

# RELACIÓN ENTRE VOLUMEN Y FUNCIÓN RENALES MEDIDOS ANUALMENTE EN PACIENTES CON PQRAD

Aida Chinaa Díaz

Tutor: Esteban Porrini

Unidad de Investigación Clínica y Ensayos Clínicos. Servicio de Nefrología.  
Hospital Universitario de Canarias.

Facultad Ciencias de la Salud, Sección de Medicina.

Departamento de Medicina Interna, Dermatología y Psiquiatría

Curso 2022/2023

## ÍNDICE

RESUMEN.....	2
ABSTRACT.....	3
1. Introducción.....	4
1.1. Epidemiología.....	4
1.2. Fisiopatología. Formación de quistes.....	4
1.3. Clínica.....	6
1.4. Diagnóstico.....	7
1.4.1. Diagnóstico por imagen.....	7
1.4.2. Estudio genético.....	8
1.4.3. Medición del volumen renal con técnicas de imagen.....	9
1.5. Evolución.....	10
1.6. Factores de riesgo.....	11
1.7. Tratamiento.....	12
1.8. Evolución del descenso de la función renal respecto al aumento de volumen renal ...	12
1.8.1 Relación entre el volumen (TKV) y la función renal (GFR) en estudios de corte transversal.....	14
1.8.2 Relación entre el cambio en el volumen renal y la evolución de la función renal (GFR) en estudios longitudinales.....	15
2. Hipótesis.....	15
3. Objetivos.....	16
4. Material y métodos.....	16
4.1. Criterios de inclusión y exclusión.....	16
4.2. Procedimientos.....	17
4.3. Variables principales.....	19
4.4. Variables secundarias.....	19
5. Resultados.....	20
5.1. Relación entre el htTKV y la función renal medida.....	21
5.2. Relación entre el cambio del htTKV y la función renal medida.....	23
6. Discusión.....	25
¿Qué he aprendido haciendo este TFG?.....	27
BIBLIOGRAFÍA.....	28

## RESUMEN

**INTRODUCCIÓN:** En la poliquistosis Renal Autosómica Dominante (PQRAD) la evolución de la enfermedad y la pérdida de la función renal viene determinadas por el aumento de los quistes renales. Sin embargo, hay muy pocos estudios que valoren la relación entre volumen renal y el filtrado glomerular, y no son concluyentes. En otras palabras, el cambio de volumen puede no indicar un cambio inmediato en la función renal. Esto indicaría la capacidad compensatoria del tejido renal sano sin quistes. Sin embargo, no hay datos definitivos al respecto.

**OBJETIVOS:** Comparar la evolución del volumen renal ajustado a la altura (htTKV) con la pérdida de la función renal medida (mGFR).

**MATERIAL Y MÉTODOS:** Estudio de cohortes de pacientes con PQRAD, se midió la función renal con el aclaramiento plasmático de iohexol cada 6-12 meses y el htTKV de forma anual. Se relacionó el cambio del volumen renal con el decline de la función renal medida (mGFR).

**RESULTADOS:** Se seleccionaron 30 pacientes con más de 24 meses de seguimiento. De ellos, 11 tuvieron un incremento importante del htTKV ( $> 50\%$ ), de los cuales sólo 3 presentan un decline acelerado del GFR ( $- 5$  ml/min/año); 13 mantuvieron un volumen renal estable de los que 4 mostraron un decline acelerado y en los 3 pacientes con disminución del volumen renal todos mostraron un decline acelerado.

**CONCLUSIÓN:** No hay correlación clara entre htTKV y mGFR. El incremento del volumen no siempre se asocia a una pérdida acelerada de la función renal. Esto tiene implicancia clínica.

**Palabras clave:** *poliquistosis renal autosómica dominante, filtrado glomerular medido, volumen renal total ajustado a la altura, cambio de volumen renal total, cambio de filtrado glomerular medido.*

## ABSTRACT

**BACKGROUND:** In Autosomal dominant polycystic kidney disease (ADPKD), evolution of the disease and loss of renal function are determined by increasing renal cysts. There are few studies about the relationship between renal volume and glomerular filtration rate. However, they are not conclusive. In other words, change in volume does not mean an immediate change in kidney function. This situation could indicate compensatory capacity of healthy renal tissue without cysts. Nevertheless, there is not definitive data about.

**OBJECTIVES:** Compare between height-adjusted renal volumen (htTKV) and loss of measured glomerular filtration rate (mGFR).

**MATERIALS & METHODS:** This cohort study of ADPKD patients measured renal function with iothalamate clearance every six to twelve months and htTKV, annually. It was relationated changes in renal volume with mGFR.

**RESULTS:** 30 patients were caught with more than twenty four months. 11 patients had a significant increase in htTKV (> 50%), which 3 presented an accelerated decline in GFR (- 5 ml/min/year), only. 13 maintained a stable renal volume, that 4 showed an accelerated decline, and in 3 patients with decreased renal volume all showed accelerated decline.

**CONCLUSSION:** There is no clear correlation between htTKV and mGFR. Volume increasing is not always associated with an accelerated loss of renal function. This has clinical implications.

**Keywords:** *autosomal dominant polycystic kidney disease, measured glomerula filtration rate, height-ajusted total renal volume, total renal volume decline, measured glomerular filtration rate decline.*

# 1. Introducción

La Enfermedad Renal Crónica (ERC) es una patología grave y mortal. En 2022, el 10 - 15% de la población española está afectada y se manifiesta que será la 5ª causa de muerte en 2040<sup>(1)</sup>. Por este motivo, en este trabajo nos centraremos en un grupo concreto de la ERC: la poliquistosis renal.

La poliquistosis renal es una enfermedad renal hereditaria autosómica dominante (PQRAD) y es la más frecuente entre las enfermedades genéticas nefrológicas. Se caracteriza por la presencia de mutaciones por pérdida de función en PDK1 y PDK2 que codifican a la poliquistina 1 y 2, respectivamente. Destaca por el desarrollo de quistes renales bilaterales y HTA. Evoluciona a enfermedad renal crónica (ERC) por el deterioro progresivo de la función renal y que, eventualmente, acaba en una enfermedad renal terminal con diálisis y/o trasplante renal<sup>(5)</sup>. Entre las manifestaciones fuera del riñón, se encuentran quistes hepáticos y aneurismas intracraneales<sup>(2)</sup>.

## 1.1. Epidemiología

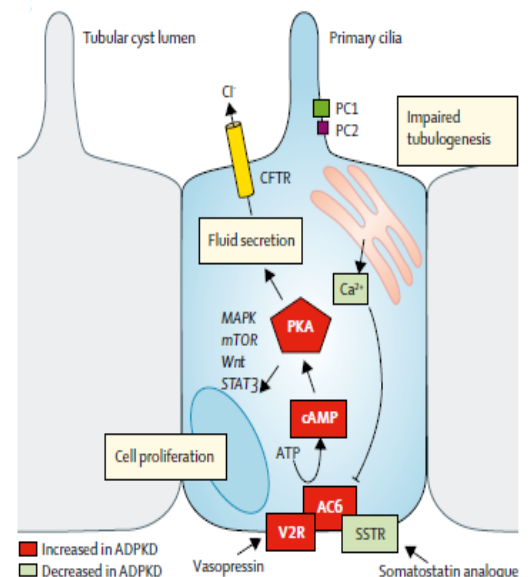
La prevalencia se estima de 1 entre 400 y 1 entre 1000 nacimientos. La incidencia se sitúa de 1 entre 500 hasta 1 entre 1000 personas. Siendo la cuarta causa de fallo renal a nivel mundial, el 6 - 10% de los pacientes en diálisis y trasplante renal tienen la enfermedad<sup>(2, 3)</sup>.

## 1.2. Fisiopatología. Formación de quistes

Como se ha mencionado, PDK1 y PDK2 codifican a las poliquistinas 1 y 2, que están involucradas en la patogénesis de la enfermedad. Se ha estudiado que mutaciones en estos genes promueven la citogénesis<sup>(12)</sup>. Por ello, la formación de los quistes se fundamenta en varios hechos:

- La mutación en el complejo PC1 y PC2 produce una señalización anormal de varias vías. Sobre todo, el aumento de los niveles de cAMP, la activación de RAS-RAF-ERK, EGFR y su presencia errónea en la membrana apical del quiste, que promueven la proliferación del epitelio tubular. Como los quistes inducen estrés mecánico, se produce apoptosis de nefronas vecinas y aumenta la probabilidad de formación de quistes<sup>(5)</sup>.

- En condiciones normales, las proteínas (complejos PC-1 y PC-2) son canales de calcio que se expresan en el cilio primario que sobresalen a la luz de los túbulos renales <sup>(11)</sup>. Su función fisiológica es la regulación de la homeostasis del  $\text{Ca}^{2+}$ , señalización y proliferación celular. En condiciones patológicas, la pérdida funcional de las proteínas produce una disminución de la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$ , desencadenando una proliferación celular anormal <sup>(12)</sup>.
- En condiciones normales, la bomba de  $\text{Na}^+ - \text{K}^- - \text{ATPasa}$  se localiza en la membrana basolateral. Sin embargo, en la poliquistosis, se encuentra en la membrana apical, por lo que el fluido del quiste se origina por secreción transepitelial <sup>(13)</sup>.
- Los canales de CFTR (regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística) en el ADPKD se localizan en la membrana apical y se hallan en las células epiteliales que revisten los quistes. Esto indica que la conductancia de  $\text{Cl}^-$  impulsa la secreción de líquido <sup>(13)</sup>.
- Hay un aumento de la sensibilidad de la vasopresina. Está fundamentado por la pérdida de calcio intracelular, que produce un incremento de la adenosina ciclasa y activa la proteína quinasa A (PKA). Esto resulta en una alteración en la formación de túbulos, se acentúa la secreción de líquido e inflamación intersticial <sup>(3)</sup>. Esto ha sido demostrado en los efectos de los fármacos antagonistas de V2R (tolvaptán) en la reducción de los niveles de cAMP y la desaceleración del desarrollo de quistes renales, así como de la vía BRAF – MEK - ERK que también induce la inflamación y fibrosis del riñón <sup>(13)</sup>.
- Las acuaporinas (AQP), son canales que se encargan de la reabsorción transcelular de agua en los conductos colectores. En la poliquistosis, facilitan el transporte anormal de fluidos al pasar agua a través del epitelio quístico <sup>(13)</sup>.



**Figura 1. Mecanismos de la citogénesis en ADPKD <sup>(10)</sup>.** Se muestra la señalización anómala intracelular de las células tubulares.

Los quistes crecen como expansiones saculares del túbulo normal que se separan y se hacen independientes, además de crecer en volumen. Este hecho hace que el epitelio quístico sea capaz de secretar el líquido que albergan <sup>(13)</sup>.

El crecimiento de los quistes provoca que el parénquima renal sano sea desplazado. En consecuencia, los glomérulos sanos se hipertrofian y realizan una hiperfunción que mantiene la filtración del riñón estable durante varios años. Llega un punto que, a partir de la cuarta década de la vida, suele decaer la función renal, debido a que aquellas regiones sanas son incapaces de seguir trabajando al mismo ritmo y han crecido nuevos quistes <sup>(3)</sup>. Sin embargo, los quistes pueden aparecer intraútero y en muchos casos los pacientes pueden entrar en ERC antes de lo estimado <sup>(7)</sup>.

Como la poliquistosis es una enfermedad sistémica, los afectados pueden desarrollar quistes hepáticos y alteraciones cardiovasculares. En la afectación hepática, se desarrollan quistes del epitelio de los conductos biliares <sup>(5)</sup>. Respecto a las manifestaciones cardiovasculares, se produce HTA, hipertrofia ventricular izquierda, dilatación de la raíz aórtica, valvulopatías y aneurismas intracraneales <sup>(5)</sup>.

### 1.3. Clínica

A pesar de que la mayoría de los pacientes son asintomáticos (incluso diagnosticados de manera casual a partir de un familiar afecto o por una prueba de imagen), la clínica <sup>(6)</sup> consiste en:

- **Hipertensión:** La TA > 140/90 mmHg se presenta en el 50 – 70% de los casos.
- **Proteinuria:** Se presenta en el 25% de los adultos. Suele ser > 300 mg/dl, pero no llega a exceder 1 g/dl.
- **Dolor abdominal:** Es causado por la hemorragia de los quistes, infección o litiasis.
- **Nefrolitiasis**
- **Hematuria:** Debido a la hemorragia de los quistes, infección, movilización de litiasis o neoplasia. Aunque se resuelve de 2 a 7 días, es causa de exclusión de neoplasia en aquellos pacientes que dure más de una semana o es el primer episodio del paciente y es mayor de 50 años.

- **Infección tracto urinario (ITU)**

## 1.4. Diagnóstico

### 1.4.1. Diagnóstico por imagen

- La ecografía detecta el crecimiento renal y quistes de más de 0,5 cm de diámetro <sup>(9)</sup>. Incluso si el operador es experto, puede detectar quistes de 10 mm <sup>(10)</sup>. Es la técnica ideal para el diagnóstico inicial. También es útil en pacientes jóvenes con riñones grandes para su edad y altura <sup>(8)</sup>.

**Tabla 1. Criterios diagnósticos ecográficos <sup>(2)</sup>**

Criterios de Ravine (1994) para los pacientes con riesgo de mutación PKD1:

- Por lo menos 2 quistes en los riñones o 1 quiste en cada riñón en pacientes menores de 30 años
- Por lo menos 2 quistes en cada riñón en pacientes con edades entre 30-59 años
- Al menos 4 quistes en cada riñón en pacientes de 60 años o mayores

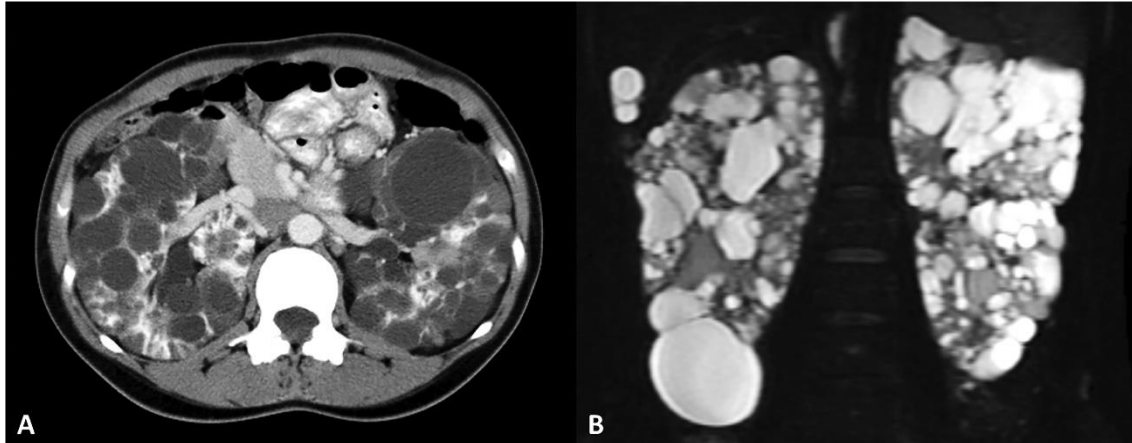
Criterios de Pei (2009) para los pacientes con genotipo desconocido e historia familiar positiva (Criterios de Ravine modificados):

- Tres o más quistes renales (unilaterales o bilaterales) en pacientes de 15 a 39 años
- Dos o más quistes en cada riñón en pacientes de 40 a 59 años

- En TC con contraste detecta quistes de 2 – 3 mm de diámetro <sup>(10)</sup>. Es útil para evaluar las complicaciones renales. Los quistes simples son masas con contenido de agua, sin pared y no tiene realce al administrar contraste. Por el contrario, los quistes complejos tienen una forma irregular en forma y tienen paredes más gruesas o calcificadas y contenido más denso, que suele ser serosanguíneo o mucoso <sup>(9)</sup>.



- En RM pueden observarse quistes de hasta 1mm. Un quiste simple es hiperintenso en T2 y no realza después del contraste. Los quistes complejos son irregulares, con paredes gruesas o calcificadas. Además, son hiperintensos en T1, hipointensos en T2 o hiperintensos en ambas secuencias <sup>(9)</sup>.



**Figura 2. Imagen de TC y RM <sup>(6)</sup>.** La imagen A muestra un TC axial con contraste. En cambio, la imagen B es una RM axial potenciada en T2. Ambas pruebas pertenecen a mujer de 39 años y se puede apreciar la afectación múltiple y bilateral con quistes de variable tamaño.

**Tabla 2. Criterios diagnósticos por RM <sup>(2)</sup>**

Sujetos entre 16 y 40 años con riesgo de padecer PQRAD:

- >10 quistes entre los dos riñones: PQRAD
- < 10 quistes entre los dos riñones: no PQRAD

Sujetos entre 16 y 40 años con riesgo de padecer PQRAD y que deseen ser donantes renales:

- < 5 quistes entre los dos riñones: aceptable como donante

#### 1.4.2. Estudio genético

Está recomendado en pacientes en los que las pruebas de imagen no arrojan un resultado concluyente. No está indicada de rutina si el diagnóstico clínico y radiológico es claro.

Tabla 3. Criterios diagnóstico genético <sup>(2)</sup>

- Confirmación o descarte del diagnóstico de PQRAD, ya que son candidatos a donante vivo de familiares y tienen una ecografía no concluyente
- Pacientes sin antecedentes familiares de PQRAD
- Pacientes con diagnóstico de imagen atípico o erróneo; hay distintos grados de gravedad entre los miembros de una familia; PQRAD muy leve, debut muy temprano o muy grave o con características sindrómicas
- Asesoramiento genético, especialmente en parejas que desean diagnóstico genético preimplantacional
- Pacientes con HTA o síntomas urológicos antes de los 35 años, en los que la presencia de la mutación en PKD1 permite aplicar el PROPKD score y así indicar tratamiento específico

### 1.4.3. Medición del volumen renal con técnicas de imagen

Para medir el volumen renal, se utiliza varios métodos. Entre los más empleados <sup>(8)</sup>:

#### ➤ Planimetría manual para RM o TC

La planimetría manual consiste en contornear el riñón en imágenes transversales. El volumen del riñón se calcula multiplicando todas las áreas trazadas por el grosor de los cortes y, luego, se combinan los volúmenes de los cortes. Su uso clínico es poco útil debido al tiempo que tarda el análisis.

#### ➤ Estereología para RM o TC

Requiere de definición de puntos de cuadrícula específicos que corresponden a regiones renales en cortes transversales cubriendo todo el órgano. Las áreas de quistes o parénquima renal se calculan contando el número de intersecciones dentro de ellos y convirtiéndolos en un recuento de píxeles. El volumen quístico o renal se calcula sumando los productos de las áreas resultantes y el correspondiente grosor del corte.

Aunque esta técnica es considerada el *gold estándar*, no está recomendada en la práctica clínica, debido al tiempo de análisis requerido.

#### ➤ Fórmula elipsoidal para ecografía, RM o TC

Esta es la forma más utilizada. Se puede usar para calcular el KTV con medidas manuales de longitud, altura y grosor en ecografía, RM o TC. La ecuación básica <sup>(11)</sup> es la siguiente:

$$KV = \frac{\pi}{6} \cdot \text{largo} \cdot \text{ancho} \cdot \text{grosor}$$

## 1.5. Evolución

Se define como progresión rápida de la pérdida función renal a aquellos individuos que necesitan terapia renal sustitutiva antes de los 65 años. Sin embargo, según el consenso de KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) se considera la rápida progresión como una pérdida del filtrado glomerular de más de 5 ml/ min /1,73 m<sup>2</sup>/año <sup>(4)</sup>. En general, se ha observado que la pérdida de FG no se aprecia hasta 3 o 5 décadas después, por lo que el biomarcador más sensible para establecer la evolución de la enfermedad renal es medir el TKV (volumen renal total) mediante técnicas de imagen, que es la manifestación precoz de la poliquistosis. En definitiva, se ha visto que la medición del volumen renal y quístico muestran una mejor predicción de la progresión de la enfermedad <sup>(7)</sup>. Según criterios clínicos, la edad y genética, se clasifican de acuerdo con el nivel de progresión:

Progresión rápida	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Hay una disminución del FG <math>\geq 5</math> ml/min/1,73 m<sup>2</sup> en un año o <math>\geq 2,5</math> ml/min/1,73 m<sup>2</sup> durante 5 años o más.</li> <li>• Hay un aumento del Volumen Renal Total mayor del 5% al año.</li> </ul>
Probable progresión rápida	<ul style="list-style-type: none"> <li>• VRT compatible con las clases 1C, 1D y 1E de la clasificación de Mayo, o bien una longitud de más de 16,5 cm medido por ecografía.</li> <li>• Mutación truncante en PDK1 con síntomas precoces, con una puntuación en el PRO-PKD score &gt; 6.</li> </ul>
Posible progresión rápida	Historia familiar de individuos con poliquistosis menores de 58 años que tienen una enfermedad crónica renal terminal (ERCT).
Progresión lenta o con relación FG/edad fuera de indicación del tratamiento	Atendiendo a los estadios de la ERC KDIGO 2012: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 18 - 30 años: G1 - 3a (FG &gt; 45 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>)</li> <li>• 30 - 49 años: G2 - 3a (FG 45 - 90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>)</li> <li>• 40 - 50 años: G3a (FG 45 - 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>)</li> </ul>

**Tabla 4. Algoritmo para indicación terapéutica de Tolvaptán <sup>(4)</sup>**

## 1.6. Factores de riesgo

Además, hay factores de riesgo <sup>(3)</sup> que predisponen a que la enfermedad progrese más rápido, tanto con parámetros clínicos como genéticos:

- Mutaciones en PDK1 (las mutaciones truncantes tienen peor pronóstico)
- Disminución temprana de la eGFR (función renal estimada), pudiendo tener insuficiencia renal (IR) en menores de 55 años e instauración de una ERC G3 en menores de 40 años.
- Sexo masculino.
- El eGFR disminuye más de 5 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> en un año o más de 2,5 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> en cinco años.
- Aparición temprana de HTA.
- Clasificación de Mayo 1C - 1E
- Establecimiento precoz o repetidos episodios de hematuria.
- Hipertensión en aquellas mujeres que tienen antecedentes de más de 3 embarazos tienen peor función renal que aquellas de su misma edad con menos embarazos.
- Proteinuria, microalbuminuria y niveles altos de copeptina en sangre.
- Obesidad.

Para predecir la rapidez de la progresión de la poliquistosis, se recogen una serie de criterios en el PRO-PKD score <sup>(3)</sup> y que permite establecer el pronóstico de cada paciente. Si se obtiene una puntuación mayor a 6, predice la ERT en menores de 60 años:

- Sexo masculino. 1 punto
- Hipertensión antes de los 35 años. 2 puntos
- Primer evento urológico (hematuria macroscópica, dolor lumbar o ITU) antes de los 35 años. 2 puntos
- Mutación en PDK2. 0 puntos

- Mutación no truncante en PDK1. 2 puntos
- Mutación truncante en PDK1. 4 puntos

## 1.7.Tratamiento

El tratamiento de la poliquistosis consiste en:

- **Tratamiento HTA:** son de elección los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECAs) <sup>(6)</sup> y los antagonistas del receptor de la angiotensina II (ARAI) <sup>(2)</sup>.
- **Estilo de vida saludable:** consiste en la realización de ejercicio físico, mantener un peso saludable, disminuir la ingesta de sal < 2g/dl <sup>(6)</sup> y abandonar el hábito tabáquico <sup>(2)</sup>.
- **Litiasis:** con citrato potásico oral en urolitiasis úrica. Otras opciones son la litotricia extracorpórea por ondas de choque y la nefrolitotomía percutánea, la cual debe ser individualizada <sup>(2,6)</sup>.
- **Hematuria:** hidratación, reposo y no tomar por un tiempo la medicación que facilite el sangrado <sup>(2)</sup>.
- **Enfermedad Renal Terminal:** el trasplante es la primera opción; aunque la segunda opción de terapia de reemplazamiento renal es la hemodiálisis o la diálisis peritoneal <sup>(2)</sup>.
- **Tolvaptán:** consiste en un antagonista altamente selectivo del receptor V2. Los estudios han demostrado que en los estadios 1 – 3 de la PQRAD, contribuía a enlentecer la disminución de la función renal <sup>(7)</sup>. Está aprobada por la EMA, la cual indica que está dirigido a aquellos adultos con una progresión rápida, con las clases de Mayo 1C, 1D y 1E <sup>(3)</sup>.

## 1.8.Evolución del descenso de la función renal respecto al aumento de volumen renal

En diversas investigaciones se ha estudiado que existe una relación inversa entre el deterioro de la función renal, el porcentaje de riñón ocupado y el aumento del volumen renal, además del crecimiento de los quistes después de los 3 años <sup>(14,15)</sup>.

Como se ha mencionado anteriormente, hay una hiperfiltración y compensación por parte de las nefronas sanas, hasta que, desde la cuarta a sexta década de la vida, la GFR empieza a disminuir, en la mayoría de los casos. No obstante, la medición de la GFR o la creatinina sérica parecen ser indicadores pobres para estimar cuánto ha avanzado la enfermedad renal <sup>(14)</sup>, sobre todo en estadios iniciales.

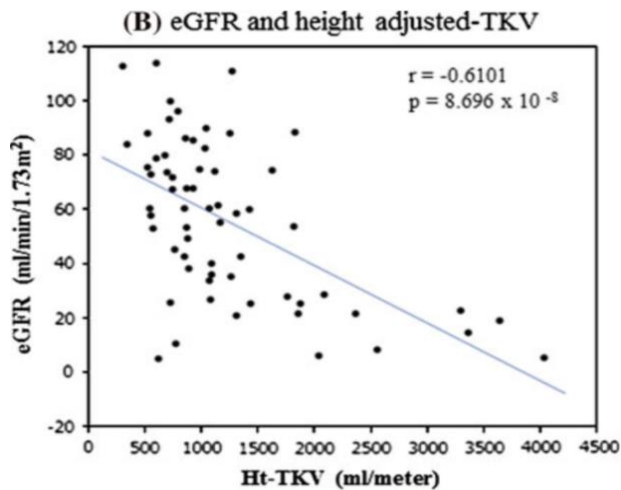
Un biomarcador para valorar la progresión en PQRAD es el htKTV (volumen renal ajustado a la altura), el cual mantiene una relación inversa con el filtrado renal y es más importante en estadios tardíos de la enfermedad. Se obtiene mediante el sumatorio del volumen renal derecho e izquierdo en mililitros o centímetros cúbicos, dividido entre la altura del paciente en metros. En diversos estudios se ha demostrado que un aumento de KTV de referencia se asocia con una disminución significativamente más rápida del filtrado. Además, se demuestra que en valores de referencia de TKV ajustado a la edad, predicen la evolución al estadio 3 de ERC en 8 años <sup>(15)</sup>.

No obstante, el GFR no es el marcador ideal para evaluación del crecimiento en estadios iniciales, cuando el TKV ofrece una detección temprana y tiene correlación con las manifestaciones clínicas <sup>(15)</sup>.

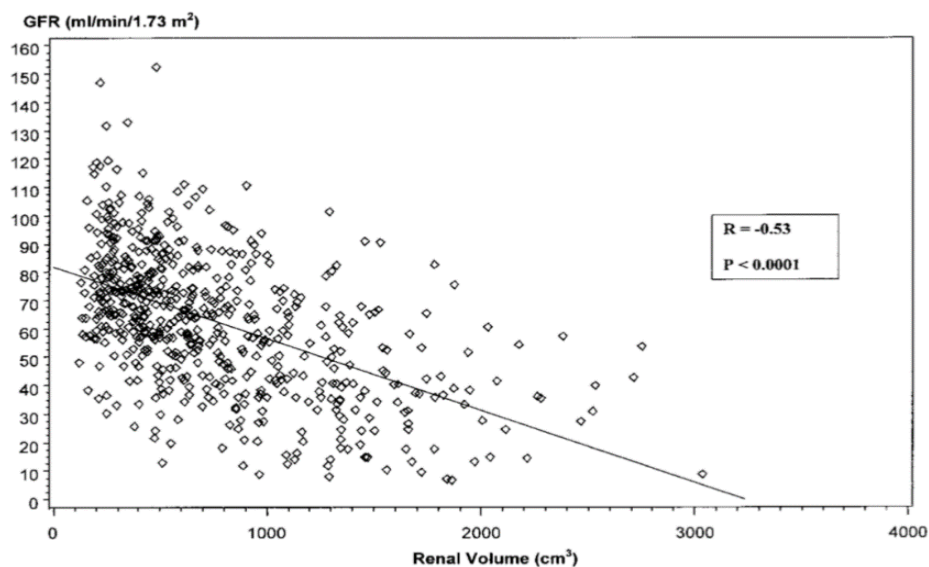
Por otro lado, la medición del TKV tiene dificultades en su uso en casos concretos, como en pacientes con carga atípica de quistes, por ejemplo, en aquellos que los presenten en un solo riñón. Esto provoca que la medición del riñón a través de la fórmula elipsoidal es complicada, de manera que la relación entre la carga de quistes y la disminución de la función renal no siempre tienen que estar relacionados <sup>(15)</sup>.

### 1.8.1 Relación entre el volumen (TKV) y la función renal (GFR) en estudios de corte transversal

Varios estudios han analizado la relación del volumen renal respecto al GFR. Sin embargo, los resultados que arrojan son demasiado pobres. Como el estudio de Higashihara E. et al. (2013) con una muestra  $n = 668$  y  $r = -0.53$ ; y el de Fick Brosnahan GM, et al. (2002) con una muestra de  $n = 188$  y  $r = -0.6101$ .



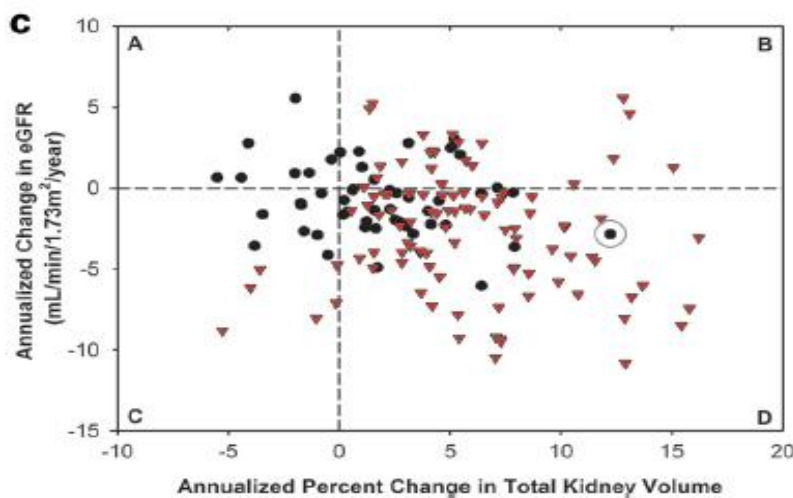
**Fig. 3. Estudio Fick Brosnahan GM et al. (2002)**<sup>(17)</sup>. Representa la relación entre la función (eGFR) y volumen renal (htTKV) finales.



**Fig. 4. Estudio Higashihara E. et al. (2013)**<sup>(16)</sup>. Representa la relación entre la función (mGFR) y volumen renal (TKV) durante el estudio.

## 1.8.2 Relación entre el cambio en el volumen renal y la evolución de la función renal (GFR) en estudios longitudinales

De igual manera, se ha estudiado la relación entre el cambio de volumen y de función renal, mostrando una mala correlación con los pocos estudios que hay disponibles. Como, por ejemplo, el estudio de Higashihara F. et al. (2011) con una  $n = 102$  y una  $r = -0.21$ ; y de Uchiyama K., et al. (2021) con una  $n = 192$  y una  $r = -0.13$ .



**Fig. 5. Estudio Higashihara F. et al. (2011)** <sup>(18)</sup>. Se presenta la relación entre en el cambio anual en porcentaje de la función renal estimada (eGFR) y volumen renal (TKV)

Los estudios dirigidos a corroborar la relación entre función y volumen renal y su cambio en el tiempo son escasos, por ello, sería útil demostrar la falta de relación entre los mismos.

## 2. Hipótesis

No hay buena relación entre la pérdida de GFR y el aumento de volumen renal. Esto implica que no tiene una relación inversa, en la que, idealmente, al incrementarse el volumen, decae la función renal, ya que puede haber regiones sanas del riñón que suplan la falta de función de las nefronas afectadas. Por eso, puede haber ocasiones en las que un volumen renal grande tengan un GFR estable o una pérdida aumentada.



### 3. Objetivos

#### 3.1. Objetivo principal

- Comparar la evolución del htTKV con la pérdida de la función renal medida (con el aclaramiento plasmático de iohexol).

#### 3.2. Objetivos secundarios

- Examinar el cambio de la función renal medida y el del htTKV.
- Analizar el número de pacientes diagnosticados como de rápida progresión hacia la insuficiencia renal, según el método de evaluación de la función renal.

### 4. Material y métodos

Se ejecutó un estudio prospectivo de cohortes. Se captó a 30 pacientes con PQRAD de la consulta de Nefrología del Hospital Universitario de Canarias, de los cuales se estudiaron a 30. Se les tomó mediciones semestrales del aclaramiento plasmático de iohexol y se realizó anualmente una ecografía, en la que se mide el TKV, durante 3 años.

Además, se recogieron antecedentes personales (hábitos tóxicos, tratamiento médico, eventos cardiovasculares, renales, etc.), mutación y año de diagnóstico, familiares afectos de PQRAD y año de diálisis. También se ha recogido si han iniciado tratamiento con Tolvaptán, si han tenido efectos secundarios y si han discontinuado el tratamiento. Se estableció como aquellos pacientes progresadores rápidos los que tengan una pérdida de filtrado  $> 5$  ml/min/año, y como función renal estable  $> 2$  ml/min/año.

#### 4.1. Criterios de inclusión y exclusión

- **Criterios de inclusión**

1- Pacientes con diagnóstico de PQRAD; 2 - función renal  $> 20$  ml/minuto (por aclaramiento plasmático de iohexol); 3 - edad  $> 18$  años.

- **Criterios de exclusión**

1 - incapacidad de entender el protocolo; 2 - cáncer activo; 3 - embarazo; 4 - alergia al yodo; 5 - presencia de insuficiencia renal aguda, pielonefritis, quistes infectados, o un

evento cardiovascular los tres meses anteriores a la inclusión del estudio; 6 - otra causa de enfermedad renal crónica, nefropatía diabética, malformaciones etc; 7 - HTA secundaria; 8 - no estar en lista de espera para trasplante renal o en tratamiento sustitutivo en hemodiálisis o diálisis peritoneal.

## 4.2.Procedimientos

- **Aclaramiento plasmático de iohexol**

Se realiza una toma basal y se repite semestralmente. Previo a la prueba, se estimó el aclaramiento de creatinina, según las fórmulas del MDRD una semana antes de la prueba. A las 8 de la mañana, el paciente acudió en ayunas a la Unidad de Ensayos Clínicos del Hospital Universitario de Canarias. Se colocó venoclisis y se extrajo sangre para las analíticas del estudio. Además, se inyectó 5 ml de iohexol (Omnipaque 300, GE Healthcare) por vía intravenosa periférica durante 2 minutos. Luego, se obtuvo sangre venosa capilar mediante punción del pulpejo del dedo. El tiempo entre punciones se determinó según el Filtrado Glomerular Estimado por ecuación CKD-EPI: (a) pacientes con eGFR < 40 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>: a los 120, 180, 240, 300, 360, 420 y 480 min; (b) pacientes con eGFR >40 ml/min/ 1.73m<sup>2</sup>: a los 120,150, 180, 210 y 240 min. La sangre se recogió en papel de filtro según la técnica del DBS (Dried Blood Spots), en el que cada punción se toma un volumen fijo de cada gota de sangre con una pipeta capilar y se deposita en el papel de filtro <sup>(19)</sup>. Los niveles plasmáticos de iohexol se miden por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en el Laboratorio de Función Renal. El aclaramiento de iohexol se calculará de acuerdo con el modelo unicompartimental (CL1) usando la siguiente fórmula: CL1 = dosis/AUC, donde AUC es el área bajo la curva de la concentración plasmática en el tiempo corregida por la fórmula de Bröchner-Mortensen.

- **Medición del VRT**

Se realiza la medición del volumen renal basal y luego se repetirá anualmente mediante ecografía. El volumen se calcula según la fórmula elipsoide:

$$KV = \frac{\pi}{6} \cdot \text{largo} \cdot \text{ancho} \cdot \text{grosor}$$

El informe ecográfico incluye el tamaño de sendos riñones medido en ml, descripción de los riñones (normal o grandes) y presencia de quistes hepáticos. Para hallar el htTKV, se

calculó la altura del paciente en metros y se dividió al sumatorio de riñón izquierdo y derecho.

- **Comparación entre htTKV y mGFR**

Se realizó una medición de los datos de ecografía basal, a los 12, 24 y 36 meses. El aclaramiento plasmático de iohexol se tomó una muestra basal, 6, 12, 18, 24, 30 y 36 meses, aunque para este estudio se escogió las pruebas anuales. Ambas variables fueron comparadas en una gráfica.

- **Comparación entre el cambio de htTKV y el de mGFR**

Se realizó una toma de los porcentajes del decline (cambio o pendiente) de htTKV y de mGFR en basal y a los 36 meses y en otros casos, basal y a los 24 meses. Para calcular el cambio porcentual de VRT, se utilizó la siguiente fórmula:

$$\Delta\% = \frac{\text{valor nuevo} - \text{valor inicial}}{\text{valor inicial}} \times 100$$

Donde  $\Delta\%$  es el cambio porcentual, valor nuevo es la toma de htTKV correspondiente al mes 36, o en caso de que no tuviese, 24. El valor inicial concuerda con el valor basal.

Para el cálculo del decline de mGFR, se utilizó regresión lineal entre el filtrado y el tiempo.

- **Análisis estadístico**

Es un análisis exploratorio, por lo que se analizan las características de los pacientes sin comparar grupos. Se evaluó el decline de la función renal y el cambio de volumen renal. Se calcularon, tanto el decline de volumen y filtrado renal, como se explicó anteriormente. Este estudio, como es exploratorio, sirve para más investigaciones en el futuro con una muestra más amplia con mayores registros de cambio de volumen y filtrado renal.

### 4.3. Variables principales

- **Función renal medida con el aclaramiento plasmático del iohexol**
- **Volumen renal total medido por pruebas de imagen**

### 4.4. Variables secundarias

- **Pendiente de la función y el volumen renal**
- **Variables generales y antropométricas:** edad, sexo, talla, peso e IMC (en kg/m<sup>2</sup>).
- **Antecedentes personales:** (a) hipertensión tratada con diuréticos/ betabloqueantes/ Ca antagonistas/ IECA o ARA II, (b) dislipemia tratada con fibratos o estatinas, (c) diabetes tratada de forma oral o con insulina, (d) hiperuricemia con tratamiento o no de alopurinol y (e) tabaco: nunca/ exfumador/ fumador actual.
- **Antecedentes familiares:** se recoge los antecedentes familiares (historia familiar de, al menos, tres generaciones) y la edad de inicio del tratamiento renal sustitutivo en familiares de primer grado.
- **Antecedentes personales de la poliquistosis:** edad al diagnóstico, si tiene estudio genético el tipo de mutación, ingresos hospitalarios, síntomas (dolor, edemas, etc.) y complicaciones quísticas (rotura, infección, hematuria, dolor).
- **Tolvaptán:** si está tomando o no. En caso afirmativo, dosis iniciales, efectos secundarios y adversos, fecha de inicio y finalización.
- **Otras determinaciones:** hemograma, glucosa, hemoglobina glicosilada, ácido úrico, lípidos (colesterol total, triglicéridos, HDL y LDL colesterol), creatinina sérica, cictatina-c, urea. Orina de 24 horas: aclaramiento de creatinina, creatininuria, sodio, potasio y osmolaridad urinaria.

## 5. Resultados

Se analizaron un total de 30 pacientes con ecografía repetidas al basal, 12, 24 y 36 meses y medidas repetidas de función renal, con al menos 3 para el cálculo del decline. La media era de  $40 \pm 18$  años y el 50 % eran hombres. En cuanto a los antecedentes personales, el 63% eran hipertensos, 20% tenían dislipemia y el 10% diabéticos. De las complicaciones relacionadas con la poliquistosis, la más frecuente era el dolor. Respecto a la función renal, el mGFR medio era de  $77 \pm 26$  y el volumen renal por ecografía de 624 [373 – 1768].

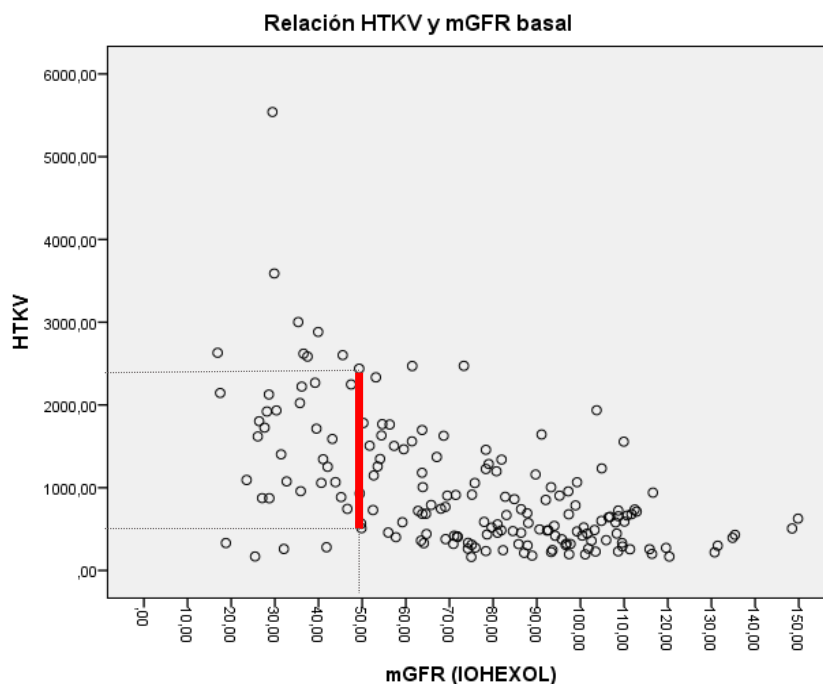
<b>CARACTERÍSTICAS</b>	
<i>N</i>	30
<i>Edad (años)</i>	$40 \pm 18$
<i>Sexo (% hombres)</i>	15 (50%)
<i>Peso (kg)</i>	$81 \pm 17$
<i>Talla (m)</i>	$1.70 \pm 0.9$
<b>ANTECEDENTES PERSONALES</b>	
<i>HTA (sí/no)</i>	19 (63%)
<i>Dislipemia (sí/no)</i>	6 (20%)
<i>Diabetes (sí/no)</i>	3 (10%)
<i>Tabaquismo (sí/no)</i>	<i>Nunca:</i> 17 (57%)
	<i>Exfumador:</i> 6 (20%)
	<i>Fumador actual:</i> 7 (23%)
<i>Eventos cardiovasculares (sí/no)</i>	0
<b>EVENTOS RENALES</b>	
<i>Infección de quiste</i>	1 (3%)
<i>Hematuria macroscópica</i>	1 (3%)
<i>Dolor</i>	5 (17%)
<i>IRA</i>	0
<b>FUNCIÓN RENAL</b>	
<i>Creatinina sérica</i>	$1.23 \pm 0.6$
<i>Cistatina C sérica</i>	$1.22 \pm 0.6$
<i>mGFR (aclaramiento de iohexol)</i>	$77 \pm 26$
<i>eGFR (MDRD)</i>	$74 \pm 30$

<i>eGFR (CKD-EPIcr)</i>	82 ± 34
<i>Proteinuria (mg/24h)</i>	125 [90 -206]
<i>Albúmina/Creatinina (mg/g)</i>	16 [8 -51]
<b>PQRAD</b>	
<i>Volumen renal por ecografía</i>	624 [373 – 1768]

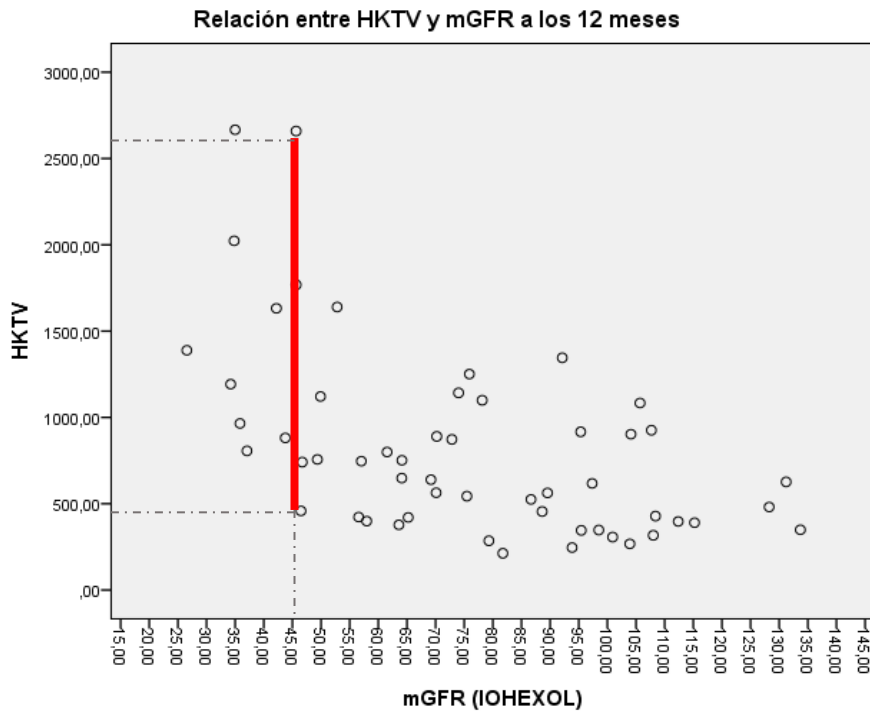
**Tabla 5. Características basales de los pacientes del estudio.**

### 5.1. Relación entre el htTKV y la función renal medida

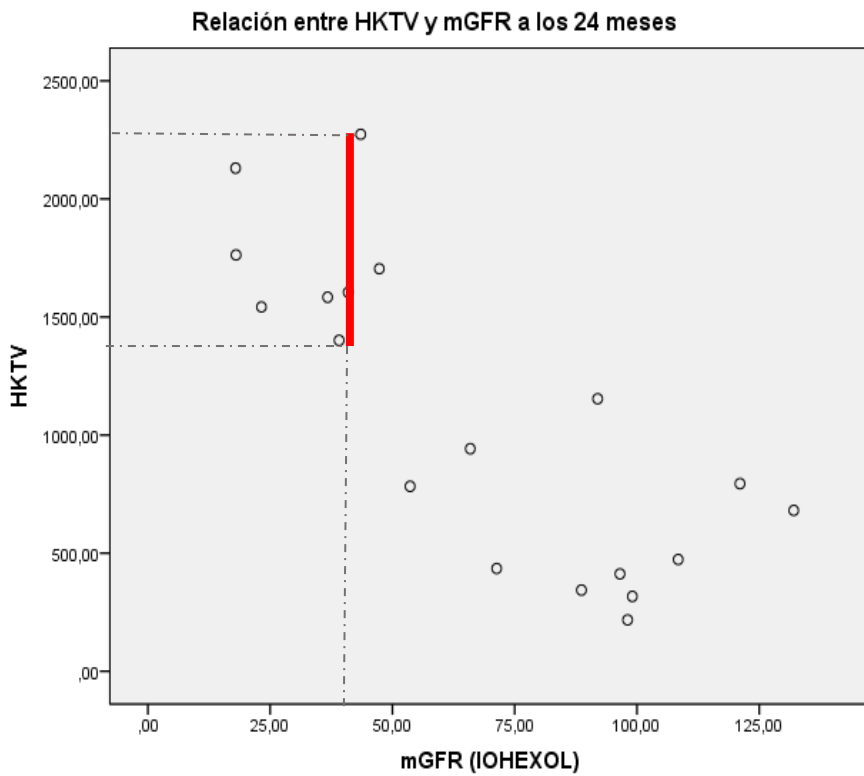
En las gráficas se representa la relación entre el htTKV y el mGFR, a distintos tiempos, basal, 12 meses, 24 meses y 36 meses. Al tiempo basal (**Figura 6 - A**) se ve cómo pacientes con una función renal de 50 ml/min, pueden presentar valores de htTKV desde 500 cc/m a 2500 ml/m. Lo mismo sucede en pacientes a los 12 meses de la inclusión en el estudio (**Figura 7 - B**), el mGFR está entre 45 ml/min, tienen un htTKV desde 500 a 2600 cc/m. Por otra parte, los pacientes en el mes 24 (**Figura 8 - C**), para un mGFR aproximado de 40 ml/min, puede tener un htTKV de 1400 - 2300 cc/m. Por último, al mes 36 (**Figura 9 - D**), para un mGFR 45 ml/min, puede variar a un htTKV de 500 a 1500 cc/m.



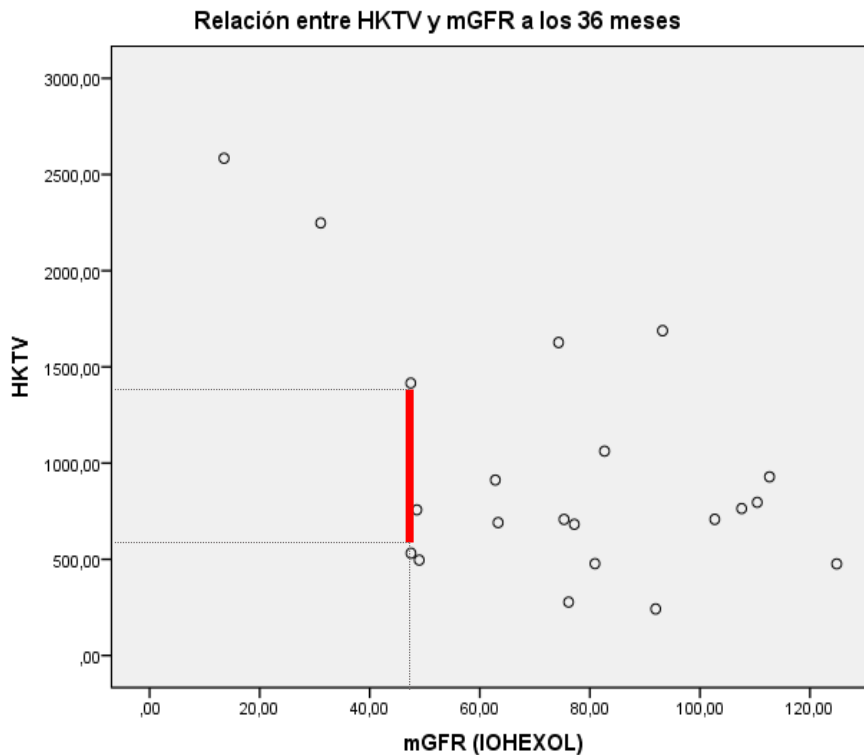
**Fig.6. Gráfica que relaciona htTKV (cc/m) y mGFR (ml/min) basal. (A)**



**Fig.7. Gráfica que relaciona htTKV (cc/m) y mGFR (ml/min) en el mes 12. (B)**



**Fig.8. Gráfica que relaciona htTKV (cc/m) y mGFR (ml/min) en el mes 24. (C)**



**Fig.9. Gráfica que relaciona htTKV (cc/m) y mGFR (ml/min) en el mes 36. (D)**

### **5.2.Relación entre el cambio del htTKV y la función renal medida**

En pacientes con un incremento importante del volumen renal (> 50%) en 24 o 36 meses, se observó que sólo en 3 casos de 11 pacientes tenían un decline acelerado de  $-5$  ml/min/año (**Tabla 4**, en rojo). El resto de los pacientes con un aumento importante del volumen tenían un decline estable o incluso positivo.

En pacientes con un crecimiento moderado del volumen renal (> 20%) en 24 o 36 meses, se apreció que solo 1 de 3 pacientes sufrieron un decline acelerado de  $-5$  ml/min/año (**Tabla 4**, en naranja). El resto de los pacientes, presentaban un decline estable.

En pacientes con un volumen renal estable en 24 o 36 meses, se observa que hay 3 de 13 pacientes con un decline acelerado de  $-5$  ml/min/año (**Tabla 4**, en amarillo). El resto de los pacientes, muestran un decline positivo o estable.

En aquellos pacientes con volumen renal que ha disminuido en 24 o 26 meses (**Tabla 4**, en verde), todos muestran un decline acelerado del filtrado de  $-5$  ml/min/año.



Pacientes	CAMBIO HT-KTV (%)	CAMBIO MGFR (ml/min/año)
P01	531,4	-6
P02	482	-8
P03	143	-2
P04	114	0
P05	110	-2
P06	80	-4
P07	62	-5
P08	56	1
P09	55	2,5
P10	49	-3
P11	49	7
P12	23	1
P13	22	-1
P14	21	-7
P15	18	-4
P16	13	-1
P17	8	3
P18	2	-3
P19	0	-7
P20	0	-4,5
P21	-0,5	-11
P22	-2	2
P23	-4	-3
P24	-10	-6
P25	-11	-5
P26	-13	-2
P27	-18	-7
P28	-20	-3
P29	-26	-5
P30	-31	-5,5

**Tabla 6.** Relaciona a los pacientes con el cambio de htTKV y mGFR basal y a los 36 meses, o en el caso que no tengan esta toma, a los 24. El cambio de htTKV se midió en porcentaje y el de mGFR, en ml/min/año. En color rojo, representa los pacientes que aumentó el volumen > 50%; en color naranja, en torno al 20%; en color amarillo, los que se mantuvieron estables; y en color verde, los que disminuyó el volumen renal.

## 6. Discusión

En este trabajo, se ha visto que en la PQRAD no hay una relación clara entre el volumen renal y el filtrado glomerular. Esta afirmación tiene importancia para el seguimiento de los pacientes con poliquistosis.

Este estudio prospectivo se realizó con un grupo de 30 pacientes con PQRAD, donde había grupos con enfermedad renal avanzada, ERC, función renal normal e hiperfiltración glomerular. Se realizó una toma semestral de iohexol e informe ecográfico renal anual, que incluía el volumen de sendos riñones. Se utilizó el método de referencia de aclaramiento plasmático de iohexol para el cálculo del filtrado y del volumen. Para el cálculo del volumen renal, se utilizó la fórmula elipsoidal, la cual es la más utilizada y práctica en clínica.

La poca correlación entre la función renal y el volumen, y el cambio de ambos en el tiempo es un hecho importante, y de difícil explicación. La mGFR representa el filtrado de las nefronas sanas. La masa renal sana está compensando aquellas nefronas afectadas por quistes. Mientras dure esta compensación, no habrá una caída clara del filtrado. Por otro lado, el volumen renal y sus cambios pueden ser homogéneos o heterogéneos, es decir, que los quistes crezcan de manera proporcional o no. Esto nos hace pensar que un quiste no puede representar el volumen total del riñón. La razón de esto es que, por ejemplo, un quiste con una dimensión importante puede determinar un gran incremento volumen y no representar una pérdida de masa renal. En este sentido, sería interesante poder averiguar la masa renal no ocupada por quistes, ya que no se dispone de técnicas de imagen capaces de cuantificar el remodelado del riñón, actualmente. Esta investigación ha servido para aclarar que, a veces, no hay que esperar a que aumente el volumen renal para observar pérdida del filtrado y el volumen puede incrementarse teniendo y el filtrado mantenerse estable. En este punto, prevenir una disminución del decline de la función renal puede ser más efectivo y frenar el crecimiento de los quistes (19).

El estudio tiene una serie de limitaciones. En primer lugar, es necesario disponer de más datos en cada subgrupo para llegar a conclusiones específicas. El abandono de pacientes de las visitas para los controles, debido al COVID-19, hizo que el número de pacientes que llegaron al mes 36 disminuyese notablemente. En consecuencia, al calcular el decline, se optó por incluir, además, a los que tenían como último control el mes 24 con toma de

iohexol e informe ecográfico. En segundo lugar, el estudio se llevó a cabo en una población homogénea caucásica, por ende, no se puede extrapolar a otras razas. En cuanto a los resultados de este estudio, no podemos saber si se pueden aplicar a un seguimiento de 4 a 5 años. Por último, la medición de los volúmenes renales se hizo por ecografía, por lo que las mediciones pueden ser inexactas en comparación con la Resonancia Magnética. Esto es debido a que es una técnica de imagen operador-dependiente y necesita que el radiólogo que la realice tenga una notable experiencia en la toma de ecografías renales. En otras ocasiones, el volumen renal era tan grande, que era complicado su medición exacta.

En conclusión, hay disociación entre el cambio de volumen renal y de filtrado en pacientes con poliquistosis renal que tienen que ser tomados en cuenta para la evolución clínica.

## ¿Qué he aprendido haciendo este TFG?

Este año y medio que he estado inmersa en este trabajo, lo he hecho en la Unidad de Investigación Clínica y Ensayos Clínicos del HUC. He aprendido a trabajar en un equipo multidisciplinar, en el que realmente me he sentido integrada y de los que he aprendido mucho. Además, he vivido de primera mano el proceso de realización de un artículo, desde que se plantea un problema, documentación, recogida de datos, análisis de datos, la reflexión sobre los resultados obtenidos y defender su importancia. En este proceso, he reforzado mi lenguaje científico, tener un pensamiento crítico y diferenciar artículos de calidad de los que no, al realizar la búsqueda bibliográfica en PubMed. Me he familiarizado con el uso del programa informático SAP del hospital para extraer datos de los pacientes. Con los datos de los pacientes, he ayudado a incluirlos en la base de datos RedCap. También, aprendí a utilizar el programa estadístico SPSS para realizar gráficas y cálculo de datos. De la misma forma, actualicé mis conocimientos de Word, Excel y PowerPoint, además de estadísticos.

He comprendido el arduo trabajo que supone elaborar un artículo, pero, sobre todo, he experimentado la satisfacción que supone llegar a las conclusiones al examinar los datos y que pueden llegar a ser influyentes en otras investigaciones y en el día a día del nefrólogo. Me he dado cuenta de que, sin duda, la investigación es muy necesaria para la práctica clínica. Además, he podido apreciar lo apasionante que es la nefrología.

Por último, este artículo se enviará para publicación y figuraré como coautora.

## BIBLIOGRAFÍA

1. AIRG-E, EKPF, ALCER, FRIAT, REDINREN, RICORS2040, SENEFRO; SET, ONT. CKD: The burden of disease invisible to research funders. *Nefrologia*. 2022 Jan-Feb;42(1):65-84.
2. Ars E, Bernis C, Fraga G, Furlano M, Martínez V, Martins J, et al. Documento de consenso de poliquistosis renal autosómica dominante del grupo de trabajo de enfermedades hereditarias de la Sociedad Española de Nefrología. Revisión 2020. *Nefrología* 2021.
3. Nobakht N, Hanna RM, Al-Baghdadi M, Ameen KM, Arman F, Nobakht E, et al. Advances in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: A Clinical Review. *Kidney medicine* 2020 Mar;2(2):196-208.
4. Gansevoort RT, Arici M, Benzing T, Birn H, Capasso G, Covic A, et al. Recommendations for the use of tolvaptan in autosomal dominant polycystic kidney disease: a position statement on behalf of the ERA-EDTA Working Groups on Inherited Kidney Disorders and European Renal Best Practice. *Nephrology, Dialysis, Transplantation* 2016;31(3):337.
5. Bergmann C, Guay-Woodford LM, Harris PC, Horie S, Peters DJM, Torres VE. Polycystic kidney disease. *Nat Rev Dis Primers*. 2018 Dec 6;4(1):50.
6. Chebib FT, Torres VE. Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: Core Curriculum 2016. *Am J Kidney Dis* 2016 -5;67(5):792-810.
7. Grantham JJ. Clinical practice. Autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med*. 2008 Oct 2;359(14):1477-85.
8. Magistroni R, Corsi C, Martí T, Torra R. A Review of the Imaging Techniques for Measuring Kidney and Cyst Volume in Establishing Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease Progression. *American journal of nephrology* 2018 Aug;48(1):67-78.

9. Rahbari-Oskoui F, Mittal A, Mittal P, Chapman A. Renal Relevant Radiology: Radiologic Imaging in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *Clinical journal of the American Society of Nephrology* 2014 Feb 07;9(2):406-415.
10. Cornec-Le Gall E, Alam A, Perrone RD. Autosomal dominant polycystic kidney disease. *The Lancet* 2019-02-25;393(10174):919.
11. Pampa-Saico S, Alexandru S, Pizarro-Sánchez MS, López-Picasso M, García Puente-Suárez L, Barba R, et al. Volumen renal total y función renal en pacientes nefrectomizados por neoplasias renales. *Nefrología* 2021 Jul;41(4):446-452.
12. Seeger-Nukpezah T, Geynisman DM, Nikonova AS, Benzing T, Golemis EA. The hallmarks of cancer: relevance to the pathogenesis of polycystic kidney disease. *Nature reviews. Nephrology* 2015 Sep;11(9):515-534.
13. Terryn S, Ho A, Beauwens R, Devuyst O. Fluid transport and cystogenesis in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Biochimical et Biophysical Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease* 2011;1812(10):1314-1321.
14. Masoumi A, Elhassan E, Schrier RW. Interpretation of renal volume in autosomal dominant polycystic kidney disease and relevant clinical implications. *Iranian journal of kidney diseases* 2011 Jan;5(1):1-8.
15. Alam A, MD, Dahl NK, MD, Lipschutz JH, MD, Rossetti S, MD, Smith P, PhD, Sapir D, MD, et al. Total Kidney Volume in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: A Biomarker of Disease Progression and Therapeutic Efficacy. *American journal of kidney diseases* 2015;66(4):564-576.
16. Higashihara E, Nutahara K, Okegawa T, Shishido T, Tanbo M, Kobayasi K, et al. Kidney volume and function in autosomal dominant polycystic kidney disease. *Clin Exp Nephrol* 2013 Jul 18;18(1):157-165.
17. Fick-Brosnahan GM, Belz MM, McFann KK, Johnson AM, Schrier RW. Relationship between renal volume growth and renal function in autosomal dominant polycystic kidney disease: A longitudinal study. *American journal of kidney diseases* 2002 Jun;39(6):1127-1134.
18. Higashihara E, Torres VE, Chapman AB, Grantham JJ, Bae K, Watnick TJ, et al. *Tolvaptan in Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease: Three Years'*

Experience. Clinical journal of the American Society of Nephrology 2011 Oct 01,;6(10):2499-2507.

19. Luis Lima S. et al. Iohexol plasma clearance simplified by dried blood spot testing. Nephrol Dial Transplant 2017: 1–7.