

La podocina y los síndromes nefróticos corticorresistentes. Parte 2

PATRICK WAGNER-GRAU

La llamada nefrosis idiopática constituye una de las nefropatías más frecuentes de la infancia. Se caracteriza habitualmente por la aparición de una proteinuria masiva, que provoca un síndrome nefrótico (SN), que contrasta con un riñón normal en microscopía óptica o con la presencia, a veces, de hialinosis segmentaria y focal. La lesión característica consiste en el borramiento difuso de los pedicelos de los podocitos, observada en microscopía electrónica⁽¹⁾.

La respuesta a la corticoterapia permite definir dos grupos distintos, de acuerdo con la respuesta al tratamiento: sensibilidad o resistencia. Alrededor de la mitad de los pacientes que presentan un SN corticorresistente, evoluciona hacia la insuficiencia renal crónica y luego hacia la insuficiencia renal terminal.

En estos casos de evolución desfavorable, desde el punto de vista histológico, se desarrollan lesiones de hialinosis segmentaria y focal (*focal segmental glomerulosclerosis*, FSGS) en forma progresiva, que finalizan en la esclerosis glomerular completa.

Después del trasplante renal (TR), la enfermedad se reproduce inmediatamente después del injerto en alrededor del 25% de los casos, lo que sugiere la existencia de un factor circulante, responsable de la alteración de la permeabilidad capilar. En otros casos, por el contrario, la ausencia de una recidiva postrasplante, sugiere que el defecto primitivo consiste en una anomalía de estructura del filtro glomerular –a cualquier nivel– lo que explica la resistencia a la corticoterapia y la ausencia de recidiva después del injerto del riñón. Se han descrito formas familiares para todas estas entidades, pero más particularmente para las formas corticorresistentes. La forma mejor individualizada es el SN congénito de tipo finlandés o CNF, denominado así por su frecuencia en Finlandia. Sin embargo, fuera de este cuadro muy particular han sido reportados, asimismo, otros casos familiares.

Compilando los datos publicados por 24 centros de nefrología pediátrica europeos, White y col, en 1973, han identificado 64 casos

entre los 1877 pacientes con síndromes nefróticos idiopáticos, es decir, el 3,55% de los enfermos⁽²⁾. En la mayoría de casos, la transmisión es compatible con un modo autosómico recesivo.

De igual manera, Corlon y col, en 1995, retomando la experiencia del servicio de nefrología de la universidad de Duke, en un período de 10 años, han identificado a 31 pacientes que presentaban una hialinosis segmentaria y focal familiar⁽³⁾. Estos pacientes pertenecían a ocho familias no consanguíneas y la transmisión parecía ser autosómica recesiva en las formas más precoces, mientras que una transmisión autosómica dominante, a penetración incompleta, parecía ser la más probable en las formas de comienzo más tardío (tercera y cuarta décadas de la vida).

FORMAS FAMILIARES DE SÍNDROMES NEFRÓTICOS CORTICORRESISTENTES

La forma más severa la constituye el SN congénito de tipo finlandés, cuyo gen, el gen NPHS1, ha sido localizado en el cromosoma 19 y luego, identificado por clonaje posicional⁽⁴⁾. Han sido detectadas mutaciones de este gen, a la vez, en familias de origen finlandés y en familias de otros orígenes geográficos⁽⁵⁾. El gen codifica para una nueva proteína, la nefrina, proteína transmembranal expresada específicamente en el podocito y particularmente a nivel del diafragma de hendidura (DH), que une los pies de los podocitos en la membrana basal glomerular (MBG)⁽⁶⁻⁸⁾.

Se han descrito, asimismo, formas familiares menos severas, generalmente denominadas hialinosis segmentaria y focal primitiva (*primary or idiopathic focal segmental glomerulosclerosis*), que se caracterizan por proteinuria progresiva, aparición de un SN y, finalmente, insuficiencia renal terminal. Se han descrito formas autosómicas dominantes y autosómicas recesivas, predominando las segundas.

Han sido localizados dos genes, uno en 19 q 13, locus cercano pero diferente del locus del SN de tipo finlandés (CNF)⁽⁹⁾ y el otro en 11 q 21-22⁽¹⁰⁾ en ciertas formas autosómicas dominantes.

Decano del Colegio Médico del Perú
Médico internista - Nefrólogo



El primero, el del 19 q 13, acaba de ser identificado: se trata del gen ACTN4, que codifica para la alfa-actinina 4, proteína que se liga a los filamentos de actina⁽¹¹⁾. Sin embargo, en algunas familias se ha excluido una unión genética a los dos loci conocidos hasta ahora, en los cromosomas 11 y 19, lo que prueba la heterogeneidad genética y la implicación de otros genes, no identificados aún, en la patogenia de la hialinosis segmentaria y focal.

En raros casos, han sido descritas mutaciones del gen WT-1, habitualmente encontradas en el síndrome de Drash o el síndrome de Frazier, que asocian nefropatía glomerular, predisposición tumoral y ambigüedad sexual, en ciertos casos de hialinosis segmentaria y focal familiar en pacientes de sexo femenino^(12,13).

Junto a estas formas aisladas, existen también formas sindrómicas aún más raras en que el SN se asocia a diversas manifestaciones extrarrenales, como displasia espondiloepifisaria, lesiones cutáneas y un déficit inmunitario en el síndrome de Schimke (MIM, 242900)⁽¹⁴⁾, una microcefalia y una hernia hiatal en el síndrome de Galloway (MIM, 251300)⁽¹⁵⁾.

Muy recientemente, por fin, ha sido mostrado que la inactivación del gen CD2ap, en el ratón, que codifica para la proteína CD2AP, favoreciendo el reclutamiento del receptor CD2 en los linfocitos T, provoca no sólo un déficit inmunitario sino, sobre todo, un SN precoz y que CD2AP se liga a la nefrina⁽¹⁶⁾. Estos resultados sugieren que ciertas mutaciones de este gen pudieran ser responsables de un fenotipo similar en el ser humano, asociando un SN corticorresistente y un déficit inmunitario.

Esta rápida enumeración muestra la extrema heterogeneidad de los síndromes nefróticos corticorresistentes tanto en el plano fenotípico como en el genético con la excepción probable de los síndromes nefróticos congénitos de tipo finlandés cuya presentación clínica e histológica es bastante homogénea.

IDENTIFICACIÓN DE LA PODOCINA

Caracterización de una nueva entidad de síndrome nefrótico corticorresistente familiar

En 1995, fue caracterizada una entidad particular de SN corticorresistente, de transmisión autosómica recesiva, de acuerdo a los siguientes criterios: inicio precoz antes de los 3 años, evolución constante hacia la insuficiencia renal terminal y ausencia de recidiva después del TR. En nueve familias, por estudios de ligazón, se localizó el gen responsable, llamado inicialmente SRN1 y, definitivamente, NPHS2, en el brazo largo del cromosoma 1 en 1 q 25-q 31, entre los marcadores D15452 y D15466⁽¹⁷⁾. Esta localización ha sido confirmada por otros grupos⁽¹⁸⁻²⁰⁾. Más recientemente, se ha demostrado igualmente una unión a esta región en una familia que presentaba una hialinosis segmentaria y focal que debutó en la edad adulta⁽¹⁹⁾.

Sin embargo, en otra familia estudiada, la relación con el locus ADPHS2 estuvo claramente excluida lo que prueba, aquí también, la existencia de heterogeneidad genética.

Las diversas experiencias de hibridación *in situ* han permitido mostrar que el gen NPHS2 se expresa únicamente a nivel de los podocitos en el riñón maduro. No fue posible observar, en los riñones fetales, ninguna señal genética en los estadios precoces del desarrollo del nefrón.

Se han detectado, en cambio, señales intensas en el segmento inferior del cuerpo en S, en la región correspondiente a los futuros podocitos. Esta expresión persiste en los glomérulos inmaduros y en los glomérulos maduros de la cortical profunda. El patrón de expresión es totalmente comparable al del gen de la nefrina⁽²²⁻²³⁾. Queda ahora por verificar si existe una expresión de la podocina en los mismos tejidos extrarrenales que la nefrina, a saber el páncreas y/o el cerebro posterior⁽²²⁻²³⁾. Si existe, la expresión es seguramente muy débil puesto que no ha sido detectada en Northern dot blot.

Estructura potencial de la proteína/codificada por el gen NPHS2

El gen NPHS2 codifica para una nueva proteína, que se ha llamado podocina, por el hecho de su expresión casi exclusiva a nivel de los podocitos. Los programas de predicción de estructura de proteínas han permitido establecer que la podocina es una proteína de 383 aminoácidos, compuesta por una porción N-terminal de 102 aminoácidos, de un dominio transmembranal de 16 a 18 aminoácidos y de una larga porción citoplasmática carboxi-termina de 263 aminoácidos. Presenta globalmente 38,5% de identidad y 62% de similaridad con la estomatina humana (llamada también banl 7) y 30,70% de identidad, 52% de similaridad con la proteína MEC 2 de *C. elegans*. Estas dos proteínas, como la podocina, poseen la misma estructura de proteína membranal con un dominio transmembranal y gran parte del dominio citoplasmático. Si se toman sólo en cuenta estas regiones, vale decir 248 aminoácidos, la podocina presenta 50% de identidad y 82% de similaridad con la estomatina y con MEC-02. La estomatina es una proteína de la pared del glóbulo rojo, cuyo papel no se conoce exactamente. Está ausente en los pacientes con estomatocitosis, anemia hemolítica hereditaria de transmisión autosómica dominante^(24,25). MEC-2 en *C. elegans* es específica de las neuronas mecanosensibles y parece tener una acción fundamental en la unión de los canales mecanosensibles al citoesqueleto microtubular⁽²⁶⁾. Ha sido observado recientemente que la estomatina está expresada en las neuronas sensitivas de mamíferos y pudiera desempeñar un rol en la mecano-transducción⁽²⁷⁾.

Se ha demostrado que las dos extremidades de la estomatina y del MEC-2 son citoplasmáticas, sugiriendo que dichas proteínas poseen una estructura similar a un alfiler de cabello, y están



ancladas a la membrana por el dominio membranar^(26,28). La estomatina es, además, capaz de formar oligómeros por su porción C-terminal⁽²⁹⁾ y posee dos cisteínas palmitoiladas de una parte y otra de su dominio transmembranar, aumentando su afinidad por la membrana plásmica⁽³⁰⁾. Es muy probable que la podocina tenga una estructura similar dada la importante similitud existente entre podocina y estomatina.

Existen otras proteínas membranales, como las caveolinas, que también poseen una estructura en forma de gancho de cabello y forman asimismo oligómeros. Esta oligomerización permite crear complejas estructuras, que se comportan como "andamiajes" en la membrana de las cavéolas⁽³¹⁾. Siguiendo el mismo modelo, la podocina –por oligomerización– pudiera formar una estructura más compleja a nivel de la membrana del podocito, que interactuaría con otras proteínas y serviría así de vínculo entre la membrana y el citoesqueleto.

Aún cuando la localización subcelular de la podocina no sea todavía bien conocida, resulta tentador imaginar una interacción directa o indirecta con la nefrina así como con otras proteínas expresadas a nivel del DH, como las proteínas ZO1 o CD2ap^(11,32).

La porción C-terminal de la podocina contiene seis prolinas, que son sitios de unión potenciales con los dominios SH3 (Src homology3) y pudiera, por tanto, interactuar con uno de los tres dominios SH3 de CD2AP. Es posible que la podocina se halle, asimismo, localizada a nivel de los contactos focales y se fije a las proteínas que unen los pedicelos con la MBG.

CONCLUSIÓN

Se acaba de identificar un nuevo gen, NPFS2, expresado prácticamente en forma exclusiva en el riñón y, a nivel del mismo, sólo por los podocitos. Este gen codifica para una nueva proteína, que ha sido denominada podocina, la que desempeña un rol mayor en la filtración glomerular, como lo prueban la localización de la proteína a nivel de los podocitos y la aparición de un SN cuando esta proteína falta o está alterada.

Es, asimismo, legítimo pensar que ciertas mutaciones de este gen serán encontradas no sólo en las formas familiares de SN corticorresistentes, sino también en ciertas formas esporádicas. Debería, pues, efectuarse una investigación de mutación del gen NPFS2 en todo paciente joven (niño) que presente un SN corticorresistente antes de plantearse cualquier otra terapéutica. Podrá así implementarse un test diagnóstico que tome en cuenta la mutación preponderante (R138Q). Se podrá, asimismo, investigar la implicación del gen NPFS2 en otras formas de hialinosis segmentaria, familiares o no. Otros tipos de mutaciones pudieran ser responsables de formas menos severas⁽³³⁾ –así como en algunas nefropatías secundarias (sida, reducción nefrónica...) donde las mutaciones del gen NPFS2 pudieran ser ya no causales sino predisponer al desarrollo de las lesiones renales.

De manera más general, es seguro que el descubrimiento de rol de numerosos genes a expresión principalmente podocitaria en el desarrollo de diversos SN, abre la vía a una radical modificación de la comprensión de la fisiopatología del podocito y de la barrera de filtración glomerular.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Broyer M, Meyriera, et al. Minimal changes and focal segmental glomerular sclerosis. In: Cameron S, Davison AM. (Eds) Oxford, Oxford University Press, 1992. 298-339.
2. White R. The familial nephrotic syndrome. I. A European Survey. *Clin Nephrol* 1973; 1:215-9.
3. Conlon PH, Butterly D, Alberst, et al. Clinical and pathological features of familial focal segmental glomerulosclerosis. *Am J Kidney Dis* 1995; 26:34-40.
4. Kestila M, Lenkheri U, et al. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein-nephrin is mutated in congenital nephrotic syndrome. *Mol Cell* 1998; 1:575-82.
5. Lenkheri U, et al. Structure of the gene for congenital nephrotic syndrome of the Finnish type (NPFS1) and characterization of mutation. *Am J Hum Genet* 1999; 64:51-61.
6. Ruotsalainen V, Ljunberg P, Vartiavaara J, et al. Nephrin is specifically located at the slit diaphragm of glomerular podocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96:7962-67.
7. Holzman LB, John PL, Kovari IA, et al. Nephrin localizes to the slit pore of the glomerular epithelial cell. *Kidney Int* 1999; 56:1481-91.
8. Holthoffer H, Aholah, et al. Nephrin co localizes at the podocyte filtration slit area and is characteristically spliced in the human kidney. *Am J Pathol* 1999; 155:1681-87.
9. Mathis BJ, Kimsh, Calabrese K, et al. A locus for inherited focal segmental glomerulosclerosis maps to chromosome 19 q 13. *Kidney Int* 1998; 53:282-6.
10. Winn M, et al. Linkage of a gene causing familial focal segmental glomerulosclerosis to chromosome 11 and further evidence of genetic heterogeneity. *Genomics* 1999; 58:113-20.
11. Kaplan JM, Han Kims, North KN, et al. Mutations in ACTN4, encoding α -actinin-4 cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nature Genet* 2000; 24:251-6.
12. Demmer L, Primmack W, Loik V, et al. Frasier syndrome: a cause of focal segmental glomerulosclerosis in a 46, xx female. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10:2215-18.
13. Denamur E, Bocquet N, et al. Mother-to-child transmitted WTI splice-site mutation is responsible for distinct glomerular diseases. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10:2219-23.
14. Boerkoel CF, O'Neill S, et al. Manifestations and treatment of Schimke immuno-osseous dysplasia: 14 new cases and a review of the literature. *Eur J Pediatr* 2000; 159:1-7.
15. Gallagher WH, Mowat AP. Congenital microcephaly with hiatus hernia and nephritic syndrome in two sibs. *J Med Genet* 1968; 5:319-21.
16. Shih N-Y, Li J, Karpitskii V, et al. Congenital nephrotic syndrome in mice lacking CD-2-associated protein. *Science* 1999; 286:312-6.
17. Fuchshuber A, Jean G, Gribouval O, et al. Mapping a gene (SRN1) to chromosome 1q25-q31 in idiopathic nephritic syndrome confirms a distinct entity of autosomal recessive nephrosis. *Hum Mol Genet* 1995; 4:2155-58.
18. Lench NJ, Moynihan L, Carradice A, et al. Autozygosity mapping of a locus for autosomal recessive focal segmental glomerulosclerosis (FGS) to chromosome 1q25-q31. *Am J Hum Genet* 1998; 63:A296.
19. Tsukaguchi SH, et al. A locus for adolescent and adult onset familial focal segmental glomerulosclerosis on chromosome 1q25-31. *Am Soc Nephrol* 2000; 11:1674-80.
20. Boute N, Cribouval O, Roselli S, et al. The NPFS2 gene encoding a novel glomerular protein, podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephritic syndrome. *Nature Genet* 2000; 24:349-54.
21. Fuchshuber A, Jarssen F, Gribouval O, et al. Pre-symptomatic diagnosis of familial steroid-resistant nephritic syndrome. *Lancet* 1996; 347:1050-51.
22. Moeller MJ, Kovari A, Holzman LB. Evaluation of a new tool for exploring podocyte biology. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11:2306-14.
23. Putzala H, Soininen R, et al. The murine nephrin gene is specifically expressed in kidney, brain and pancreas; inactivation of the gene leads to massive proteinuria and neonatal death. *Hum Mol Genet* 2001; 10:1-8.
24. Stewart GW, et al. Isolation of cDNA coding for an ubiquitous membrane protein deficient in high Na⁺, low K⁺ stomatocytic erythrocytes. *Blood* 1992; 79:1593-601.
25. Gallagher PG, et al. Structure, organization and expression of the human band 7.2b gene, a candidate gene for hereditary hydrocystosis. *J Biol Chem* 1995; 270:26358-63.
26. Huang M, Gu G, Ferguson EL, Chalfie M. A Stomatatin-like protein necessary for mechano sensation in *C. elegans*. *Nature* 1995; 378:292-95.
27. Mannfeldt AG, Carroll P, Stucky CL, Lewin GR. Stomatatin, a MEC-2 like protein, is expressed by mammalian sensory neurons. *Mol Cell Neurosci* 1999; 13:391-404.
28. Salzer U, et al. Identification of the phosphorylation site on human erythrocyte band 7 integral membrane protein. *Biochem Biophys Acta* 1993; 1151:149-52.
29. Snyers L, Umlauf E, Prohaska R. Oligomeric nature of the integral membrane protein stomatin. *J Biol Chem* 1998; 273:17221-26.
30. Snyers L, Umlauf E, Prohaska R. Cysteine 29 is the major palmitoylation site on stomatin. *FEBS Lett* 1999; 449:101-4.
31. Engelmanja, Zhang XL, Razzani B, et al. P42/44 MAP-Kinase-dependent and independent signaling pathways regulate caveolin-1 gene expression. *J Biol Chem* 1999; 274:32333-41.
32. Krizw RJ, Kretzel M, Mundel P. The glomerular slit diaphragm is a modified adherence junction. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11:1-8.
33. Tsukaguchi SH, Kim SH, Abreu P, et al. Missense mutations in podocin in a family with adult-onset FSGS. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11:415A.