actualmente disponibles permiten discernir simultáneamente una gran variedad de mediadores en una cantidad muy escasa de orina. La MCP-1 se considera marcador de inflamación renal, pero no es exclusivo de lupus. Se encuentra elevado en orina de pacientes con diabetes mellitus, nefropatía por IgA y ciertas vasculitis, entre otras condiciones.

Material y métodos

En este estudio nosotros perfilaremos 17 moléculas en la orina, siendo la primera orina de la mañana, de 25 pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES)¹² con enfermedad renal activa utilizando un kit Biorad® 17-plex en una plataforma Luminex®. Los mediadores seleccionados incluyeron citoquinas Th1 (IL-2; IL-12p70); citoquinas Th2 (IL-4; IL-5; IL-10; IL-13); citoquinas Th17 (IL-6; IL-17); factores de crecimiento (GM-CSF; GCSF); quimiocinas (IL-8; MCP-1; MIP-1β), y también IL-7. Los pacientes con LES fueron seleccionados de la unidad de enfermedades autoinmunes de nuestro hospital. Como grupo control se seleccionó a 10 personas sanas que trabajan en la Universidad de Valladolid con semejante edad y sexo que el grupo de pacientes. La definición de paciente con LES fue que cumplieran los criterios de clasificación del Colegio Norteamericano de Reumatología para SLE⁵. Todos los pacientes con LES recibían terapia inmunomoduladora en el momento de la recogida de muestras, bien con fármacos antiinflamatorios no esteroideos, esteroides, cloroquina o inmunosupresores. La actividad de la enfermedad de cada paciente fue valorada en el momento de la recogida de muestra mediante el índice de actividad de enfermedad de LES 2000 (SLE Disease Activity Index 2000)⁶. La enfermedad renal fue definida como la presencia de proteinuria (> 0,5 g/24 h), que es una característica predominante en la nefritis lúpica, la presencia de piuria (> 6 leucocitos/campo), la presencia de cilindros urinarios por examen microscópico del sedimento urinario, la hematuria (> 5 glóbulos rojos/campo), los niveles de creatinina en suero superiores a 1,1 mg/dl en mujeres o superiores a 1,3 mg/dl en hombres, y el aclaramiento de creatinina inferior a 87 ml/min en mujeres o inferior a 97 ml/min en hombres. El mejor método para evaluar la función renal es a partir de la estimación del filtrado glomerular (FG) con las fórmulas de Cockcroft-Gault o MDRD. Los resultados del FG estimado se expresan de la siguiente manera: valores superiores a 60 ml/min/1,73 m² son informados como FG superior a 60 ml/min y en el caso de FG inferior o igual a 60 ml/min/1,73 m² si se debe expresar con el valor numérico calculado a partir de la ecuación (Documento de Consenso de la Sociedad Española de Nefrología y la Sociedad Española de Bioquímica Clínica).

La muestra de la orina fue recogida en un tubo estéril apropiado de Eppendorf, y se congeló inmediatamente a –80 °C hasta la evaluación de los mediadores inmunes. Los mediadores fueron analizados en la unidad de investigación de infección e inmunidad de nuestro hospital. La prueba de U Mann-Whitney fue utilizada para valorar el significado de las diferencias en los niveles de mediadores entre grupos. Las asociaciones entre niveles de mediadores, parámetros de laboratorio y niveles de severidad

fueron estudiadas calculando los coeficientes de correlación de Spearman-Kärber. El estudio fue aprobado por el Consejo de Revisión del Hospital Clínico Universitario de Valladolid, España. El consentimiento informado fue obtenido de todos los participantes del estudio.

Resultados

Los resultados evidenciaron que los únicos mediadores perceptibles en la orina fueron IL-8, MCP-1 y MIP-1β. Cuando se compararon los niveles de estos mediadores en orina entre pacientes y controles, los niveles de MCP-1 fueron de forma estadísticamente significativa más altos que en los controles (resultados expresados como mediana [rango intercuartil]): pacientes (124,7 [138,6] pg/ml) y controles (56,8 [75,7] pg/ml) ($p < 0,05$). Por el contrario, no se encontró ninguna diferencia entre pacientes y controles para IL-8 y MIP-1β. Es interesante el hallazgo de la correlación positiva entre los niveles de MCP-1 en orina con la puntuación del índice de actividad de enfermedad de LES 2000¹³ de una manera significativa (se expresa como coeficiente de correlación de Spearman; p) (0,569; 0,004) y la correlación negativa con niveles de plasma de la proteína C4 del sistema del complemento (–0,389; 0,05). También es interesante el hallazgo de la asociación positiva entre los niveles en la orina de MCP-1 e IL-8 (0,436; 0,029) y entre MCP-1 y MIP-1β (0,478; 0,016), que señala de algún modo hacia una secreción coordinada de estas quimiocinas en esta enfermedad.

No se encontró relación de MCP-1 y la tasa de FG con la fórmula MDRD de los pacientes, siendo la media de 89,57 ml/min/1,73 m².

Por consiguiente, nosotros examinamos simultáneamente por primera vez diecisiete mediadores inmunes en la orina de pacientes con la enfermedad renal en el contexto de LES.

Discusión

Las quimiocinas, como son MCP-1 e IL-8, son potentes factores quimiotácticos de monocitos en el glomérulo cuando hay daño renal^{7–11}, además, MCP-1 estimula el incremento de calcio intracelular, que induce la liberación de aniones superóxido, enzimas lisosomales y estimula la producción de moléculas de adhesión y citoquinas. Muchas citoquinas y mediadores proinflamatorios podrían provocar la producción de MCP-1 en las células mesangiales del glomérulo, las células endoteliales de túbulo y los monocitos. Se ha demostrado que los incrementos de la expresión tubular de MCP-1 fueron fuertemente asociados con infiltración de monocitos y fibrosis en el intersticio en pacientes con nefritis lúpica, sugiriendo que MCP-1 participa en la patogénesis del daño tubulointersticial, ya que recluta monocitos y se produce la fibrosis del intersticio.

Un método para detectar la expresión de MCP-1 en la enfermedad glomerular es midiendo los niveles de MCP-1 en orina, la cual se encuentra elevada en pacientes con glomerulopatías, y más acusadamente en pacientes que presentan glomerulopatías inflamatorias. Nuestros resultados refuerzan el papel de MCP-1 en la orina como biomarcador de actividad de enfermedad en el lupus renal, siendo la producción de MCP-1 mínima o indetectable en el tejido renal de sujetos sin afección renal, excluyendo la detección de otros mediadores inmunes solubles como citoquinas Th1, Th2, Th17 y factores de crecimiento como marcadores no invasivos.

Financiación

Este trabajo ha sido posible gracias a una subvención «Caja de Burgos» («Premios de Investigación Biomédica»). Jesús F. Bermejo-Martin, R. Almansa y L. Rico fueron apoyados por el «Fondo de Investigaciones Sanitarias», el Ministerio de Ciencia e Innovación, España, EMER07/050 y el «Programa para favorecer la incorporación de grupos de investigación en las instituciones del Sistema Nacional de Salud, EMER07/050».

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Al equipo de Enfermería del Servicio de Medicina Interna de nuestro hospital, que amablemente recogió las muestras.

Bibliografía

- Kiani A, Johnson K, Chen C, Diehl E. Urine osteoprotegerin and monocyte chemoattractant protein-1 in lupus nephritis. *J Rheumatol*. 2009.
- Morimoto S, Tokano Y, Nakano S, Watanabe T. Chemoattractant mechanism of Th1 cells in class III and IV lupus nephritis. *Autoimmunity*. 2009;42:143–9.
- Tucci M, Quatraro C, Lombardi L. Glomerular accumulation of plasmacytoid dendritic cells in active lupus nephritis: Role of interleukin-18. *Arthritis Rheum*. 2008;58:251–62.
- Li HH, Cheng HH, Sun KH, Wei CC, Li CF, Chen WC, et al. Interleukin-20 targets renal mesangial cells and is associated with lupus nephritis. *Clin Immunol*. 2008;129:277–85.
- Stephen DM, Sue JW, Kjell T, Neil JS. Glomerular expression of monocyte chemoattractant protein-1 is predictive of poor renal prognosis in paediatric lupus nephritis. *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23:3521–6.
- Wagrowska-Danilewicz M, Stasikowska O, Danilewicz M. Correlative insights into immunoeexpression of monocyte chemoattractant protein-1, transforming growth factor beta-1 and CD68+ cells in lupus nephritis. *Pol J Pathol*. 2005;56:115–20.
- Tian S, Li J, Wang L. Urinary levels of RANTES and M-CSF are predictors of lupus nephritis flare. 2007;56:304–10.
- Rahman A, Isenberg DA. Systemic lupus erythematosus. *N Engl J Med*. 2008;358:929–39.
- Ferri GM, Gigante A, Ferri F, Amoroso D, Zardi E, Papa A, et al. Urine chemokines: Biomarkers of human lupus nephritis? *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2007;11:171–8.
- Marks SD, Williams SJ, Tullus K, Sebire NJ. Glomerular expression of monocyte chemoattractant protein-1 is predictive of poor renal prognosis in pediatric lupus nephritis. *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23:3521–6.
- Rovin BH, Song H, Birmingham DJ, Hebert LA, Yu CY, Nagaraja HN. Urine chemokines as biomarkers of human systemic lupus erythematosus activity. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16:467–73.
- Tan EM, Cohen AS, Fries JF, Masi AT, Mcshane DJ, Rothfield NF, et al. The 1982 revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum*. 1982;25:1271–7.
- Gladman DD, Ibanez D, Urowitz MB. Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index 2000. *J Rheumatol*. 2002;29:288–91.