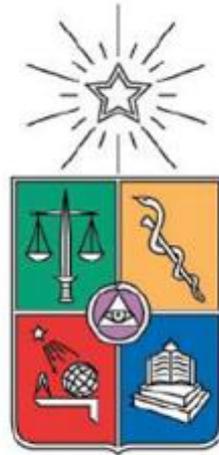


Universidad de Chile
Facultad de Medicina
Escuela de Tecnología Médica



TESIS PROFESIONAL

Para optar al título profesional de Tecnólogo Médico con mención en Morfofisiopatología
y Citodiagnóstico

“CUANTIFICACIÓN DE CAPILARES PERITUBULARES EN PARÉNQUIMA RENAL DE PACIENTES OBESO VS NORMOPESO. ESTUDIO COMPARATIVO”

Orlando Rivera Villar

Directora de tesis: Dra. [Paula C. Segura Hidalgo](#) MSc, MPH, Anatómo Patólogo

Servicio de Anatomía Patológica

Hospital Clínico Universidad de Chile

Fecha: 24 de Julio del 2023

Santiago, 18 de octubre de 2023

ACTA CURSO TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

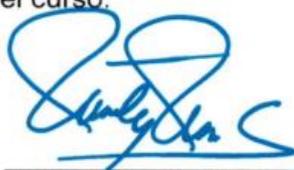
El Sr. **Orlando Dario Rivera Villar**, estudiante de Tecnología Médica con Mención en Morfofisiopatología y Citodiagnóstico, cumpliendo con los requisitos establecidos en el plan de estudio, realizó durante el noveno semestre de la carrera, la Tesis Profesional titulada: **“Cuantificación de capilares peritubulares en parénquima renal de pacientes obesos vs normopeso. estudio comparativo”**, dirigida por la **Dra. Paula Segura**, académica del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínico Universidad de Chile Hospital Clínico de la Universidad de Chile.

Este trabajo fue revisado por la comisión integrada por: **Dr. Luis Toro del** Departamento de Medicina Interna Norte y el **Dr. Sebastián Indo**, del Departamento de Tecnología Médica, ambos de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile

La calificación obtenida se detalla a continuación:

Corrector 1 Dr. Luis Toro	7.00	25%
Corrector 2 Prof. Sebastián Indo	6.50	25%
Tutor(es) Guía:		
Evaluación intermedia	7.00	25%
Nota final tutor	7.00	25%
Nota final tesis profesional	6.88	

En consecuencia el estudiante **Orlando Dario Rivera Villar** aprueba satisfactoriamente el curso.



Prof. Marioly Müller
Coordinador(a) curso
Trabajo de Investigación



Prof. Hernán Torres.
PEC curso
Trabajo de Investigación

A mi familia invaluable

Cada reto en la vida, en su mayoría, se enfrenta de forma individual, con la entrega proporcional a la gracia de cumplir aquellos objetivos impuestos. No obstante, gran parte del viaje a tal meta se logra gracias a la colaboración de quienes nos circundan y orientan en cada una de las decisiones a tomar, y este trabajo no es la excepción. Primero, quiero agradecer por su dedicación a mi tutora de tesis Dra. Paula Segura, quién constantemente me brindo su apoyo en el desarrollo de la investigación, sin duda haciendo notar su vocación docente y su gran disposición en la entrega de conocimiento, actitud de la cual estoy totalmente agradecido. Por otra parte, quiero agradecer al gran equipo de trabajo del Servicio de Anatomía Patología del Hospital Clínico de la Universidad de Chile, compuesto por un gran plantel multidisciplinario con quienes tuve el gusto de compartir cada día y aprender de su amplia experiencia. Indudablemente este trabajo no pudo haberse realizado sin el aporte de cada uno de ellos, a quienes estoy agradecido de corazón.

Gracias, por tanto.

ÍNDICE	
Resumen	6
Abstract	7
ÍNDICE	5
INTRODUCCIÓN	6
HIPÓTESIS	15
OBJETIVO GENERAL	15
METODOLOGÍA	16
Análisis de datos	20
• Cuantificación de capilares peritubulares	20
• Regresiones lineales de las variables	21
• Prueba de Tukey	21
Aspectos éticos	22
• Confidencialidad	22
• Comité de ética	22
• Limitaciones	22
RESULTADOS	23
Análisis exploratorio de datos	23
Análisis estadístico	25
Distribución de número de capilares peritubulares según índice de masa corporal	25
Distribución de promedio de capilares peritubulares según índice de masa corporal	26
Relación del IMC con las variables género y edad	27
Expresión de CPT mediante inmunotinción CD34 en relación con el IMC	28
Correlación Morfológica	28
Comparación entre inmunotinción CD31 y CD34 en CPT renales	31
Comparación de cantidad de CPT en los grupos de estudio normopeso, sobrepeso y obeso	34
DISCUSIÓN	35
CONCLUSIÓN	40
Referencias bibliográficas	43
Anexos	47

Resumen

La obesidad es una enfermedad crónica no transmisible que se considera uno de los principales pilares que caracterizan al síndrome metabólico, el cual consiste en un grupo de factores de riesgo cardiovascular. Diversos estudios han comprobado que las personas que padecen obesidad se enmarcan en un estado inflamatorio crónico basal derivado del alto contenido de tejido adiposo visceral, el cual genera un factor dañino constante. Este estado inflamatorio recurrente desequilibra una gran variedad de citocinas y poblaciones celulares del sistema inmune que desempeñará un rol injurante en diversos tejidos del organismo, y dentro de estos se encuentra el riñón, el cual presenta alteraciones morfológicas como moleculares atribuibles a la expansión del tejido adiposo, generando daño en el parénquima y funcionalidad renal. Dentro de las estructuras que resultan afectadas están los capilares peritubulares (PTC), los cuales debido a este desequilibrio entre factores proinflamatorios y protectores del endotelio vascular del parénquima resultan en su rarefacción lo cual los hace más lábiles, susceptibles a apoptosis de células endoteliales, pérdida capilar e hipoxia tisular desarrollando serias consecuencias en el riñón. El estudio de la relación entre pacientes con obesidad en comparativa con aquellos normopesos, permite establecer una relación entre la expansión del tejido adiposo con los capilares peritubulares del tejido renal. Confirmar una relación directa en pacientes humanos obesos con el número de capilares peritubulares del parénquima renal, fomenta estudios de tratamientos que puedan prevenir el desarrollo de enfermedades renales en etapa terminal, además de contextualizar a la población chilena ante esta problemática. Esto se efectuó mediante el uso de inmunohistoquímica de los tacos de parafina contruidos en forma de Tissue Microarray y su posterior cuantificación y análisis estadístico donde se confirmó que existe relación lineal estadísticamente significativa ($p < 0,0001$) entre el valor de índice de masa corporal y la cantidad de PTC. Los resultados obtenidos permiten concluir que la cantidad de PTC en parénquima renal disminuye con el aumento de peso.

Abstract

Obesity is a non-communicable chronic disease that is considered one of the main pillars that characterize metabolic syndrome, which consists of a group of cardiovascular risk factors. Several studies have verified that people who suffer from obesity are framed in a basal chronic inflammatory state derived from the high content of visceral adipose tissue, which generates a constant damaging factor. This recurrent inflammatory state unbalances a wide variety of cytokines and cell populations of the immune system that will play a damaging role in various tissues of the organism, and within these is the kidney, which presents morphological and molecular alterations attributable to the expansion of adipose tissue, developing damage in the parenchyma and renal functionality. Among the structures that are affected are the peritubular capillaries (PTC), which due to this imbalance between proinflammatory and protective factors of the parenchyma vascular endothelium result in their rarefaction, which makes them more labile, susceptible to endothelial cell apoptosis, capillary loss and tissue hypoxia developing serious consequences in the kidney. The study of the relationship between patients with obesity in comparison with those with normal weights, allows establishing a relationship between the expansion of adipose tissue with the peritubular capillaries of renal tissue. Confirming a direct relationship in obese human patients with the number of peritubular capillaries of the renal parenchyma promotes studies of treatments that can prevent the development of end-stage renal disease, in addition to contextualizing the Chilean population in the face of this problem. This was done by using immunohistochemistry of the paraffin wads built in the form of Tissue Microarray and their subsequent quantification and statistical analysis where it was confirmed that there is a statistically significant linear relationship ($p < 0.0001$) between the value of body mass index and the amount of PTC. The results obtained allow us to conclude that the amount of PTC in the renal parenchyma decreases with weight gain.

INTRODUCCIÓN

Obesidad, patología recurrente en Chile y el mundo

La obesidad es un problema de salud pública globalizado que ha adquirido relevancia debido a las complicaciones derivadas de ésta. Se determina mediante el índice de masa corporal (IMC), indicador de la relación entre peso y talla, utilizado frecuentemente para cuantificar sobrepeso y obesidad en adultos. Se calcula dividiendo el peso de una persona en kilos por el cuadrado de su talla en metros (kg/m^2)(1). Un aumento en el IMC (sobre $30 \text{ kg}/\text{m}^2$ para individuos obesos) sería reflejo de acumulación excesiva de grasa visceral.

En el último tiempo, la obesidad se presenta como un desafío recurrente en los sistemas de salud, ya que no solo afecta a un nivel económico, sino que también produce disminución de la expectativa y calidad de vida de la población, representando un factor de riesgo de diversas enfermedades crónicas no transmisibles. Según los datos entregados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) en 2016, más de 1900 millones de adultos de 18 o más años tenían sobrepeso, de los cuales más de 650 millones eran obesos (1), y según la World Obesity Federation, estima que para el 2025 la prevalencia será de 16.1% en la población mundial (2). Respecto a la realidad chilena, no se aleja de los resultados anteriores, donde 31,4% de la población adulta es obesa (3), mientras que en población infantil, 28,7% presenta sobrepeso y 25,4% obesidad, según datos referentes al estado nutricional 2020 obtenido por Junta Nacional de Auxilio Escolar y Becas (JUNAEB). (4)

El aumento de peso genera una serie de efectos, a saber: Desequilibrios hormonales, desregulación del sistema energético y homeostasis metabólica, junto con estados proinflamatorios que dañan órganos específicos, siendo el sistema renal de los más afectados (5). Además, la obesidad tiene directa relación con el síndrome metabólico, siendo una de las afecciones que caracteriza a este último.

Síndrome metabólico y obesidad

El síndrome metabólico (SM) es un grupo de factores de riesgo cardiovascular que incluye insulinoresistencia (RI), dislipidemia e hipertensión, los cuales pueden fomentar el desarrollo de enfermedades renales crónicas junto a otras afecciones cardiovasculares. Se estima que 36% de la población mundial presenta SM según datos de la OMS (6). En Chile según datos del ministerio de salud, 23% de la población estaría afectada (7).

Dentro de sus manifestaciones fundamentales está la expansión de tejido adiposo, la cual promueve la inflamación crónica y el estrés oxidativo que exacerba la insuficiencia renal, mediante eventos de disfunción endotelial, activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona y el desequilibrio de la adenosina, perjudicando al funcionamiento de éste (8). Se discute constantemente en diversos estudios cuál es la principal patogenia del síndrome metabólico, sin embargo, el eje central del problema corresponde a la obesidad y la resistencia a la insulina.

La obesidad visceral desencadena una serie de respuestas cardiovasculares, renales, metabólicas, protrombóticas e inflamatorias adaptativas que desencadenan SM (5). Al respecto, se ha logrado identificar las principales vías perjudiciales activas hacia el órgano, siendo la resistencia a la insulina y la inflamación crónica importantes contribuyentes al cambio funcional y estructural renal, desencadenando mayor riesgo de enfermedad renal crónica (ERC), reflejada por microalbuminuria y disfunción renal.

Al caracterizar al SM mediante presencia de al menos tres rasgos característicos (obesidad, diabetes e hipertensión), SM predijo de forma independiente la aparición de ERC, y al efectuar ajuste por diabetes e hipertensión, la obesidad sigue siendo un factor de riesgo independiente que contribuye al desarrollo de ERC, definida como la caída de la función renal durante un seguimiento de 9 años (5).

Obesidad y efecto en el tejido renal

Dentro de las complicaciones del paciente obeso destacan las nefropatías relacionadas con la obesidad (NRO), siendo en primera instancia descritas en individuos con obesidad mórbida (IMC de 40 kg/m² o más) en ausencia de otras enfermedades renales, tanto clínicas como histopatológicas. Sin embargo, las características clínicas ya se observan en pacientes con grados moderados de obesidad, siendo el signo más relevante la proteinuria aislada de inicio desconocido, con o sin insuficiencia renal (9). Esto permite plantear la posibilidad de efectuar estudios moleculares en pacientes de grado de obesidad menor, dado que también estarían expuestos a injuria metabólica generada por el exceso de tejido adiposo.

La expansión de tejido adiposo posee una activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona local (RAAS), lo cual contribuye a trastornos cardiometabólicos asociados con la resistencia a la insulina, como aumento de la actividad del sistema nervioso simpático (SNS), la retención de sodio y expansión de volumen que puede llevar a una enfermedad renal progresiva (5). Además, hay un aumento del flujo de ácidos grasos libres (AGL), donde la grasa de origen visceral, llega directo a sistema porta, va a hígado, la cual provoca una insulinoresistencia hepática que lleva a un aumento de la liberación de glucosa, la síntesis de citoquinas proinflamatorias (proteína C reactiva, TNF- α , resistina, IL 6 y 18) y cambios en el metabolismo lipoproteico que se traducen en un exceso de triglicérido circulantes (6).

La alta cantidad de grasas, sumado con factores relacionados metabólicos y elevada adiposidad funcionan como agentes causales de injuria renal. Estudios en ratas con dietas elevadas en grasas demostró que la adiposidad visceral es determinante en provocar disfunción renal, incluso en individuos de peso normal. Es aquí donde el efecto de inflamación crónica de bajo grado, con la presencia de macrófagos productores de mediadores proinflamatorios, establecen una relación recíproca con los adipocitos, amplificando aún más la respuesta inflamatoria de tejido adiposo y riñón (10).

La inflamación crónica se caracteriza por la generación de angiogénesis, atrofia tubular (contracción de los túbulos con engrosamiento variable de la membrana basal tubular y aplanamiento del epitelio) y posterior cicatrización mediante fibrosis intersticial, denominados en conjunto como IFTA (11). Existe evidencia de que en contexto de obesidad el tejido adiposo visceral presenta todos estos signos de inflamación crónica, los cuales podrían iniciarse sin ser necesariamente precedidos por un proceso inflamatorio agudo. Hay que considerar que las subpoblaciones de macrófagos ubicadas en el tejido adiposo, tendrían un predominio de la subclase M1 que están involucrados en fenómenos proinflamatorios, mientras que macrófagos tipo M2 que se encargan de reducir los estímulos inflamatorios, se encuentran disminuidos. En tejido adiposo hay numerosas células T, donde la fracción CD8 está aumentada con la obesidad, la cual es activada por el tejido adiposo y se encarga de propagar la cascada inflamatoria, ocasionando resistencia sistémica a la insulina y anomalías metabólicas. Esta situación de cambio de dominancia de las células T CD8 parece propagar la inflamación (12).

Otro elemento que influye en el estado proinflamatorio constante asociado a la obesidad, parece ser el estrés oxidativo de los adipocitos, el cual participaría en la cascada de señalización celular involucrada en la respuesta inflamatoria estimulando la expresión de citoquinas proinflamatorias. Este estrés oxidativo es producido por el desequilibrio entre la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y déficit de factores antioxidantes (13). Estos estados inflamatorios constantes pueden inducir a neovascularización, y con esto generar un desequilibrio entre factores protectores endoteliales.

En resumen, estos estudios exponen cómo la obesidad induce daños en el parénquima renal, trayendo consigo consecuencias en la estructura y funcionalidad del sistema, por lo cual es plausible considerarse que el estudio de estos mecanismos, en particular la afección inflamatoria junto a sus efectos podría dar información importante para futuros blancos de tratamiento.

Inflamación asociada a Obesidad produce daños en capilares peritubulares

Los capilares renales son fuente y blanco de factores circulantes de inflamación, donde la exposición a largo plazo disminuye la producción de moléculas protectoras como la trombomodulina. Estos factores inflamatorios a su vez estimulan al factor de crecimiento endotelial (VEGF-A), el cual aumenta la permeabilidad endotelial y altera la función de barrera de los capilares peritubulares (14). En modelos de obstrucción unilateral crónica (UUO) de rata, observaron angiogénesis temprana de células endoteliales en rarefacción de capilares peritubulares, acompañada de una expresión del VEGF-A, factor angiogénico importante dentro del epitelio tubular, sin embargo, fue seguido con apoptosis de células endoteliales en capilares peritubulares (PTC), disminución de VEGF-A y su principal receptor VEGF-A receptor 2 (VEGFR-2) y regresión capilar (14). En estudios de ratones transgénicos, se demostró el papel central de capilares peritubulares en el desarrollo de fibrosis renal, donde la capacidad de reparación endotelial del factor de crecimiento transformador β (TGF- β RII) específico del endotelio resultó ser de suma importancia para prevenir la fibrosis renal experimental. También se evidenció que los capilares peritubulares no solo se pierden, sino que también experimentan cambios estructurales y funcionales significativos que preceden a su pérdida tales como alteración de su forma, espacios subendoteliales, pérdida de fenestraciones, generación de caveolas, vesículas y aumento de permeabilidad endotelial, dando formación a rarefacción de los capilares peritubulares (PTC), lo cual pueden ser respuestas a la lesión inicial y factor instigador para los procesos fibróticos, siendo causa de la enfermedad renal progresiva.

De esta forma, el estudio de los capilares peritubulares en personas con sobrepeso y obesidad es atinente para descubrir de forma temprana afecciones en la progresión de la enfermedad renal, siendo de las características importantes la rarefacción capilar peritubular (PTC), los cuales en ERC sufren apoptosis, pérdida capilar, hipoxia tisular y estrés oxidativo (15).

Obesidad, inflamación y rarefacción de PTC

Mediante los antecedentes mostrados anteriormente, se sabe que la obesidad presenta mecanismos inflamatorios que generan injurias en el tejido renal, y en lo particular, daño a los capilares peritubulares que componen este órgano. En esta situación, se alteran los factores de supervivencia endotelial. Si bien, inicialmente las células endoteliales (CE) de PTC proliferan al ser estimuladas con factor de crecimiento endotelial (VEGF-A), que además, también fue comprobado en un modelo de estudio de SM renal en cerdos, utilizando micro-TC de tres dimensiones donde se encontró una proliferación microvascular relacionada con VEGF-A (8), no obstante, en etapas posteriores, VEGF-A junto a su receptor disminuyen gradualmente, resultando en una mayor apoptosis de CE sin proliferación compensatoria. Esta apoptosis endotelial se ve favorecida por privación de VEGF-A por macrófagos inflamatorios que infiltran y secretan citoquinas inflamatorias como IL-1 β , IL-6 y TNF- α , la cual bloquean la expresión de VEGF-A. Se cree que este es el mecanismo central y principal para la rarefacción de PTC de una lesión renal crónica (16). Estas células endoteliales se vuelven procoagulantes y pro-adhesivas lo que lleva a la oclusión capilar por trombosis y a una mayor inflamación por extravasación de leucocitos.

Contabilización de capilares peritubulares de parénquima renal

Para la realización de esta investigación se realizó la cuantificación de capilares peritubulares del parénquima renal mediante técnicas de inmunohistoquímica por medio de la construcción de un Tissue Microarray, permitiendo el análisis de múltiples muestras de pacientes en una sola placa. Los marcadores inmunohistoquímicos utilizados para la cuantificación fueron CD31 y CD34, ambos ampliamente utilizados para la identificación de células de origen hematopoyético. Donde el primero corresponde a una molécula de adhesión de células endoteliales plaquetarias codificada por el gen PECAM1, siendo útil para la identificación de neoplasias de origen vascular (17, 18 y 19). Mientras que CD34 corresponde a una glicofoproteína de superficie celular expresada en células endoteliales

vasculares (20). Además, también se realizó la técnica histoquímica Tricrómico de Masson para la evaluación de cambios crónicos en el parénquima renal de las muestras estudiadas.

El estudio de la relación entre pacientes con obesidad en comparativa con aquellos normopesos, permitiría establecer una relación entre la expansión del tejido adiposo con los capilares peritubulares del tejido renal, el cual presuntamente tiene una serie de mecanismos que pueden afectar a los capilares peritubulares en pacientes, pudiendo generar un progreso en la ERC. Confirmar una relación directa en humanos, incentiva estudios de tratamientos que puedan prevenir el desarrollo de enfermedades renales en etapa terminal, además de contextualizar a la población chilena ante esta problemática.

HIPÓTESIS

Los pacientes con obesidad presentan menor cantidad de capilares peritubulares que los pacientes normopeso.

OBJETIVO GENERAL

Cuantificación de los capilares peritubulares del parénquima renal en pacientes obesos y normopesos mediante inmunohistoquímica.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ❖ Construcción de un Tissue Microarray para el análisis de grupos de pacientes.
- ❖ Establecer una relación entre el conteo de capilares peritubulares y peso corporal.
- ❖ Caracterizar el patrón de marcaje IHQ de capilares peritubulares en parénquima renal.
- ❖ Comparar niveles de expresión de los marcadores CD31 y CD34 en parénquima renal.

METODOLOGÍA

Tipo de estudio

Se realizó un estudio retrospectivo observacional de casos y controles, utilizando como base el registro de pacientes biopsiados del Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Clínico de la Universidad de Chile, enfocándose principalmente en su diagnóstico histológico y estado nutricional. Los grupos de los casos y controles se determinaron según el IMC de los pacientes de ambos sexos que cumplan los criterios de inclusión.

Población

La población del HCUCH es muy heterogénea, por lo que refleja la diversidad características sociodemográficas de los habitantes de la región metropolitana. Esto favorece el presente estudio, ya que aporta variabilidad a la muestra de pacientes a seleccionar.

El grupo de pacientes corresponde a personas adultas con IMC alterado y normal.

Criterios de inclusión

- Bloques de inclusión de pacientes de ambos sexos que tengan 30 años o más, sometidos a nefrectomía radical entre los años 2013 y 2023.
- Pacientes con información disponible en ficha electrónica sobre comorbilidades de importancia (diabetes, hipertensión y dislipidemia) y tabaquismo activo o suspendido.

Criterios de exclusión

- Pacientes que no tengan un bloque de inclusión presente en el archivo o que este carezca de tejido no neoplásico.

- Bloques de inclusión que presenten signos de haber sido mal procesados, como mala fijación, problemas de impregnación e inclusión, que presenten escasa o nula muestra.
- Muestras con un considerable infiltrado inflamatorio linfocitario, lo cual dificulta el análisis visual del intersticio del parénquima renal.
- Pacientes con antecedentes de patología renal médica diagnosticada al momento de la cirugía.
- Muestras de pacientes de estudio con un número menor a 10 glomérulos en su corteza renal.
- Pacientes que en fichas clínicas presenten con antecedentes de Diabetes Mellitus

Tissue Microarray (TMA)

Se aplica la técnica de TMA con cilindros de 3 mm, basado en el protocolo facilitado por el Biobanco de Tejidos y Fluidos de la Universidad de Chile, esta metodología permite tener 39 pacientes más un control positivo en un solo bloque de parafina. El procedimiento es el siguiente:

- Selección previa del área de interés de los casetes originales de los pacientes incluidos en el estudio, considerada como un campo donde se encuentren al menos diez glomérulos, la cual se señala con una marca.
- Antes de la extracción del tejido desde el taco donante, se realiza en una planilla Excel (Modelo adjunto en anexo N° 1) con un sistema de coordenadas para ubicar a los pacientes dentro del taco de TMA.
- Para todos los nuevos bloques, el control positivo corresponderá al sugerido y validado por el laboratorio de anatomía patológica de la Universidad de Chile (HCUCH).
- La extracción de tejido desde el bloque donante se realiza con un *punch* de 3 mm tomado desde la zona previamente delimitada

- El tejido es transferido a un taco receptor que se prepara con un molde de silicona de 3 mm, el cual contiene los pocillos donde se ubican los cilindros en el orden definido en la planilla Excel.
- Luego de transferir todos los cilindros de tejido a los TMA estos se colocan sobre un portaobjeto limpio y se incuban en estufa a 50°C para que se homogenice la parafina en la cara de corte.
- Posteriormente son enfriados a 4°C para pasar al proceso de corte.
- Para el análisis, se obtienen cuatro cortes de cada uno de los TMA para la preparación de tinción de rutina (HE), inmunohistoquímicas de CD31 y CD34 y tinción tricrómico de Masson.
- Todos los cortes se realizan en un micrótomo Leica RM2235 con un espesor de 3 micrones (Anexo 2).

Hematoxilina-eosina, histoquímica e inmunohistoquímica

Tanto la tinción de rutina como la IHQ se realizan en sistemas automatizados. La tinción HE se lleva a cabo en Tissue Tek prisma slide y las IHQ se elaboran en equipo BenchMark ULTRA del servicio de anatomía patológica del HCUCH. Este equipo solo permite definir el tiempo de incubación del anticuerpo y el método de aplicación del anticuerpo, el cual puede ser manual o automático. Anticuerpos primarios a utilizar serán CD31 (JC70A) y CD34 (QBEnd/10) ambos de ratón, el primero de la empresa VITRO y el segundo de VENTANA (protocolos asociados anexo 3).

Para complementar el análisis morfológico de los grupos de pacientes se realiza la tinción histoquímica tricrómico de Masson para evaluar el grado de fibrosis. La realización de esta técnica se realizó mediante la aplicación del protocolo manual facilitado por el laboratorio del servicio (protocolo asociado anexo 4).

Variables

Variables independientes

- Índice de masa corporal: expresada en Kg/m^2 con esta variable se define el estado nutricional del individuo, depende directamente de la altura y el peso de la persona.

Clasificación	IMC (Kg/m^2)	IMC ajustado
Bajo peso	Menor o igual a 18,5	Menor o igual a 23
Normal	Mayor a 18,5 hasta 24,9	Mayor a 23 hasta 27,9
Sobrepeso	Mayor o igual a 25 hasta 29,9	Mayor a 28 hasta 31,9
Obeso	Mayor o igual a 30	Mayor o igual a 32

Tabla 1: Rangos de valores de IMC y clasificación nutricional. IMC ajustado se aplica para pacientes mayores o iguales a 66 años

- Sexo: Se consideran las frecuencias en hombres y mujeres por separado.
- Enfermedades crónicas preexistentes y hábitos: se toman como relevantes el padecimiento de diabetes mellitus, hipertensión arterial y dislipidemia. Se clasifican según presenten una, todas o combinación de las tres antes mencionadas. Pero esta clasificación es independiente del IMC que presentan. El hábito de tabaquismo también será clasificado, designando si son o no fumadores.

Variables dependientes

- **Cuantificación de capilares peritubulares:** Se efectuará cuantificación de capilares peritubulares (PTC) en 10 campos de mayor aumento mediante microscopio Olympus CX 43 de la tinción de membrana de los capilares peritubulares. Para la variable “**porcentaje de tinción citoplasmática de PTC**” se visualizarán 5 campos en IHQ a mayor aumento (40x) por paciente, en cada uno de ellos como mínimo debe haber 10 CPT contando la cantidad de CPT que presentan marca de membrana y citoplasmática alrededor de ellos. El número de PTC contados se divide por factor de corrección y se multiplica por 100 para

expresar el porcentaje de inmunotinción de cada una de las intensidades por paciente. Esto será realizado para el marcador CD-34.

- **IFTA:** Grado de atrofia tubular y fibrosis intersticial, las cuales serán evaluados mediante técnica histoquímica de tricrómico de Masson.

Análisis de datos

- **Cuantificación de capilares peritubulares**

Mediante el programa de Hojas de cálculo de Google Docs, se realizaron las anotaciones de la cantidad de CPT por cada campo asociado a su muestra, mediante construcción de tablas para organizar los datos obtenidos. Están separadas por muestras, dadas por las coordenadas del TMA (anexo 1), de las cuales se evaluaron 5 campos, y por cada uno de ellos se contabilizó los CPT alrededor de cada túbulo contorneado de la corteza renal respectiva.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q	R	S	T
1	A2	CCPT-1		A3	CCPT-1		A4	CCPT-1		A5	CCPT-1		A6	CCPT-1		A7	CCPT-1		A8	CCPT-1
2	T1	4		T1	7		T1	4		T1	5		T1	4		T1	3		T1	6
3	T2	3		T2	5		T2	6		T2	4		T2	5		T2	4		T2	5
4	T3	5		T3	5		T3	6		T3	6		T3	7		T3	6		T3	5
5	T4	5		T4	2		T4	6		T4	5		T4	6		T4	6		T4	4
6	T5	3		T5	3		T5	3		T5	6		T5	9		T5	5		T5	3
7	T6	4		T6	3		T6	6		T6	5		T6	4		T6	5		T6	5
8	T7	5		T7	6		T7	7		T7	8		T7	7		T7	4		T7	4
9	T8	3		T8	5		T8	6		T8	4		T8	7		T8	6		T8	6
10	T9	3		T9	6		T9	7		T9	4		T9	4		T9	8		T9	5
11	T10	6		T10	7		T10	6		T10	4		T10	5		T10	6		T10	4
12	Promedio	4,5		Promedio	4,9		Promedio	5,7		Promedio	5,1		Promedio	5,8		Promedio	5,3		Promedio	4,8
13	Sumatoria	45		Sumatoria	49		Sumatoria	57		Sumatoria	51		Sumatoria	58		Sumatoria	53		Sumatoria	48
14																				
15	A2	CCPT-2		A3	CCPT-2		A4	CCPT-2		A5	CCPT-2		A6	CCPT-2		A7	CCPT-2		A8	CCPT-2
16	T1	4		T1	6		T1	6		T1	5		T1	5		T1	7		T1	4
17	T2	3		T2	10		T2	8		T2	6		T2	3		T2	5		T2	5
18	T3	6		T3	8		T3	6		T3	5		T3	3		T3	3		T3	5
19	T4	6		T4	6		T4	6		T4	4		T4	4		T4	4		T4	5
20	T5	6		T5	7		T5	5		T5	6		T5	5		T5	5		T5	5
21	T6	8		T6	6		T6	4		T6	5		T6	4		T6	6		T6	5
22	T7	5		T7	7		T7	5		T7	8		T7	5		T7	5		T7	3
23	T8	5		T8	6		T8	7		T8	4		T8	3		T8	3		T8	6
24	T9	5		T9	6		T9	2		T9	7		T9	3		T9	4		T9	4
25	T10	7		T10	6		T10	6		T10	5		T10	5		T10	7		T10	5
26	Promedio	5,7		Promedio	6,8		Promedio	5,5		Promedio	5,5		Promedio	5,5		Promedio	4,9		Promedio	4,9
27	Sumatoria	57		Sumatoria	68		Sumatoria	55		Sumatoria	55		Sumatoria	40		Sumatoria	49		Sumatoria	49
28																				
29	A2	CCPT-3		A3	CCPT-3		A4	CCPT-3		A5	CCPT-3		A6	CCPT-3		A7	CCPT-3		A8	CCPT-3
30	T1	6		T1	5		T1	7		T1	3		T1	7		T1	4		T1	7
31	T2	6		T2	6		T2	4		T2	5		T2	4		T2	7		T2	4
32	T3	7		T3	4		T3	5		T3	5		T3	5		T3	4		T3	5
33	T4	5		T4	5		T4	4		T4	5		T4	6		T4	5		T4	5
34	T5	5		T5	7		T5	2		T5	6		T5	5		T5	3		T5	5
35	T6	5		T6	8		T6	7		T6	5		T6	5		T6	5		T6	6
36	T7	4		T7	4		T7	5		T7	6		T7	5		T7	3		T7	5
37	T8	5		T8	4		T8	3		T8	4		T8	5		T8	4		T8	5
38	T9	7		T9	5		T9	8		T9	5		T9	6		T9	5		T9	8
39	T10	4		T10	3		T10	5		T10	5		T10	7		T10	4		T10	4
40	Promedio	5,4		Promedio	5,1		Promedio	5		Promedio	4,9		Promedio	5,7		Promedio	4,4		Promedio	5,22222222
41	Sumatoria	54		Sumatoria	51		Sumatoria	50		Sumatoria	49		Sumatoria	57		Sumatoria	44		Sumatoria	47
42																				

Figura 1: Tabla en Hoja de cálculo de Google Docs. con los datos de cuantificación de CPT. Celda naranja: Coordenada de mapa de TMA; Celda gris: Cantidad de capilares peritubulares (CCPT), donde guion hace referencia a el campo de menor aumento; T: T1, T2...T10, corresponde a el túbulo en el cual se contabilizo los CPT que lo rodean; Celda amarilla; Promedio y Sumatoria de CPT para el campo de menor aumento.

A3	CCPT-5
T1	5
T2	6
T3	2
T4	6
T5	5
T6	4
T7	5
T8	4
T9	5
T10	7
Promedio	4,9
Sumatoria	49

Promedio total A3
5,52

Sumatoria total A3
276

Figura 2: Tabla en Hoja de cálculo de Google Docs. con los datos de cuantificación de CPT, además del promedio total y el sumatorio total referente a la muestra.

- **Regresiones lineales de las variables**

Para establecer si existe relación entre IMC y capilares peritubulares (CD31-CD34) se efectúa análisis de regresión lineal para variables de las mediciones de IHQ (marcaje de capilares peritubulares positivo) en función del IMC y edad (variables continuas).

- **Prueba de Tukey**

Esta prueba se utiliza para establecer diferencias en la distribución del valor absoluto y promedio de PTC cuantificados por inmunohistoquímica entre los tres grupos determinados previamente de acuerdo a su IMC.

Para todos los análisis se utiliza el programa STATA 16 IC para Mac OSX.

Aspectos éticos

- **Confidencialidad**

Para respetar la confidencialidad de los pacientes, sus datos personales no figuran en las bases de datos en ninguna etapa del desarrollo de este estudio, ya que una vez ingresados, se les asigna un número correlativo, eliminando nombre, RUT y número de biopsia (anexo 1).

- **Comité de ética**

Esta investigación ha sido revisada y autorizada por el comité ético científico de investigación en seres humanos de HCUCH. Además, cuenta con la aprobación de la jefatura del servicio de anatomía patológica y la dirección general del hospital clínico (anexo 7).

- **Limitaciones**

La baja o nula información bibliográfica indexadas, referente a la relación independiente entre el Síndrome metabólico con la obesidad, y el efecto inminente de estas en el desarrollo de la enfermedad renal crónica.

RESULTADOS

Análisis exploratorio de datos

La muestra está constituida por un total de 90 pacientes, de los cuales 48 (53,3%) son de sexo femenino y 42 (46,67%) de sexo masculino, cuyas edades fluctúan entre 25 y 87 años, con promedio de $57,04 \pm 13,3$ años y mediana de 57,7 años, es decir, se distribuyen en forma normal.

En cada uno de estos pacientes se consignó el IMC, obteniéndose una distribución que se detalla a continuación:

Percentiles	1%	25%	50%	75%	99%
IMC	19.98	24.6	27.62	30.76	50.78

Tabla 2: Distribución de muestras en estudio asociadas al IMC, con un total de 90 muestras, promedio de 28.29 ± 5.08 kg/m² y mediana de 27.62 kg/m².

De acuerdo a su índice de masa corporal los pacientes fueron clasificados en tres grupos como se consigna en la siguiente tabla:

Clasificación según IMC	Frecuencia	Porcentaje (%)
Peso normal	28	31.11
Sobrepeso	33	36.67
Obesidad	29	32.22
Total	90	100

Tabla 3: Clasificación según IMC de las muestras del total de pacientes en estudio.

Por otra parte, la cuantificación de capilares peritubulares obtenida en valores absolutos presenta la siguiente distribución, con un mínimo de 146 CPT y un máximo de 296 CPT, promedio de $229 \pm 35,5$ y mediana de 223 CPT:

Percentiles	1%	25%	50%	75%	99%
CPT	146	208	223	262	312

Tabla 4: Distribución de CPT en el total de las muestras en estudio.

Por otra parte, el promedio de capilares peritubulares presenta los siguientes valores, destacando un promedio de $4.58 \pm 0,7$ CPT y mediana de 4,46 CPT:

Percentiles	1%	25%	50%	75%	99%
Promedio CPT	19.98	24.6	27.62	30.76	50.78

Tabla 5: Distribución de promedio de CPT en total de las muestras en estudio.

Cabe destacar que ambas variables presentan distribución normal.

Al efectuar una comparación entre los tres grupos de acuerdo a la edad se obtienen los siguientes resultados:

	Peso normal	Sobrepeso	Obeso
Muestras	28	33	29
Edad			
Promedio		57.76	56.83
Desviación estándar		12.94	13.60
Mínimo		35	85
Máximo		33	79

Tabla 6: Comparación de distribución de edades asociados a los tres grupos de estudio.

La distribución de los grupos según el género se observa en la siguiente tabla:

Genero	Grupos asignados según IMC			Total
	Peso normal	Sobrepeso	Obesidad	
Femenino	17 35.42%	15 31.25%	16 33.33%	48 100%
Masculino	11 26.19%	18 42.86%	13 32.22%	42 100%
Total	28 31.11%	33 36.67%	29 32.22%	90 100%

Tabla 7: Comparación de distribución de grupos asociados al género biológico.

Cabe destacar que no se demostró diferencia estadísticamente significativa en la distribución del IMC en relación a las variables sexo y edad.

Análisis estadístico

Para determinar la relación entre el índice de masa corporal y la cantidad (Valor absoluto) de capilares peritubulares se efectúa un estudio de regresión lineal simple, obteniéndose el siguiente gráfico:

Distribución de número de capilares peritubulares según índice de masa corporal

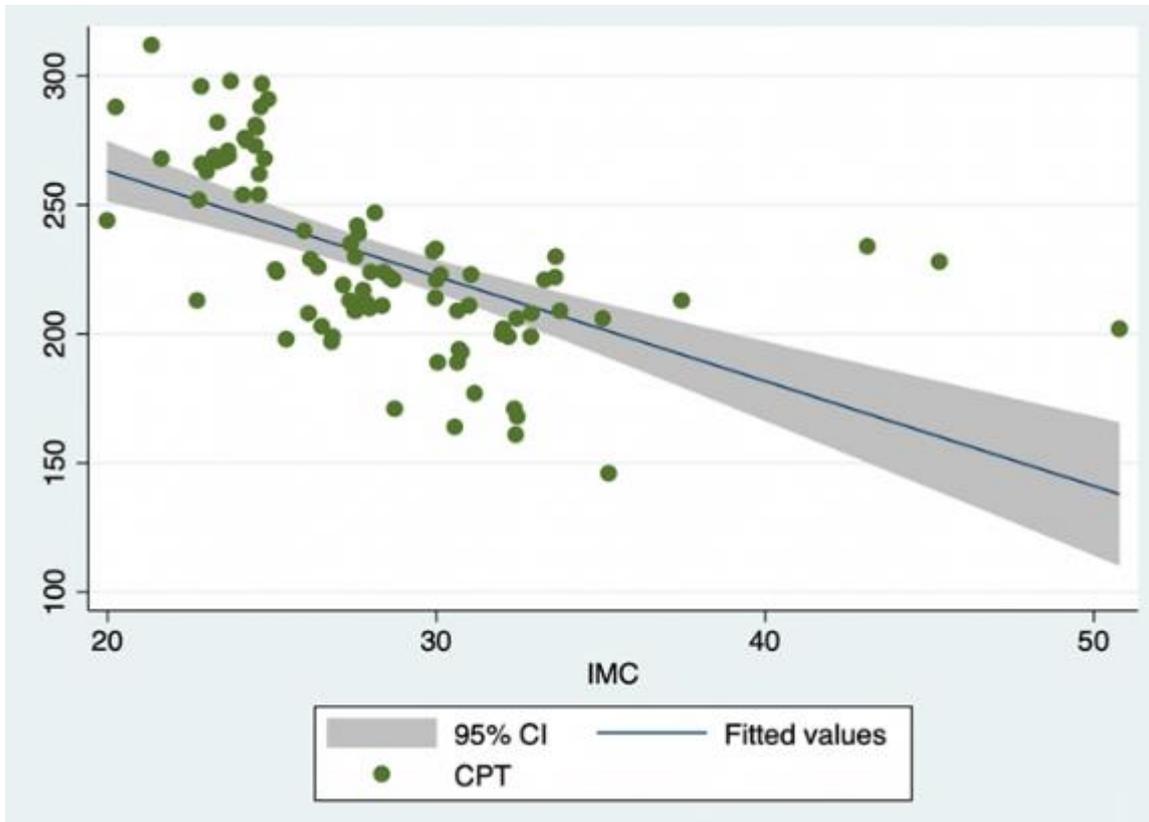


Gráfico 1: Regresión lineal del número de capilares peritubulares en función del IMC.

Como se puede apreciar se identifica una relación lineal inversa, es decir a mayor índice de masa corporal menor cantidad de capilares peritubulares. Este resultado es estadísticamente significativo ($p=0.0001$, IC95%: -5.271-2.856).

El estudio de regresión lineal simple relacionando el IMC con el promedio de PTC presenta un resultado similar, como se puede observar en el gráfico:

Distribución de promedio de capilares peritubulares según índice de masa corporal

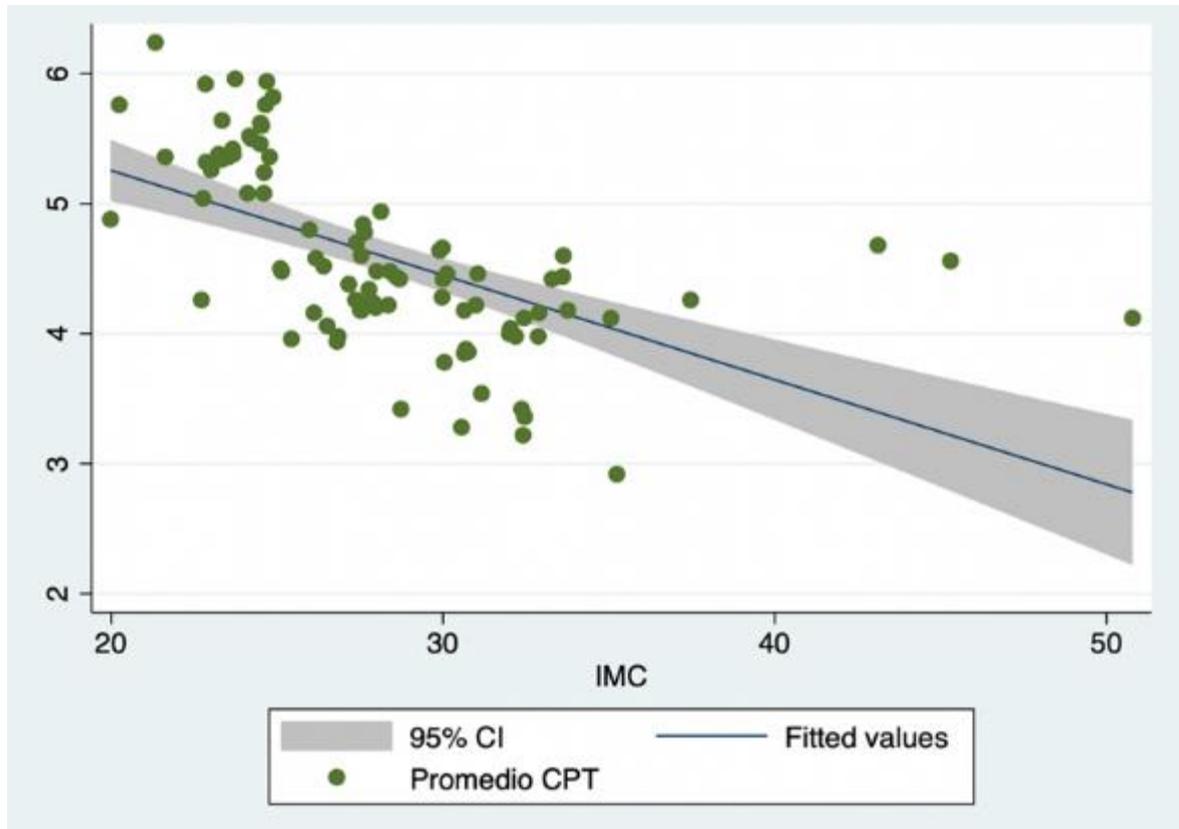


Gráfico 2: Regresión lineal del promedio del número de capilares peritubulares en función del IMC.

Mediante el análisis de regresión lineal se establece que las variables IMC y el promedio de CPT en la corteza renal de los pacientes en estudio presentan una relación lineal inversa, es decir a mayor índice de masa corporal menor será el promedio de capilares peritubulares. Este resultado es estadísticamente significativo ($p = 0.0001$, IC95%: -0.105-0.0562).

Relación del IMC con las variables género y edad

Al efectuar el mismo análisis considerando además las variables género y edad no se obtienen resultados estadísticamente significativos ($p=0.9$ y 0.21 , respectivamente).

Además, con el fin de comparar la distribución de CPT entre los tres grupos separados de acuerdo a su IMC, se efectúa la prueba de Tukey, obteniéndose los siguientes resultados:

Tramo IMC	P> t	(95% intervalo de confianza)	
Sobrepeso vs Peso normal	0.000	-65.37	-41.94
Obesidad vs Peso normal	0.000	-84.50	-60.35
Obesidad vs Sobrepeso	0.001	-30.37	-7.17

Tabla 8: Análisis de Tukey para comparación de CPT entre los tres grupos por separado en relación a su IMC.

Tramo promedio	P> t	(95% intervalo de confianza)	
Sobrepeso vs Peso normal	0.000	-1.307	-0.839
Obesidad vs Peso normal	0.000	-1.685	-1.201
Obesidad vs Sobrepeso	0.001	-0.602	-0.138

Tabla 9: Análisis de Tukey para comparación de promedios de CPT entre los tres grupos por separado en relación a su IMC.

Cómo se puede observar, existen diferencias estadísticas significativas en la distribución de PTC entre los tres grupos determinados por IMC, tanto en sus valores absolutos como en sus promedios.

Expresión de CPT mediante inmunotinción CD34 en relación con el IMC

Correlación Morfológica

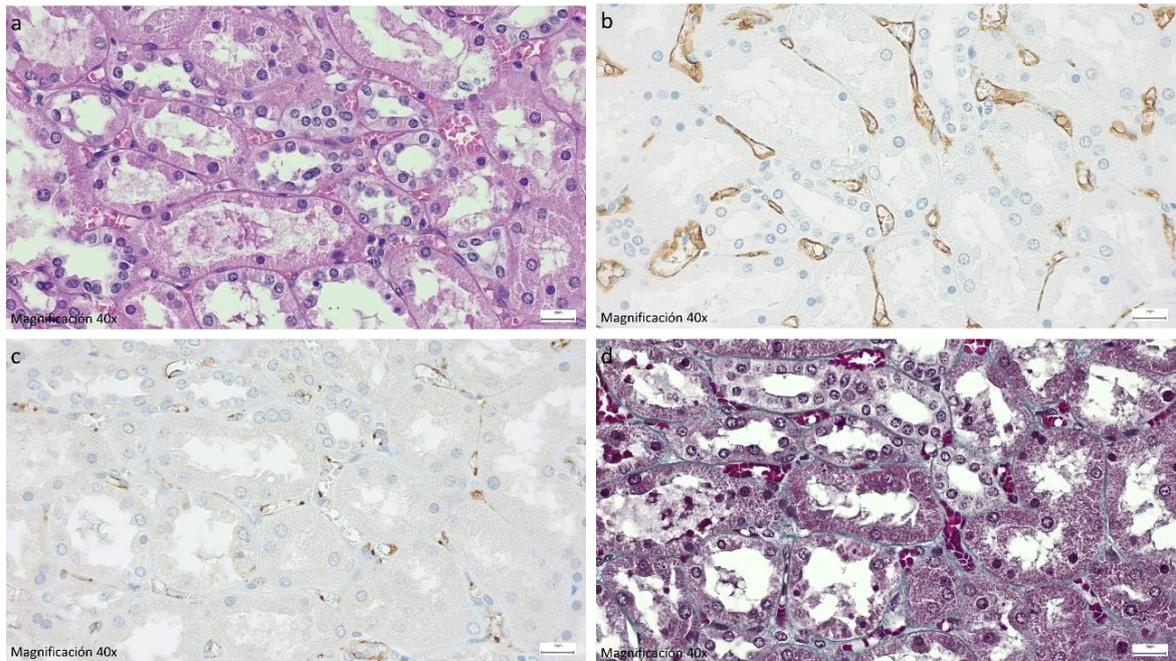


Figura 3: Correlación morfológica pacientes normopeso. En a se observa mediante tinción de HE una sección de riñón de un paciente normopeso. En b IHQ de CD34 para el marcaje de membrana y citoplasma de los CPT renales, se visualiza leve tinción de fondo en el componente tubulointersticial con mayor notoriedad de CPT. En c IHQ de CD31 para el marcaje de membrana y citoplasma de los CPT renales, se visualiza notoriamente los CPT en componente tubulointersticial. En d la tinción de Masson no se visualizan cambios crónicos asociados a fibrosis.

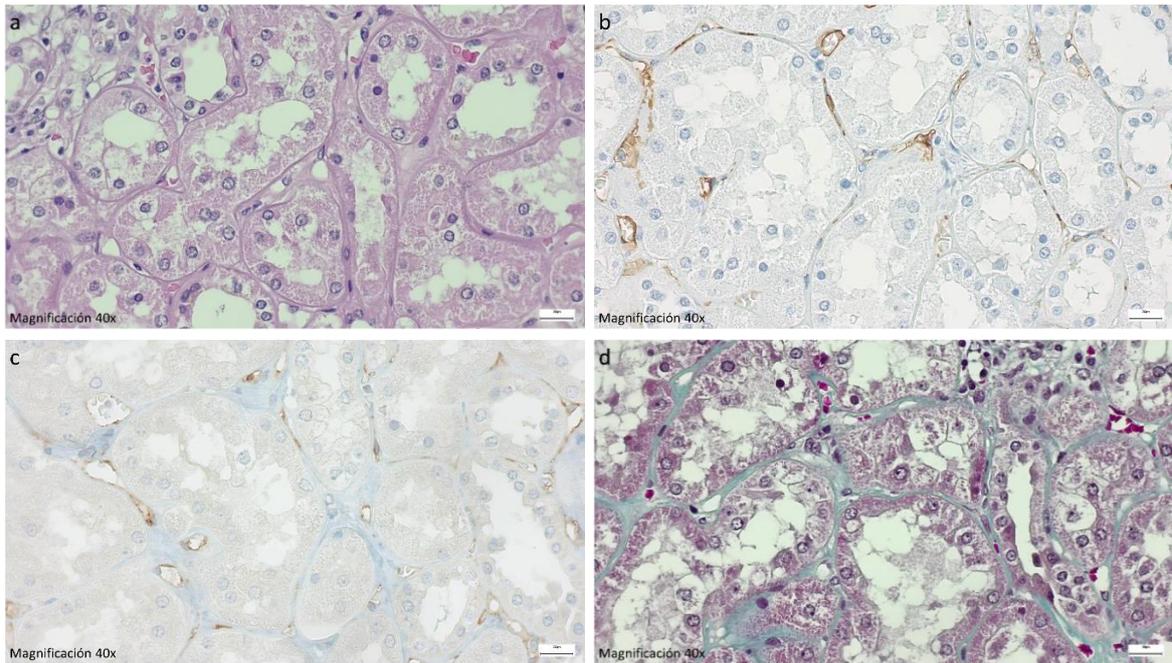


Figura 4: Correlación morfológica paciente sobrepeso. En a tinción HE, no se observa cambios morfológicos importantes a nivel de comportamiento tubulointersticial, solo leve dilatación tubular. En b IHQ de CD34 para marcaje de membrana y citoplasma de CPT renales, se observa leve tinción de fondo en el componente tubulointersticial con mayor notoriedad de los CPT. En c IHQ de CD31 para el marcaje de membrana y citoplasma de los CPT renales, se visualiza notoriamente los CPT en componente tubulointersticial. En d la tinción de Masson no se visualizan cambios crónicos asociados a fibrosis.

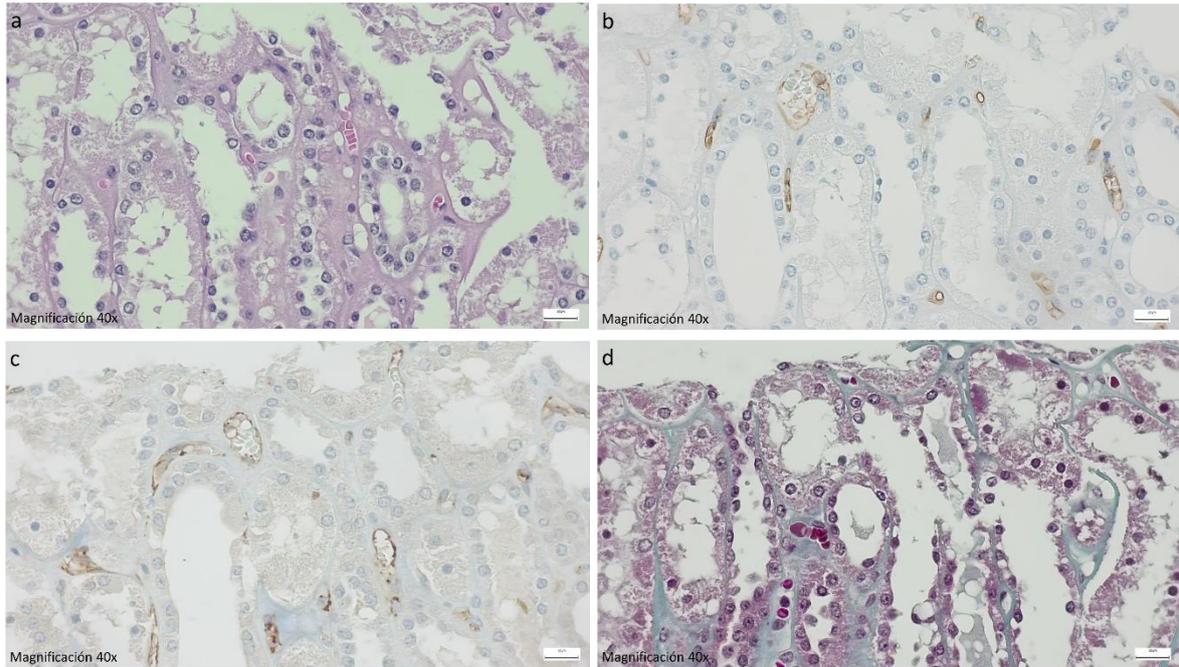


Figura 5: Correlación morfológica paciente obeso. En a tinción HE, no se observa cambios morfológicos importantes a nivel de comportamiento tubulointersticial, solo leve dilatación tubular y adelgazamiento de las paredes epiteliales de los túbulos contorneados, en compartimiento glomerular no existen cambios destacables. En b IHQ de CD34 para marcaje de membrana y citoplasma de CPT renales, se observa leve tinción de fondo en el componente tubulointersticial con mayor notoriedad de los CPT. En c IHQ de CD31 para el marcaje de membrana y citoplasma de los CPT renales, se visualiza notoriamente los CPT en componente tubulointersticial. En d la tinción de Masson no se visualizan cambios crónicos asociados a fibrosis.

Comparación entre inmunotinción CD31 y CD34 en CPT renales

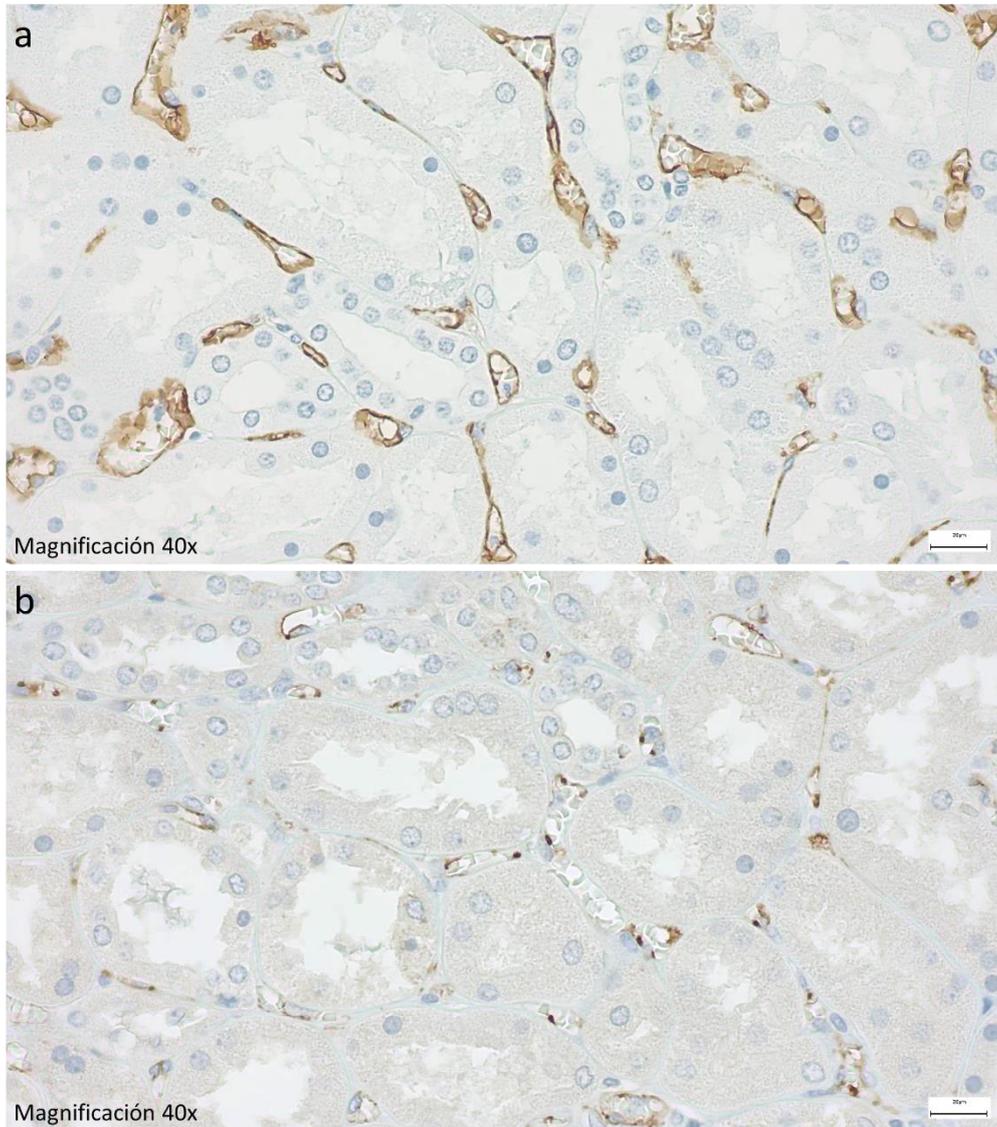


Figura 6: Comparación de inmunotinción en pacientes normopeso. En a IHQ de CD34 para el marcaje de membrana y citoplasma de los CPT renales, se visualiza notoriamente los CPT en componente tubulointersticial. En b IHQ CD31 para marcaje de membrana y citoplasma de CPT renales, se observa leve tinción de fondo en el componente tubulointersticial con mayor notoriedad de los CPT.

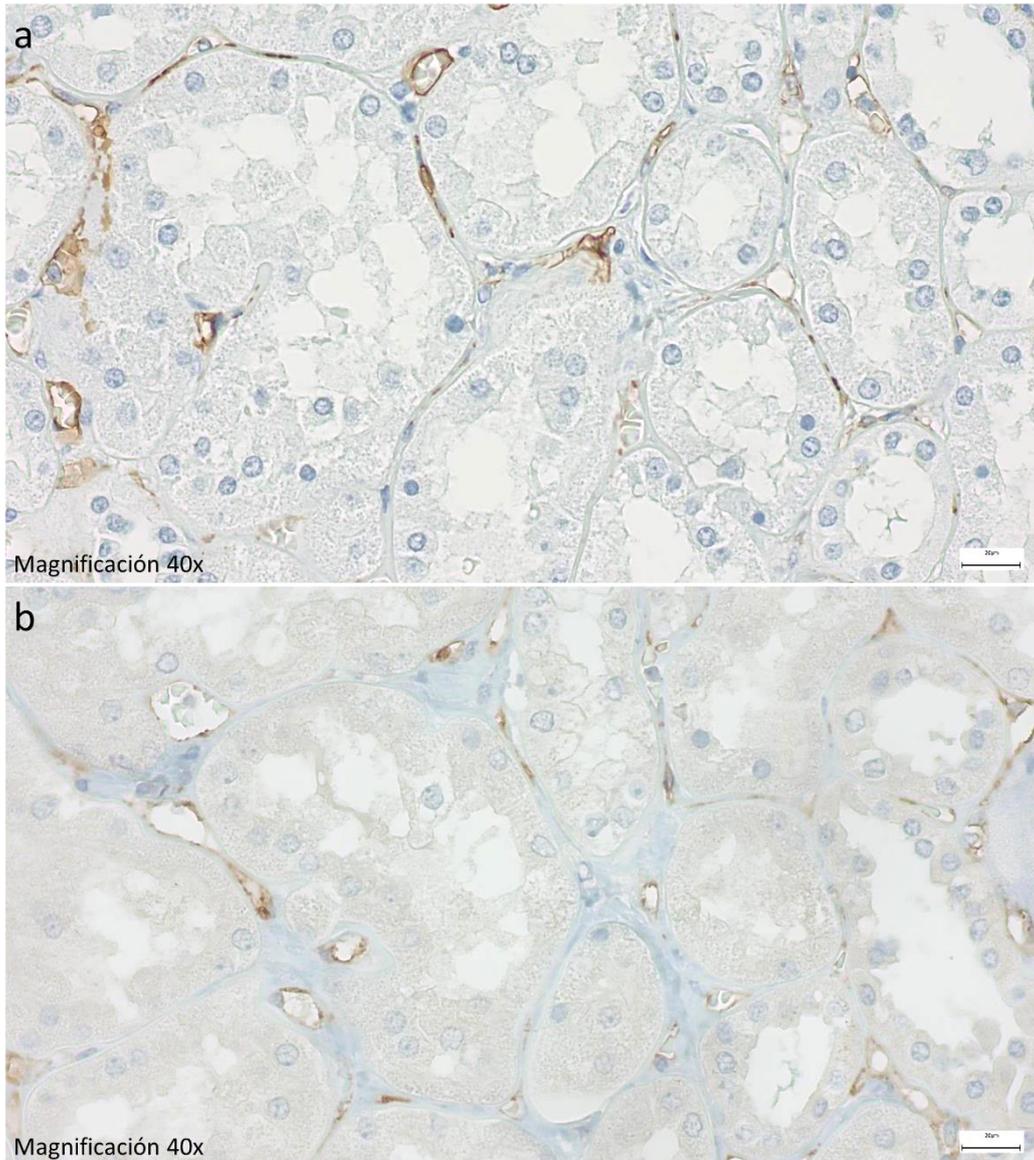


Figura 7: Comparación de inmunotinción en pacientes sobrepeso. En a IHQ de CD34 para el marcaje de membrana y citoplasma de los CPT renales, se visualiza notoriamente los CPT en componente tubulointersticial. En b IHQ CD31 para marcaje de membrana y citoplasma de CPT renales, se observa leve tinción de fondo en el componente tubulointersticial con mayor notoriedad de los CPT.

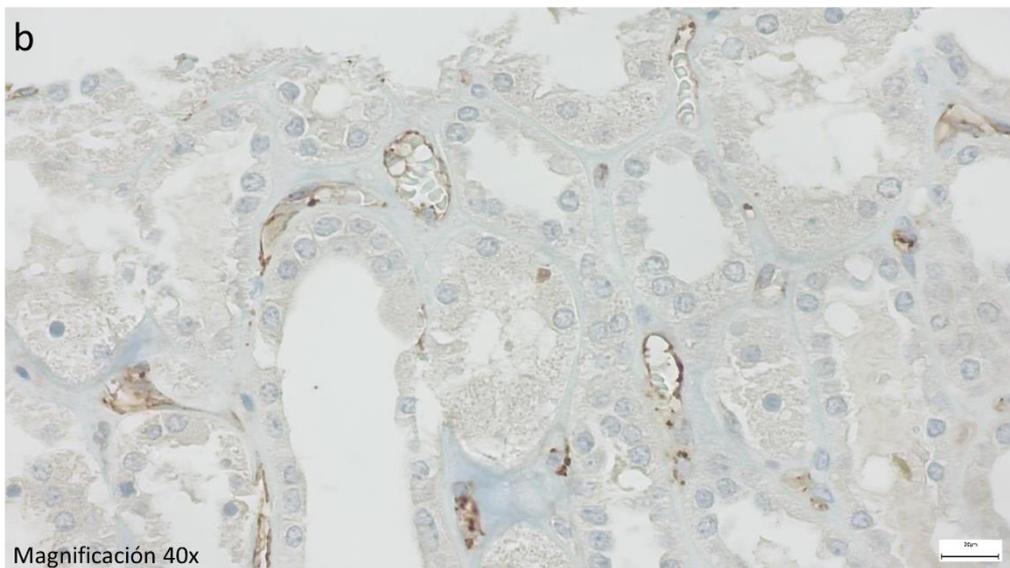
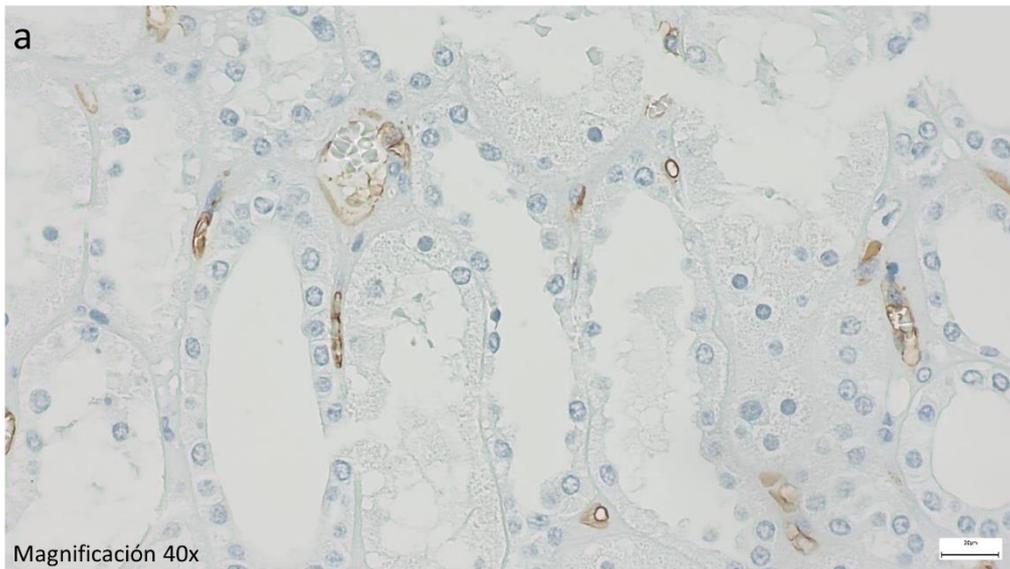


Figura 8: Comparación de inmunotinción en pacientes obesos. En a IHQ de CD34 para el marcaje de membrana y citoplasma de los CPT renales, se visualiza notoriamente los CPT en componente tubulointersticial. En b IHQ CD31 para marcaje de membrana y citoplasma de CPT renales, se observa leve tinción de fondo en el componente tubulointersticial con mayor notoriedad de los CPT.

Comparación de cantidad de CPT en los grupos de estudio normopeso, sobrepeso y obeso

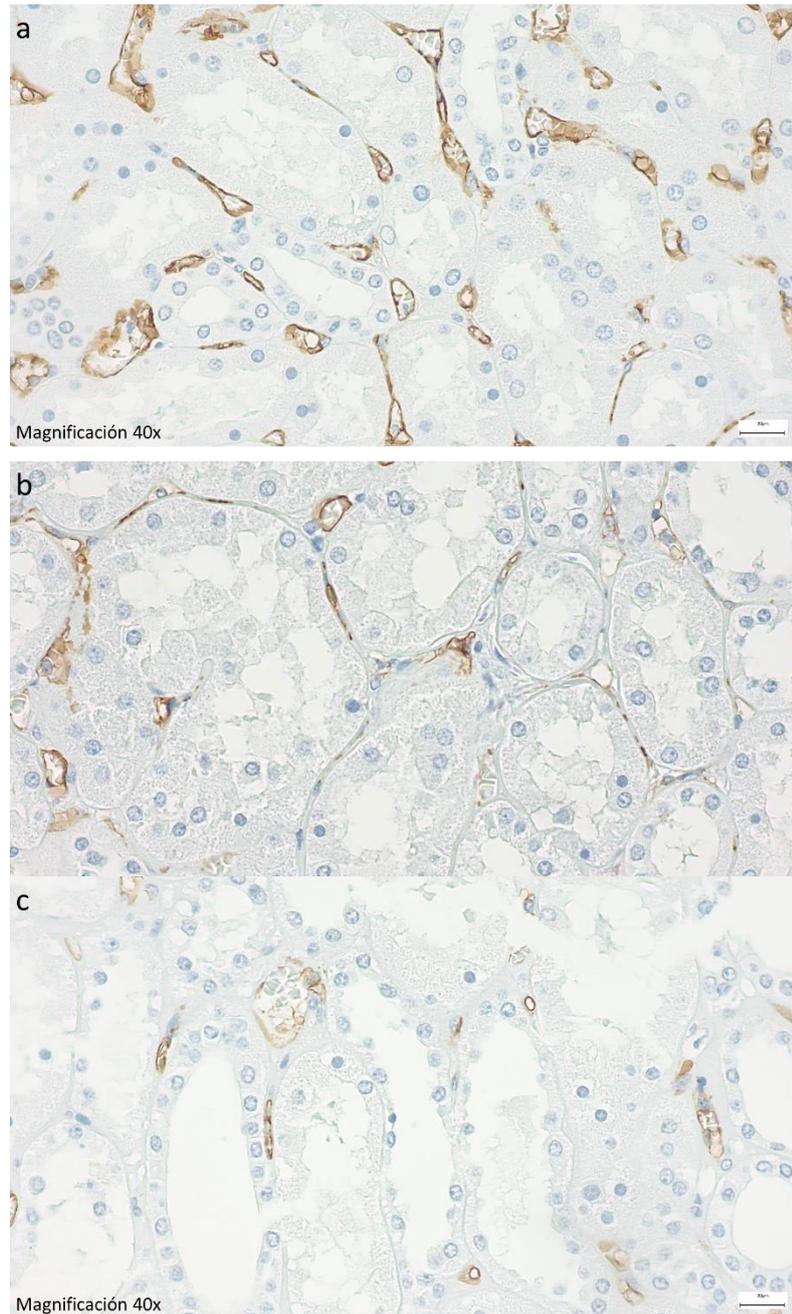


Figura 9: Comparación de CPT en grupo estudio con inmunotinción de CD34. En **a** corresponde a grupo de muestras de paciente normopeso, **b** a sobrepeso y **c** a obeso.

DISCUSIÓN

- **Comparación entre los grupos estudio asociados al IMC respecto a la cantidad de CPT**

En el análisis realizado a la cantidad de CPT en la corteza renal de los grupos estudio se demostró diferencias entre pacientes normopesos, con sobrepeso y obesidad. Estos resultados son coherentes con estudios realizados anteriormente, donde se evaluó los efectos inflamatorios generados por la presencia prolongada de tejido adiposo en el organismo y abdominal, destacando la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona local (RAAS), que contribuye al aumento de la actividad del SNS, la retención de sodio y expansión de volumen que puede llevar a enfermedad renal progresiva (5). Por otra parte, también hay un aumento en el flujo de ácidos grasos libres (AGL) que puede llevar a la síntesis de citoquinas proinflamatorias, tales como proteína C reactiva, TNF- α , resistina e IL 6 y 18 (6). La presencia de este tejido adiposo visceral está relacionada con un estado inflamatorio crónico de bajo grado, en el cual se asocia la presencia de macrófagos productores de mediadores proinflamatorios estableciendo una relación recíproca con los adipocitos que liberan ácidos grasos estimulando la liberación de TNF- α y producción de IL-6 conllevando la amplificación de respuesta inflamatoria en tejido adiposo y renal (10). Otro mecanismo asociado a un estado proinflamatorio es el estrés oxidativo producto de la obesidad, dado por el desequilibrio entre la producción de ROS y déficit de factores antioxidantes (13). Estos elementos pueden inducir a neovascularización y generar un desequilibrio entre los factores protectores endoteliales, lo cual podría ser una explicación de la mayor cantidad de CPT encontrados en pacientes normopeso, dado que estos presentan una menor relación de tejido adiposo en el organismo que los demás grupos de muestras de pacientes sobrepeso y obeso. Tras lo anterior, se destaca que los capilares renales son fuente y blanco de factores circulantes de inflamación, donde la exposición a largo plazo disminuye la producción de moléculas protectoras como la trombosmodulina, esto provoca la estimulación de VEGF-A, la cual permitiría la permeabilidad endotelial y alteración de la función de la barrera de los capilares

peritubulares, y en el tiempo, esto es seguido con apoptosis de células endoteliales, sin antes pasar por un proceso de cambios estructurales, generación de caveolas, vesículas lo cual da la formación de rarefacción de capilares peritubulares (PTC)(8, 14). Esta apoptosis endotelial es favorecida por la privación de VEGF- A por macrófagos inflamatorios que infiltran y secretan citoquinas proinflamatorias como IL-1 β , IL-6 y TNF- α (16). Estas células endoteliales se vuelven procoagulantes y pro-adhesivas pudiendo llevar a una oclusión capilar por trombosis y mayor inflamación por extravasación de leucocitos. No obstante, al evaluar la fibrosis en las muestras mediante la técnica histoquímica tricrómico de Masson, no presentaron un cambio que representará un daño crónico, aunque las muestras si presentaban dilatación de espacios lumbinales de túbulo contorneados y capilares peritubulares, siendo mayor en el grupo estudio de pacientes obesos. Estos mecanismos anteriormente mencionados establecen una relación entre la obesidad y la repercusión que puede tener en los capilares peritubulares de la corteza renal, pudiendo explicar la razón de la diferencia en el número de estos en los tres grupos de estudio, describiendo un efecto progresivo a medida que aumenta el tejido adiposo en el organismo, es decir, a mayor obesidad menor cantidad de capilares peritubulares en la corteza renal.

- **El efecto de la edad en los grupos estudio asociados a la cantidad de CTP**

Es sabido que el envejecimiento trae consigo una serie de patologías crónicas que producen una afección multisistémica en el organismo, y en el caso de la función del riñón se ha comprobado que existe una disminución paulatina de su función (21), sin embargo, el envejecimiento no condiciona, de forma inexorable, la pérdida de función renal. Se ha descubierto que el mecanismo patogénico de la ERC está más relacionado con el estrés oxidativo, senescencia celular, inflamación crónica y depresión podocitaria (22). El presente estudio no demuestra influencia de la edad en la cantidad de capilares peritubulares de los grupos de estudio, lo cual no descarta que existan otros mecanismos que expliquen la declinación de la función renal.

- **Efecto del género biológico en los grupos estudio asociados a la cantidad de CPT**

Los datos obtenidos de este trabajo no demuestran relación entre género biológico y cantidad de CPT renales de los pacientes en estudio, lo cual concuerda con la evidencia publicada, donde no se describen elementos que apoyen dicha asociación.

- **Diferencia en la inmunotinción de CD31 y CD34 en muestras estudiadas**

Si bien ambos marcadores inmunohistoquímicos se han utilizado en estudios anteriores para la evaluación de neoplasias de origen hematopoyético en el riñón (23), en este estudio resalta la diferencia de marcaje entre ambas, siendo de mayor sensibilidad la inmunotinción de CD34, que permite una distinción nítida de las células de origen hematopoyético del resto del parénquima renal. En consecuencia, esta inmunotinción fue elegida para realizar la cuantificación de los CPT de los diferentes grupos de estudio. Por otra parte, CD31 presenta una clara diferencia del componente hematopoyético del resto del tejido renal, exhibe una débil tinción de fondo en los demás grupos celulares, como es el citoplasma de las células epiteliales que conforman los túbulos intersticiales de la corteza renal. Este aspecto puede estar dado por los diferentes protocolos asociados a la aplicación de estos anticuerpos primarios.

Tomando en consideración el objetivo de estudio, el haber realizado la inmunotinción de CD31 y CD34 es coherente, dado que a través de la revisión de ambos confirma que lo observado realmente corresponde a capilares peritubulares, donde CD34 demuestra ser más preciso para su cuantificación.

Limitaciones

Las limitaciones asociadas a este trabajo están demarcadas por el síndrome metabólico, dado que es un grupo de factores de riesgo cardiovascular que incluye la insulinoresistencia, dislipidemia e hipertensión que pueden fomentar al desarrollo de enfermedades renales crónicas junto a otras afecciones cardiovasculares (6). Existen al día de hoy varias discusiones al respecto de la patogenia que produce el síndrome metabólico, de las cuales se han identificado que las principales vías perjudiciales son el

aumento de la expansión del tejido adiposo y la insulinoresistencia (5). En estudios donde se caracterizó el SM en al menos 3 rasgos característicos (obesidad, diabetes e hipertensión), se realizaron ajustes por diabetes e hipertensión, demostrando que la obesidad siguió siendo un factor de riesgo independiente que contribuyó al desarrollo de ERC, definida como la caída de la función renal, estudio de seguimiento de 9 años (5).

Como se relató anteriormente, la expresión de tejido adiposo promueve la inflamación crónica y el estrés oxidativo que exacerba la insuficiencia renal, mediante eventos de disfunción endotelial, activación del sistema RAA y el desequilibrio de la adenosina afectando al riñón. Es por esto que, en la presente investigación, fueron descartados los pacientes que se declararon con diabetes mellitus (DM), dado que es un factor que exacerba los mecanismos proinflamatorios (10). No obstante, los objetivos de estudio y la bibliografía encontrada actualmente no permitieron separar de forma independiente el síndrome metabólico y la obesidad.

- **Aspectos técnicos del procedimiento experimental**

El Tissue Microarray o micromatrices de tejido es de gran utilidad y posee varias ventajas para la realización de estudios en un periodo de tiempo acotado. Los principales beneficios son la rapidez para realizar el procedimiento de numerosas muestras de forma simultáneamente (pudiendo albergar un molde de parafina alrededor de 100 muestras), la estandarización de técnicas moleculares (hibridación in situ, IHQ) y observación acotada de áreas de tejido. Respecto al área de anatomía patológica puede resultar de utilidad para control de calidad, evaluar la sensibilidad y especificidad de los anticuerpos, métodos de fijación de tejidos, optimizar protocolos de tinción, e incluso puede ayudar a la interpretación de ensayos inmunohistoquímicos (24). Todos estos aspectos no solo tienen cabida en el área clínica, sino también para el área de la investigación, esencial para nuevos conocimientos (25). Para este estudio exploratorio resultó esencial el uso de esta técnica debido al limitado tiempo que se disponía para los objetivos planteados. Otro aspecto relevante a discutir es la elección de longitud diametral del núcleo de tejido a extraer, dado que al escoger un diámetro pequeño (1 mm) se podría perder contexto

morfológico dificultando el análisis y cuantificación posterior, no logrando cumplir con los criterios ya establecidos (en corteza renal debe haber como mínimo 10 glomérulos, y por cada campo debe haber como mínimo 10 túbulos intersticiales), por consiguiente, si hubiese sido un molde pequeño, por cada molde de parafina podría evaluarse más cantidad de muestras, pero no era lo recomendado para el conteo de CPT en corteza renal. Es válido considerar que las ventajas y desventajas estarán en relación al objetivo de estudio. Desde el punto de vista económico la técnica de TMA resulta útil ya que permite minimizar gastos en reactivos utilizando volúmenes muy pequeños para aplicar en diversas técnicas. En relación a lo anterior, es interesante considerar la cantidad de volumen de anticuerpo utilizado para 90 pacientes partícipes del estudio. Para validar las técnicas, cada protocolo en anatomía patológica requiere controles de calidad, y el TMA se alinea también con esta necesidad, permitiendo la inclusión de controles dentro del bloque destinado para las mientras que serán sometidas a análisis. Existe gran variedad de controles a utilizar como tejidos normales o adyacentes a tumores, pueden ser tejidos de otra especie, de líneas celulares, de otros bloques de células o incluso de material no tisular, todo dependiendo del objetivo de estudio (26). En el presente estudio, la elección del control fue por recomendación del servicio de anatomía patológica de la Universidad de Chile (HCUCH), resultando de gran utilidad para confirmar la correcta inmunotinción, la cual corresponde a capilares peritubulares de la corteza renal (anexo 6).

- **Proyecciones**

Este estudio comparativo entre grupos de pacientes con diferentes IMC relacionados con la cantidad de capilares peritubulares en la corteza renal abre las puertas para realización a la investigación temprana de la generación de ERC ligados a la obesidad, siendo esta última un problema de salud pública globalizado que tiene gran relevancia debido a las complicaciones de quien la padece. También permite colocar en perspectiva la independencia que puede tener la obesidad en las consecuencias del organismo por sobre el síndrome metabólico y otros factores, tales como el género biológico y la edad.

CONCLUSIÓN

- Se logra comprobar que diferencias en cantidad de CPT en la corteza renal de los tres grupos estudiados, es decir, entre el grupo normopeso, sobrepeso y obeso. Mediante la técnica inmunohistoquímica se marcaron los CPT utilizando anticuerpos primarios para CD31 y CD34, los cuales tienen un patrón de marcaje citoplasmático y de membrana bien nítido en los resultados, pero con diferencias en la especificidad y sensibilidad. Durante la selección del área de interés se tuvo la precaución de escoger zonas que tuvieran la arquitectura histológica normal con el objetivo de que las muestras fueran comparables. Tras evaluar las técnicas histológicas de HE y de tricrómico de Masson se reafirma este punto.
- La diferencia entre los grupos de estudio asemeja un cambio de forma progresiva, donde las muestras de los pacientes normopeso presentan mayor cantidad de CPT que las muestras de pacientes sobrepesos, y estos exhiben mayor cantidad que los obesos, confirmando que la cantidad de capilares peritubulares disminuye a medida que aumenta la expansión del tejido adiposo. Además, mediante el uso de la técnica histoquímica HE y tricrómico de Masson, se comprobó morfológicamente que no hay cambios crónicos en la corteza renal, por ende, la falla de capilares peritubulares en la corteza renal de los pacientes en estudio se produce antes de la fibrosis intersticial.
- Respecto a la edad y el género biológico de la muestra de pacientes evaluados, no ejercen influencia en las diferencias de los grupos estudio de capilares peritubulares.
- La realización de las técnicas inmunohistoquímicas para CD31 y CD34 son coherentes, ya que permite la confirmación mediante un análisis observacional que marcan eficientemente los capilares peritubulares de la corteza renal asociados a las muestras en estudio. Respecto a su comparación en la calidad de su marcaje, tomando como factores la sensibilidad de la inmunotinción para las membranas y citoplasmas de las células endoteliales, se recomienda para estudios posteriores

que tengan relación con el conteo de CPT en la corteza renal el marcador CD34 , por su mayor sensibilidad y nitidez en la observación mediante el microscopio óptico de luz.

- Se presentan ciertas limitaciones respecto al estudio. En primer lugar, la dificultad para separar de forma independiente el síndrome metabólico de la obesidad, si bien se realizó un estudio bibliográfico, estas no fueron totalmente determinantes. Por otro lado, los objetivos de estudio no presentan el propósito de confirmar la diferencia, para esto es necesario otra investigación referente que permita la independencia de estos factores. La segunda limitante es el manejo de la declaración de los pacientes respecto a las patologías, dado que existe la posibilidad de que no se declararán todas las enfermedades que pudieran presentar los sujetos a quienes se utilizarán sus muestras.
- Gracias a la presente investigación es posible construir un modelo de enfermedad asociado al efecto que genera la obesidad en la funcionalidad del riñón:

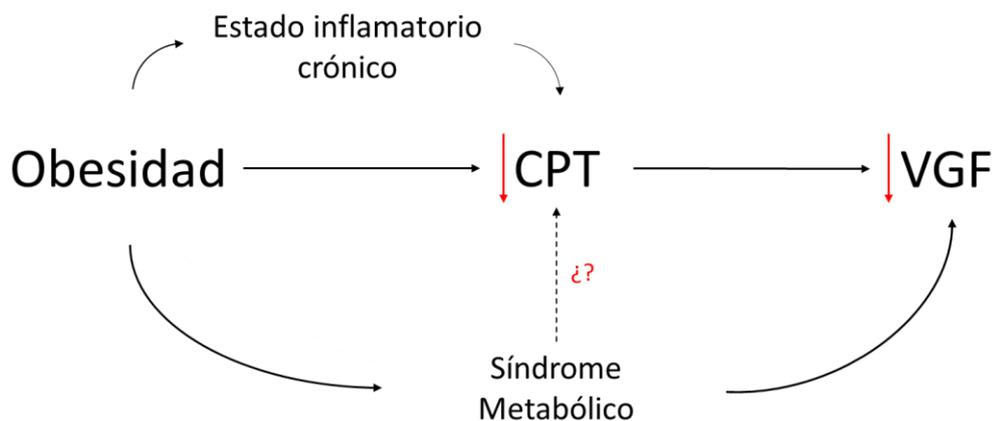


Figura 9: Grafo acíclico discontinuo de modelo de enfermedad asociado a la afección de la obesidad sobre la función renal. CPT: Capilares peritubulares; VGF: Velocidad de filtración glomerular.

Este grafo acíclico discontinuo permite expresar lo concluido en la investigación, donde el aumento del tejido adiposo, es decir, la obesidad conlleva una disminución de los capilares peritubulares posiblemente mediante la generación de un estado

inflamatorio crónico, que en consecuencia puede repercutir en la funcionalidad renal (disminución de la VGF).

Por otra parte, la obesidad también podría incidir en VGF a través del síndrome metabólico (SM), el cual puede operar como un eventual factor intermediario en tal afección explicando, al menos en parte, los hallazgos descritos. Como se describe anteriormente, una de las limitaciones de este estudio es la de no poder objetivar esta influencia.

Referencias bibliográficas

1. *Obesidad y sobrepeso* . (Dakota del Norte). Quién.int. Recuperado el 9 de noviembre de 2022, de <https://www.who.int/es/news-room/factsheets/detail/obesity-and-overweight>
2. Cavalcanti, OB, Barquera, S., et al, Obesity Atlas (2022). Sochob.Cl. <https://www.sochob.cl/web1/wp-content/uploads/2022/03/World-Obesity-Atlas-2022.pdf>
3. Ministerio de Salud. Análisis de Situación de Salud desde la perspectiva epidemiológica. Santiago, MINSAL 2018.
4. Mapa Nutricional Junaeb 2020 detecta el profundo impacto de la pandemia en el aumento de la obesidad. (2021, March 25). JUNAEB. <https://www.junaeb.cl/archivos/63811>
5. El-Atat FA, Stas SN, McFarlane SI, Sowers JR. La relación entre hiperinsulinemia, hipertensión y enfermedad renal progresiva. *J Am Soc Nefrol.* 2004 noviembre;15(11):2816-27. doi: 10.1097/01.ASN.0000133698.80390.37. PMID: 15504934.
6. Fernández-Ruiz Virginia E., Paniagua-Urbano José A., Solé-Agustí María, Ruiz-Sánchez Alfonso, Gómez-Marín José. Prevalencia de síndrome metabólico y riesgo cardiovascular en un área urbana de Murcia. *Nutr. Hosp.* [Internet]. 2014 nov [citado 2022 Nov 09]; 30(5): 1077-1083. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0212-16112014001200012&lng=es. <https://dx.doi.org/10.3305/nh.2014.30.5.7681>.
7. Hidalgo V. Sol, Soto I. Nés. Unidad 7: Diabetes Mellitus. Tema 7.2: Síndrome metabólico y prevención de diabetes. Medichi, red de aprendizaje digital. Facultad de Medicina de la Universidad de Chile.
8. Zhang X, Lerman LO. El síndrome metabólico y la enfermedad renal crónica. 2017 mayo; 183:14-25. DOI: 10.1016/j.trsl.2016.12.004. Epub 2016 diciembre 9. PMID: 28025032; PMCID: PMC5393937.

9. El-Atat FA, Stas SN, McFarlane SI, Sowers JR. La relación entre hiperinsulinemia, hipertensión y enfermedad renal progresiva. *J Am Soc Nefrol.* 2004 Noviembre;15(11):2816-27. doi: 10.1097/01.ASN.0000133698.80390.37. PMID: 15504934. Tsuboi N, Okabayashi Y, Shimizu A, Yokoo T. The Renal Pathology of Obesity. *Kidney Int Rep.* 2017 Jan 23;2(2):251-260. doi: 10.1016/j.ekir.2017.01.007. PMID: 29142961; PMCID: PMC5678647.
10. Hunley TE, Ma LJ, Kon V. Alcance y mecanismos de la enfermedad renal relacionada con la obesidad. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2010 mayo;19(3):227-34. doi: 10.1097/MNH.0b013e3283374c09. PMID: 20134323; PMCID: PMC2897176.
11. Sethi S, D'Agati VD, Nast CC, Fogo AB, De Zeeuw D, Glassock RJ, Fervenza FC, Seshan SV, Rule A, Racusen LC, Radhakrishnan J, Winearls CG, Appel GB, Bajema IM, Chang A, Colvin RB, Cook HT, Hariharan S, Herrera Hernandez LP, Kambham N, Mengel M, Nath KA, Rennke HG, Ronco P, Rovin BH, Haas M. Una propuesta para la clasificación estandarizada de los cambios crónicos en muestras nativas de biopsia renal. 2017 abril;91(4):787-789. DOI: 10.1016/j.kint.2017.01.002. PMID: 28314581.
12. Manabe I. Chronic inflammation links cardiovascular, metabolic, and renal disease. *Circulation Journal.* 2011 noviembre; 75(2739-2748).
13. Tang J, Yan H, Zhuang S. Inflamación y estrés oxidativo en la glomerulopatía relacionada con la obesidad. *Int J Nefrol.* 2012; 2012:608397. doi: 10.1155/2012/608397. Epub 2012 Abr 5. PMID: 22567283; PMCID: PMC3332212.
14. Hohenstein B, Hugo C. Capilares peritubulares: una pieza importante del rompecabezas. *Kidney Int.* 2017 Jan;91(1):9-11. doi: 10.1016/j.kint.2016.08.033. PMID: 28003093.
15. Kida Y, Tchoo BN, Yamaguchi I. Rarefacción capilar peritubular: una nueva diana terapéutica en la enfermedad renal crónica. *Pediatr Nefrol.* 2014 marzo;29(3):333-

42. DOI: 10.1007/S00467-013-2430-Y. Epub 2013 Marzo 10. PMID: 23475077; PMCID: PMC3726573.
16. Kida Y. Rarefacción capilar peritubular: un regulador subestimado de la progresión de la ERC. 2020 Noviembre 4;21(21):8255. DOI: 10.3390/IJMS21218255. PMID: 33158122; PMCID: PMC7662781.
17. Alles JU, et al. Caracterización inmunohistoquímica e inmunoquímica de un nuevo antígeno específico de células endoteliales. *J Histoquímica Citoquímica*. 1986; 34:209-14
18. De Young BR, et al. CD31 immunoreactivity in carcinomas and mesotheliomas (Inmunoreactividad CD1998 en carcinomas y mesoteliomas). 110; 374:7
19. Li Liu , Guo-Ping Shi, CD31: beyond a marker for endothelial cells , *Cardiovascular Research*, Volume 94, Issue 1, 1 April 2012, Pages 3–5
20. Torlakovic G, Langholm R, Torlakovic E. Inmunotinción CD34 / QBEND10 en la biopsia de trepano de médula ósea: un estudio de células mononucleares CD34-positivas y megacariocitos. 2002 Julio;126(7):823-8
21. Arriola-Hernández Maite, at al. Prevalencia de insuficiencia renal crónica y factores asociados en el “anciano joven”. *Rev Clin Med Fam [Internet]*. 2017 Jun [citado 2023 Jul 21] ; 10(2): 78-85.
22. Otero A, et al. Envejecimiento y función renal. Mecanismo de predicción y progresión. *Nefrología*, Volumen 2, número 5, octubre 2011, páginas 1-139. DOI: 10.3265/NefrologiaSuplementoExtraordinario.pre2011. Jul.11085.
23. Zhou J, Yang X, Zhou L, Zhao M, Wang C. Hemangioma anastomosante encontrado incidentalmente en el riñón o la glándula suprarrenal: estudio de 10 casos y revisión de la literatura. *Urol J*. 2020 abril 13;17(6)
24. Stein JE. Applying Tissue Microarrays in Tumor Immunohistochemistry Studies. *Revista española de patología*. 2006 abril; 39, 11-17
25. Braunschweig T, Chung JY, Hewitt SM. Microarrays de tejidos: cerrando la brecha entre la investigación y la clínica. *Experto Rev Proteomics*. 2005 junio;2(3):325-36.

26. Rimm DL. Cancer and Leukemia Group B Pathology Committee, Guidelines for Tissue Microarray Construction, Representing Multicenter Prospective Clinical Trial Tissues. *Journal of clinical oncology*. 2011 junio.

Anexos

Anexo 1: Modelo de esquema de coordenadas de TMA

Registro de construcción de TMA								
Código TMA: Normopeso Código Proyecto: Tesis conteo CPT								
	1	2	3	4	5	6	7	8
A	Control	1	2	3	4	5	6	7
B	8	9	10	11	12	13	14	15
C	16	17	18	19	20	21	22	23
D	24	25	26	27	28	29	30	31
E	32	33	34	35	36	37	38	39

Esta tabla permite representar como se anonimizaron los datos de los pacientes en el presente estudio, de modo que el número de identificación de biopsia fue sustituido por una correlación numérica, que además facilita el análisis de datos mediante el programa estadístico STATA.

Anexo 2: Protocolo de construcción de TMA

1. Determinación de la zona de la muestra FFPE a extraer
 - a. Colocó placa HE elegida y el bloque con tejido FFPE que corresponde a dicha placa bajo el microscopio
 - b. Buscó zona que representará tejido de la corteza renal
 - c. Marcó para posteriormente proceder con la extracción de la zona
2. Construcción de molde de parafina
 - a. Ubicó molde de silicona Quick ray en una estufa seco durante 30 minutos a una temperatura de 60° C para precalentar el molde de silicona
 - b. Agregó lentamente parafina líquida (con temperatura de fusión de 60°C) al interior del molde de silicona hasta que la parte superior de las barras de silicona interiores estén completamente sumergidas.
 - c. Colocó un casete embebido y rotuló sobre el molde de silicona, en el lado donde se incorporó la parafina líquida
 - d. Dispersó suficiente parafina líquida al interior del casete de embebido

- e. Solidifica el casete de embebido y el molde de silicona a 4°C durante 30 minutos
 - f. Separó el molde de silicona lentamente y con cuidado desde el casete de embebido
 - g. Recortó exceso de parafina alrededor de la periferia del bloque generado
3. Extracción del tejido marcado FFPE mediante el uso de la aguja del perforador
- a. Ubicó tejido FFPE marcado en un mesón estable, previamente limpiado
 - b. Ingresó la aguja de 3 mm al perforador
 - c. Sostuvo el perforador firmemente en su mano e introdujo la aguja de manera perpendicular en la zona marcada del tejido FFPE. Realizó punción de forma lenta y con una profundidad máxima de 5 mm ingresando la aguja en su totalidad.
 - d. Eliminó el exceso de parafina con corte longitudinal
4. Incorporación de la muestra en el bloque de parafina para TMA
- a. El tejido extraído anteriormente, se mantiene al interior de la aguja del perforador y mediante esta se incorpora dentro de los agujeros del bloque de parafina (Considerar que se debe identificar correctamente qué muestra se ubica en cada agujero según el mapa de registro de construcción del TMA)
 - b. Dejó el bloque de parafina con las muestras incorporadas sobre el plato de vidrio del horno, con el lado del bloque de parafina tocando el vidrio. Incubó por 2 horas con 10 minutos.
 - c. Posteriormente dejó bloque en refrigeración a 4 °C
5. Corte de bloque parafina con muestras ya incorporadas

Anexo 3: Protocolo inmunotinción de CD31 y CD34

Protocolos realizados

Inmunotinción de CD31

1. Incubación
 - a. Calentó el portaobjetos a 65°C, e incubó 32 minutos.
2. Desparafinación
 - a. Calentó previamente a 72°C desde la temperatura ambiente
3. Acondicionador celular
 - a. Usó ULTRA Conditioner #1
 - i. Calentó el portaobjetos a 95°C, e incubó a 8 minutos.
 - ii. 20 minutos en ULTRA CC1
 - iii. 36 minutos en ULTRA CC1
 - iv. 52 minutos en ULTRA CC1
 - v. 64 minutos en ULTRA CC1
 - vi. 76 minutos de ULTRA CC1
 - vii. 92 minutos en ULTRA CC1
4. Incubación con anticuerpo CD31
 - a. Aplicó una gota de PREP KIT 68 (anticuerpo), aplicó coverslip e incubó por 1 hora 16 minutos.
5. Contratinción
 - a. Aplicó una gota de HEMATOXILIN (contratinción), aplicó coverslip e incubó 16 minutos
 - b. Aplicó post-contratación BLUING REAGENT (post contratinción), aplicó coverslip e incubó por 8 min.
6. Deshidratación y montaje
 - a. Lavó extensamente en agua corriente
 - b. Sumergió en batería de deshidratación y aclaramiento
 - i. 1x alcohol 70°

- ii. 2x alcohol 95°
 - iii. 3x Limoneno
 - c. Se montó entellán.
- 7. Listo para la observación al microscopio

Inmunotinción de CD34

1. Incubación
 - a. Calentó el portaobjetos a 65°C, e incubó 32 minutos.
2. Desparafinación
 - a. Calentó previamente a 72°C desde la temperatura ambiente
3. Acondicionador celular
 - a. Usó ULTRA Conditioner #1
 - i. Calentó el portaobjetos a 95°C, e incubó a 8 minutos.
4. Incubación con anticuerpo CD34
 - a. Aplicó una gota de PREP KIT 65 (anticuerpo), aplicó coverslip e incubó por 32 minutos.
5. ultraWash
6. Contratinción
 - a. Aplicó una gota de HEMATOXILIN (contratinción), aplicó coverslip e incubó 16 minutos
 - b. Aplicó post-contratación BLUING REAGENT (post contratinción), aplicó coverslip e incubó por 8 min.
7. Deshidratación y montaje
 - a. Lavó extensamente en agua corriente
 - b. Sumergió en batería de deshidratación y aclaramiento
 - i. 1x alcohol 70°
 - ii. 2x alcohol 95°
 - iii. 3x Limoneno
 - c. Se montó con entellán.

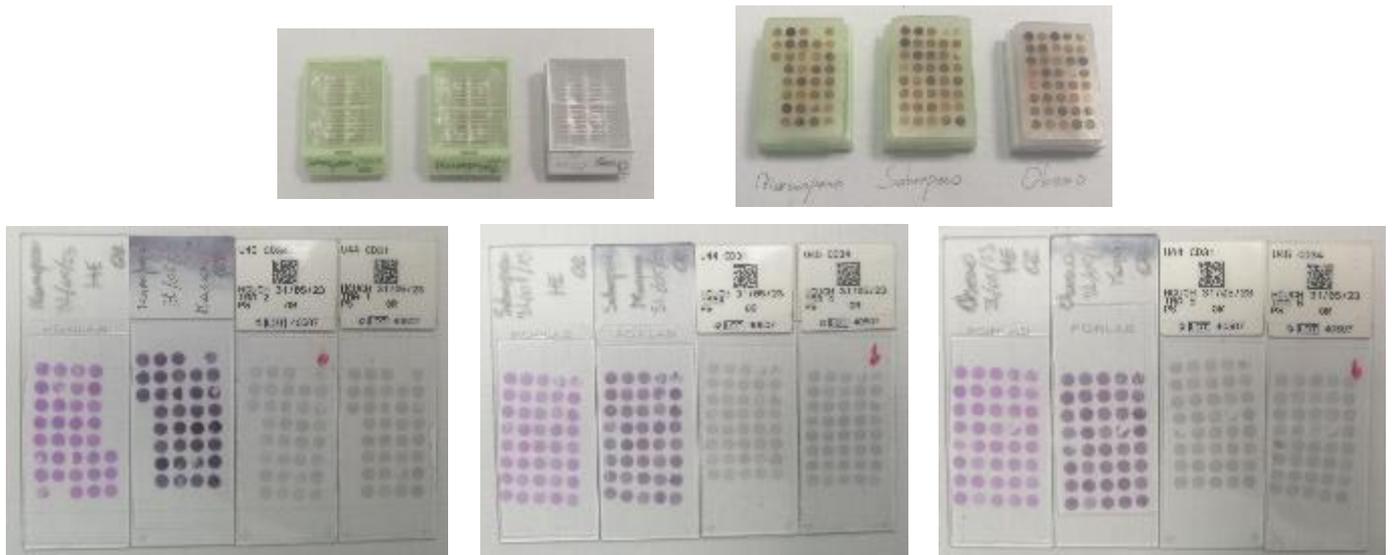
8. Listo para observación al microscopio
9. *ULTRA conditioner #1 y ULTRA CC1 son buffers de recuperación antigénica.*

Anexo 4: Protocolo tinción histoquímica tricrómico de Masson

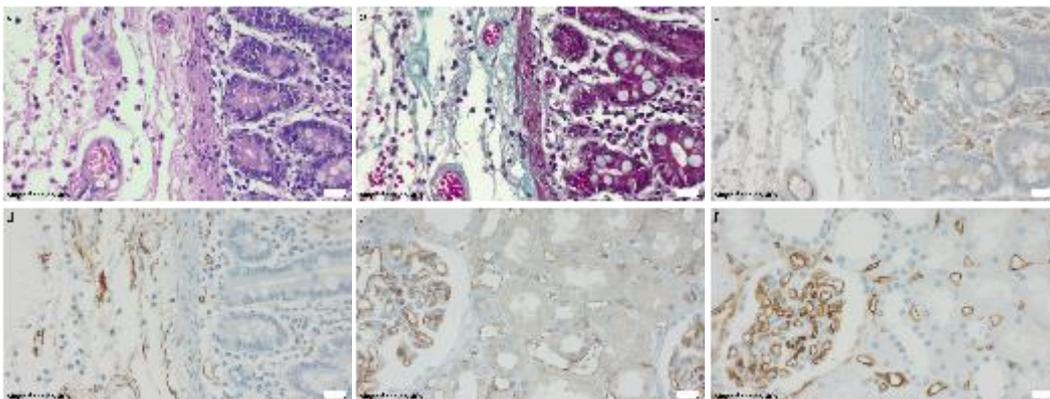
Protocolo realizado para tricrómico de Masson

1. Desparafinación e hidratación
2. Tricrómico de Masson
 - a. Lavó en agua destilada
 - b. Hematoxilina Férrica de Weigert por 2 minutos
 - c. Lavó en agua destilada y procedió a ver al microscopio
 - d. Sumergió en agua acética
 - e. Ponceu Fucsina por 3 minutos
 - f. Lavó en agua destilada
 - g. Sumergió en agua acética
 - h. Ácido fosfomolibdico por 1 minuto
 - i. Lavó en agua destilada
 - j. Sumergió en agua acética
 - k. Fast Green por 45 segundos
 - l. Lavó en agua destilada y procedió a mirar al microscopio
3. Deshidrató en alcohol 95% y luego alcohol 100% aclaró en Limoneno y montó en entellán

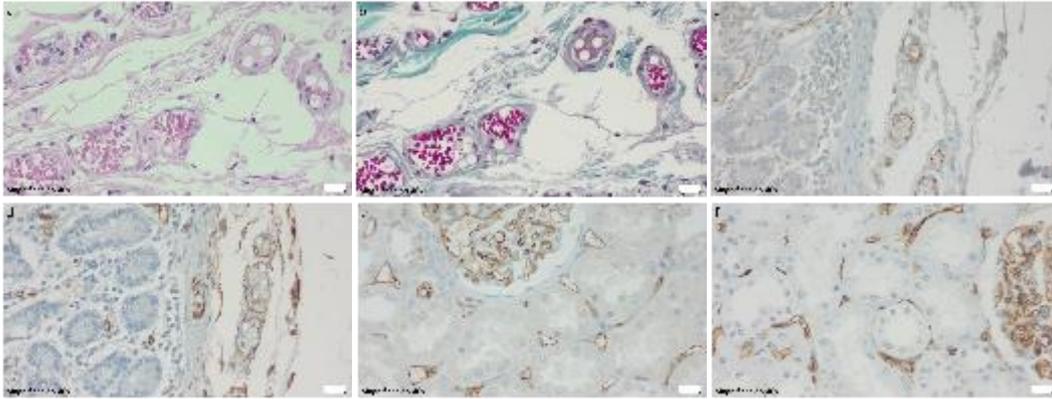
Anexo 5: Casete de inclusión y placas de TMA



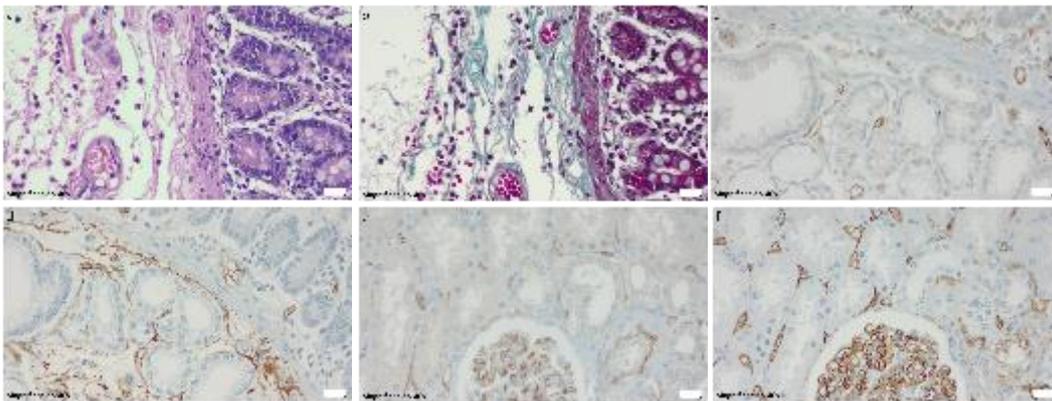
Anexo 6: Control paralelo positivo y negativo interno, correspondiente a intestino humano. Recomendación realizada por el servicio de anatomía patológica de la Universidad de Chile (HCUCH).



Controles paralelos de pacientes normopeso. a) HE, Control paralelo positivo de intestino humano. b) Tricrómico de Masson, Control paralelo positivo intestino humano. c) Inmunotinción CD31, control interno negativo de intestino humano. d) Inmunotinción CD34, control interno negativo de intestino humano. e) Inmunotinción CD31, control interno negativo de muestras de pacientes en estudio. f) Inmunotinción CD34, control interno negativo de muestras de pacientes en estudio.



Controles paralelos de pacientes con sobrepeso. a) HE, Control paralelo positivo de intestino humano. b) Tricrómico de Masson, Control paralelo positivo intestino humano. c) Inmunotinción CD31, control interno negativo de intestino humano. d) Inmunotinción CD34, control interno negativo de intestino humano. e) Inmunotinción CD31, control interno negativo de muestras de pacientes en estudio. f) Inmunotinción CD34, control interno negativo de muestras de pacientes en estudio.



Controles paralelos de pacientes con sobrepeso. a) HE, Control paralelo positivo de intestino humano. b) Tricrómico de Masson, Control paralelo positivo intestino humano. c) Inmunotinción CD31, control interno negativo de intestino humano. d) Inmunotinción CD34, control interno negativo de intestino humano. e) Inmunotinción CD31, control interno negativo de muestras de pacientes en estudio. f) Inmunotinción CD34, control interno negativo de muestras de pacientes en estudio.

Anexo 7: Aprobación Comité Ético Científico y de Investigación

HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSIDAD DE CHILE

Nº 08

Santiago, 08 de Febrero 2023

HOSPITAL CLÍNICO
UNIVERSIDAD DE CHILE

CERTIFICADO

APROBACIÓN PARA REALIZACIÓN DE PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

Prof. Dr. Eduardo Tobar Almonacid, Director General del Hospital Clínico de la Universidad de Chile, autoriza la solicitud para efectuar revisión de Fichas clínicas de pacientes mayores de 18 años sometidos a nefrectomía parcial o total entre 2012 y 2020 del estudio denominado **"Cuantificación de capilares peritubulares en parénquima renal de pacientes obesos vs normopeso. Estudio comparativo"**.

Esta solicitud ha sido debidamente discutida y aprobada por el Comité Ético Científico o de Investigación del Hospital Clínico de la Universidad de Chile, según consta en el Certificado Nº 02 del 11 de enero 2023 y será conducido por la Dra. Paula Segura Hidalgo del Servicio de Anatomía Patológica de nuestro Hospital Clínico.

Dado que se han cumplido los requisitos establecidos para conducir estudios en seres humanos en nuestra Institución, este Estudio cuenta con la autorización de la Dirección del Hospital para su realización, en los términos que establece el protocolo antes mencionado.

Este documento de aprobación tendrá vigencia hasta finalizar el Estudio Clínico o hasta que la Aprobación Inicial sea revocada.



PROF. DR. EDUARDO TOBAR A.
DIRECTOR GENERAL
HOSPITAL CLÍNICO UNIVERSIDAD DE CHILE

El Comité Ético Científico y de Investigación (CEIC) en Seres Humanos del Hospital Clínico Universidad de Chile, ha recibido el formulario de Solicitud para revisión de:

Fichas clínicas de pacientes mayores de 18 años sometidos a nefrectomía parcial o total entre 2012 y 2020.

Cuyo título de trabajo es:

"Cuantificación de capilares peritubulares en parénquima renal de pacientes obesos vs normopeso. Estudio comparativo".

El Dr. Gonzalo Díaz Vilches, Jefe de la Sección de Medicina Interna, afirma estar en conocimiento del trabajo mencionado y autoriza su realización.

Se otorga el certificado a la investigadora:

Dra. Paula Segura Hidalgo, del Servicio de Anatomía Patológica.

El estudio fue analizado en conformidad en sesión ordinaria del 11 de enero de 2023, y no existen reparos éticos con su aprobación.


11-01-2023
Dra. Lucía Teresa Massardo Vega
Presidenta del Comité Ético Científico
Hospital Clínico de la Universidad de Chile