

Estructura de la barrera de filtración y sus alteraciones. Segunda parte.

José Petrolito⁽¹⁾ y Armando Luis Negri⁽²⁾

⁽¹⁾ Cátedra de Nefrología, Escuela de Postgrado, Universidad Católica Argentina. Buenos Aires. Argentina.

⁽²⁾ Cátedra de Fisiología, y Biofísica, Escuela de Medicina de la Univ. del Salvador. Buenos Aires. Argentina.

RESUMEN

La segunda parte de este trabajo tiene como objetivo principal, reafirmar conceptos vertidos en la primera parte y analizar la fisiopatología de algunas nefropatías que se originan en las alteraciones de la barrera de filtración glomerular (BFG).

Si bien el podocito (P) ha ocupado el centro de la BFG, recientes estudios ontogenicos han demostrado que el endotelio glomerular tiene una función y estructura únicas en relación al resto del sistema endotelial del organismo, posee poros, en vez de fenestras y diafragmas; por lo tanto, es necesario, tener una visión mas integrada de la BFG. En el endotelio se han hallado dos factores de crecimiento: la angiopoietina 1 y 2 que son antagónicas e intervienen activamente en algunas afecciones glomerulares.

Someramente hemos analizado aspectos del ciclo celular mencionando algunas proteínas reguladoras en sentido positivo o negativo: las ciclinas y las quinasas respectivamente. Ante una agresión pueden responder positivamente y mantener la integridad de la BFG o desembocar en diversos tipos de nefropatías.

El sistema renina angiotensina se expresa en los podocitos y, en el endotelio, sus efectos son bastante conocidos pero aun no se sabe como actúan a nivel de la BFG.

La nefropatía diabética (ND) fue considerada hace años como patología mesangial primaria y los borramientos de los foot procesess (FP) como secundarios a la proteinuria; sin embargo, en la actualidad, ha sido ampliamente reconocido el hecho de que la principal causa radica en los podocitos y su proteína la nefrina.

En cuanto a la nefropatía membranosa MN se ha sugerido que la patogenia radica en una activación de los podocitos por la fracción del complemento C5b-9.

Los síndromes nefróticos cortico resistentes (SNCR) son causados por mutaciones recesivas del gen NPHS2 (podocina). En niños las mutaciones del gen MPHS1 expresan la nefrina, además de la podocina, laminina B2, y fosfolipasa C-e son causa de SNCR, así como en el adulto las mutaciones del canal de calcio TRPC6, y ACTN4.

Se consideraron algunos aspectos terapéuticos de los corticoesteroides, las estatinas, el ácido retinoico en la nefropatía por HIV-1 y el 1,25 hidroxí vitamina D3.

Palabras clave: Barrera de filtración glomerular. Endotelio Glomerular. Ciclo Celular. Angiotensina II. Nefropatía Diabética. Ácido Retinoico. Síndrome Nefrótico Cortico Resistente. Glomerulo Esclerosis Focal y Segmentaria.

ABSTRACT

The main objective of this second part of the "Glomerular Filtration Barrier (GFB)" review is to highlight some concepts previously defined in the first part of this issue and to analyze current concepts regarding the pathophysiology of some glomerular diseases derived from alterations in this barrier

Although the podocyte always dominated the focus of our attention, recent evidences derived from ontogenic analysis of the endothelial barrier encouraged us to build up an integrated vision of the GFB. It is widely recognized that the endothelial layer has unique features like those related to structural and functional characteristics –like the presence of fenestrac and diaphragm- that are distinctive. Two endothelial-derived growth factors (angiotoietin 1 and 2) have antagonistic functions and are believed to have a role in some glomerular diseases.

We have already mentioned that some regulatory proteins, such as cyclines and proteases, are able to react to different stimuli by retaining the integrity of the GFB or otherwise inducing glomerular injury.

Podocytes and endothelial cells also express components of the renin-angiotensin-system; whose effects on the GFB are incompletely recognized.

The renal involvement in diabetes mellitus was considered until recently as a primary mesangial condition with the effacement of the foot processes as a consequence of the increased urine protein excretion. Nonetheless it has been amply recognized the involvement of the podocyte-borne protein, nephrine.

C5b-9-complement associated podocyte activation has been considered as responsible for the development of membranous nephropathy.

Similarly, steroid-resistant nephrotic syndrome, in children was associated with autosomic recessive genes mu-

tations encoding different proteins with deficit of nephrin, podocyn, laminin B-2, phospholipase C-e.; and in adult patients alteration of ACTN4 as well as in the TRPC6 calcium channel, expressed as focal and segmental glomerulosclerosis (FSGS).

The role of esterooids, statins and the retinoic acid (the latter for HIV-related nephropathy) have also been extensively considered, as well as the 1,25 D3 vitamins.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años hemos asistido a una verdadera explosión en la investigación y el conocimiento de la barrera de filtración glomerular (BFG), a tal punto que nos hemos visto obligados a incorporar estos nuevos conocimientos sobre la estructura, función y mantenimiento de la misma en el análisis de las distintas glomerulopatías primarias y secundarias. Basados en el rol preponderante de los podocitos en la patogenia de las enfermedades glomerulares primarias y secundarias, algunos autores han propuesto un nuevo vocabulario incorporando expresiones tales como: podocitopatías, podocitopenia, podocitopatología.

El podocito

El podocito (P) tiene una citoarquitectura compleja y terminal, semejante a la célula nerviosa pues posee vesículas sinápticas y expresa proteínas halladas en las neuronas. También recibe y emite una importante cantidad de información y carece de capacidad reproductiva; parecería, en sentido figurado, que es una célula inteligente.

Si bien el P es la principal estructura celular que aparentemente interviene en la formación y mantenimiento de la BFG, estudios en el terreno experimental, ontogénicos y de glomerulogénesis en particular, demuestran que tienen una posición más integrada en la BFG.

Por ejemplo, la MBG parece jugar un papel preponderante en el desarrollo de la BFG pues los cambios que operan en su composición son una condición preponderante en la maduración de los P sobre todo de los "foot proceses" (FP) y la membrana interdigitada (SD).

El factor de crecimiento endotelial (VEGF-A) es producido por los podocitos que durante el desarrollo atrae a las células endoteliales y forma los capilares glomerulares. Las primeras descripciones de los capilares glomerulares sugerían la presencia de fenestraciones "puenteadas" por diafragmas cargados negativamente; este criterio fue ampliamente aceptado hasta hace muy pocos años. En la actualidad se considera que el endotelio glomerular posee poros y carece de diafragma; estos poros son exclusivos de los capilares glomerulares. ⁽¹⁾

La vasculogénesis y angiogénesis están moduladas por la angiopoyetina 1 (Ang.1) y angiopoyetina 2 (Ang 2). Estas son factores de crecimiento que intervienen en el desarrollo, mantenimiento y renovación del capilar glomerular. La Ang1 y Ang2 son ligandos para el receptor tirosinoquinasa Tie2 hallado primariamente en células endoteliales ⁽²⁾.

La Ang1 es el principal ligando Tie2, promueve la angiogénesis, mejora la sobrevida endotelial, modula la per-

meabilidad capilar y estabiliza las células perivasculares. La Ang 2, por su parte, es segregada por las células endoteliales y se expresa transitoriamente durante el desarrollo glomerular; en la vida adulta desaparece y no es detectada. Ang 2 tiene un efecto antiangiogénico y es la antagonista natural de la Ang1. En ciertas enfermedades, como la nefropatía diabética o diversas glomerulonefritis se encuentra sobreexpresada. ⁽³⁾

Se ha sugerido que la relación entre los niveles de Ang1 y Ang2 están delicadamente regulados por los podocitos que actúan a favor de la Ang1; de tal manera se mantiene la integridad de la BFG. ⁽⁴⁾

El mantenimiento de la estructura y función de los podocitos maduros y diferenciados es de fundamental importancia pues ante una agresión glomerular, sufren diversas alteraciones: pérdida de la diferenciación, hipertrofia incluyendo proliferación, apoptosis, o necrosis. Estas respuestas están reguladas por el ciclo celular (C.C.).

La planificación del C.C. se halla bajo el control de multiproteínas complejas constituidas por subunidades calíticas (las Kinasas) y subunidades reguladoras (las Ciclinas).

Estos complejos proteicos regulan secuencialmente el C.C. a través de la activación ciclina/ciclina-quinasa dependiente (CdK) incluyendo la progresión a la fase inactiva del C.C., denominada (Go), la síntesis del DNA (fase S) y la mitosis (faseM). ⁽⁵⁾ Cada una de estas fases está regulada por genes que expresan proteínas específicas. Durante la glomerulogénesis las células precursoras de los podocitos proliferan. En la fase S, los futuros P son captados por el C.C. A partir de este momento, se expresan marcadores de proliferación tisular y antígenos nucleares (PCNA, Ki67) los que asociados a las ciclinas A provocan síntesis del DNA. La ciclina B1 y Cdc2 inducen mitosis de los P. Los inhibidores de CdK (p27 y p57) en esta fase de la glomerulogénesis se hallan ausentes. Cuando se forman los capilares del glomerulo la actividad mitótica cesa, se reorganiza el citoesqueleto y aparecen marcadores de maduración celular: sinaptopodina, proteína epitelial glomerular 1, y se desarrollan los foot proceses (FP). Los cambios operados llevan a una disminución de los promotores del C.C. (ciclinas y CdK) y concomitantemente a una sobreexpresión de los inhibidores del ciclo: (p21, p27). El resultado final es: maduración de los P, inactividad del fenotipo, y la detención de la proliferación.

Luego de una agresión los P retornan al C.C. En la mayoría de las glomerulopatías: nefropatía diabética, glomeruloesclerosis focal y segmentaria, cambios mínimos y nefropatía membranosa, a pesar del ingreso al C.C. los podocitos no proliferan pues predominan los p21, p27, p57 que son inhibidores de CdK. Las fases G/S que preceden a la detención del C.C. limitan la síntesis del DNA y la mitosis por consiguiente, no hay proliferación, pero los cambios operados provocan apoptosis o despredimiento de los P de la MBG.

En ciertas Glomerulopatías sin embargo, se puede observar cierto grado de proliferación. Shankland ⁽⁶⁾ y Barisoni ⁽⁷⁾ demostraron en glomerulopatías colapsantes,

que el número de P aumenta pero son des-diferenciados pues pierden marcadores de maduración: el fenotipo se desregula y la sinaptopodina desaparece. Estos aspectos proliferativos se superponen con áreas colapsantes como se puede observar en la nefropatía por HIV.

Moeler y col.⁽⁶⁾ Han demostrado que los P proliferan en la fase aguda de las glomerulonefritis con semilunas pero no expresan los marcadores específicos de los P maduros pues carecen de: nefrina, CD2AP, y podocina, lo que indica que los P han retrogradado a estadios menos diferenciadas; por lo tanto, la proliferación no es reparativa resultando en un rápido deterioro de la función renal.

Ante una agresión los P, en general, responden con hipertrofia, sin cambios proliferativos.

Como ya hemos visto el C.C. se halla inactivo. La hipertrofia es un fenómeno activo en el cual las células ingresan al C.C. desde la fase G0. La siguiente fase es la G1 que se caracteriza por un aumento del RNA y de la síntesis proteica, aspecto que antecede a la replicación del DNA. Los P no progresan a la fase S y por lo tanto no hay síntesis del DNA ni Mitosis (fase M). Estudios recientes han demostrado que la hipertrofia es un fenómeno adaptativo que tiende a cubrir áreas de la MBG desnudas por apoptosis o desprendimiento de los P.

Esta respuesta aumenta el volumen celular y los fenómenos de fricción mecánica; la consecuencia de estos eventos es la hipertensión glomerular. (Ver *Gráfico N° 1*)

Podocitos, Sistema Renina Angiotensina y Endotelio Glomerular

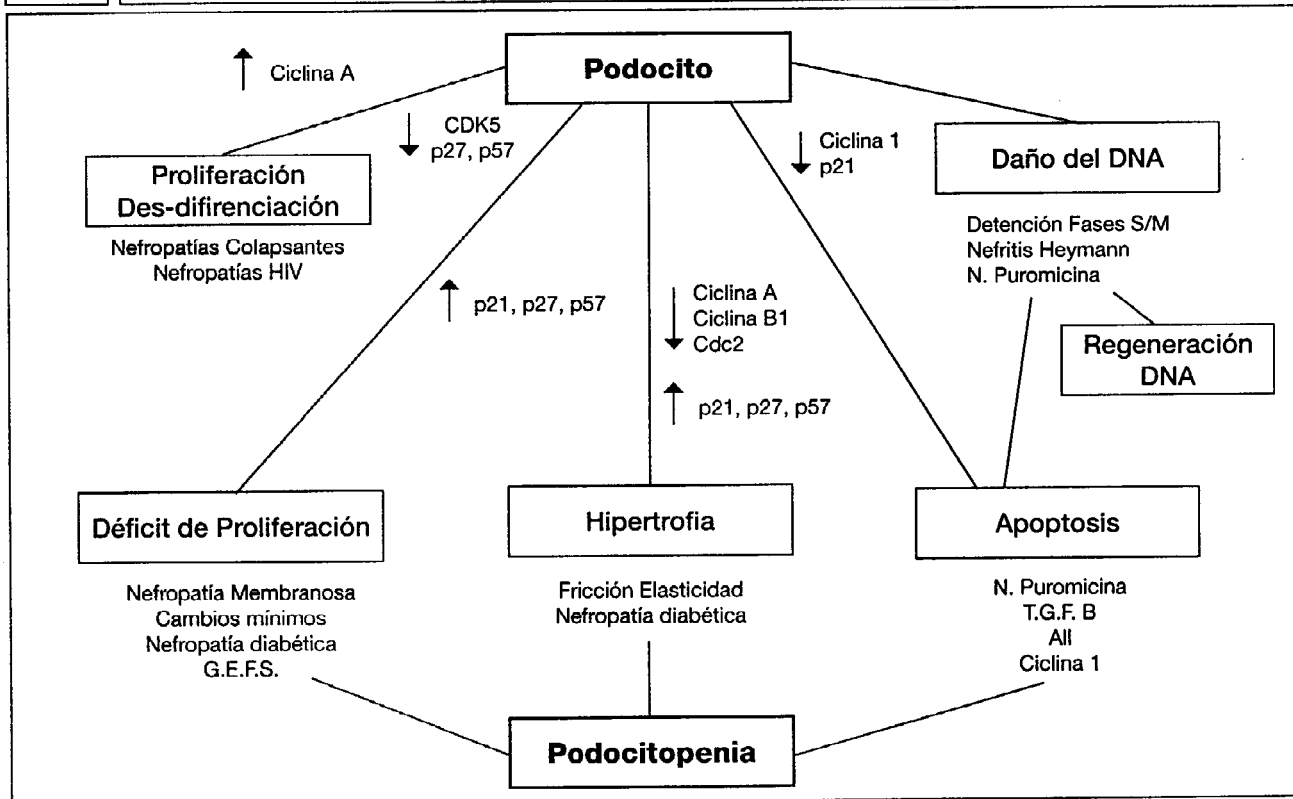
Numerosos estudios han demostrado que los inhibidores enzimáticos de la AII (IECA) y de los receptores AT1 de la AII, reducen la proteinuria y retardan la evolución de la enfermedad renal.

El sistema renina angiotensina (RAS) juega un papel importante en el mantenimiento de la presión arterial sistémica y glomerular, y del balance hidroelectrolítico.

Además de las acciones hemodinámicas se conocen otras acciones de la AII tales como: promotor del stress oxidativo y estimulación de citocinas proinflamatorias, aumento de la expresión del TGF- β que estimula la síntesis proteica del colágeno tipo IV en la matriz extracelular, estimulación de factores de crecimiento, proliferación, e hipertrofia. AII también produce apoptosis del mesangio glomerular de las células endoteliales, del epitelio tubular y de los fibroblastos residentes.

La AII tiene un notable efecto sobre la arteriola aferente y eferente provocando hipertensión glomerular; por ejemplo se sabe que la vasoconstricción de la AII en la arteriola eferente es entre 10 y 100 veces superior a la que se obtiene sobre la arteriola aferente. Esto resulta en un aumento de la fracción de filtración glomerular y consecuentemente hiperfiltración y proteinuria. Los bloqueantes de la enzima convertidora (IECA) y los bloqueantes del receptor AT1 pueden revertir todas estas acciones.

GRAF. 1 Proteínas reguladores del ciclo celular de los Podocitos y respuesta ante la agresión



Dados los múltiples efectos de la AII ha cobrado especial interés la producción local de la misma. Los P humanos diferenciados segregan AII, efector final del sistema renina-angiotensina (RAS).

Los precursores de la AII como angiotensinógeno, renina, los receptores AT1 y en menor proporción los AT2, han sido detectados en los podocitos por distintos métodos.⁽⁹⁾

Los podocitos son altamente sensibles a las fuerzas de tensión como consecuencia del aumento de la presión capilar. Algunos autores han demostrado in vitro que los podocitos responden al stress mecánico mediante la producción de AII, sin embargo Max Liebau y col. hallaron que la secreción de AII por los podocitos no fue alterada por el stress mecánico.

Morton y col.⁽¹⁰⁾ han demostrado la mecano sensibilidad y los fenómenos de elasticidad de los podocitos in vitro mediante fuerzas osmóticas y activación del canal Ca⁺⁺-K⁺ voltaje sensitivo.

La impulsión mecánica es una noxa importante pues activa la producción de AII por los podocitos; por otro lado, los fenómenos cíclicos de elasticidad provocan apoptosis del receptor AT1.

Algunos estudios han mostrado que al nacer, ratas transgénicas tienen una distribución y cantidad normal de podocitos y receptores AT1, pero con el correr del tiempo desarrollan espontáneamente proteinuria, pseudoquistes en los podocitos, retracción de los FP y desprendimiento de la MBG. Estos datos indicarían que una influencia directa de las señales de los receptores AT1 a nivel de los podocitos conduce a un cuadro estructural semejante a la GEFS e insuficiencia renal progresiva. Estos efectos se exacerban, si se los somete a la acción de AII humana ya que ésta actúa como promotor de la nefrina, la cual, se sobreexpresa en el receptor (hATI) con albuminuria.^(11,12,13)

Xiu-Bin Liang y col.⁽¹⁴⁾ destacaron el importante papel que juegan los podocitos y las células endoteliales glomerulares (CEG) en la progresión y regresión de la glomerulosclerosis. Los IECA son fundamentales en el tratamiento de las enfermedades crónicas del riñón por su acción sobre la presión arterial (PA) y la producción de matriz extracelular. Estos autores investigaron en ratas la interacción de los podocitos y las CEG. Estudiando cultivos de podocitos sobrenadantes antes y después de someterlos a dosis subletales de aminonucleosido de puromicina (ANP) en presencia o ausencia de inhibidores de los receptores AT1 sobre las CEG, fueron evaluados crecimientos y neoformaciones endoteliales. El sobrenadante de podocitos normales aumenta significativamente los efectos positivos sobre las CEG mientras que lo contrario se observa cuando se los somete a la acción toxica de ANP. Estos efectos se deberían a la disminución del factor de crecimiento endotelial A (VEGF-A) y de la angiopoietina-1 (Ang-1). Esta subregulación de VEGF-A y Ang-1 revierte si los podocitos alterados son tratados con inhibidores de los receptores AT1. Estos datos apoyan la hipótesis de que la acción de los inhibidores AT1 sobre los podocitos pueden mediar la remodelación capilar en el humano.

Macconi D y col.⁽¹⁵⁾ perfundiendo con AII riñones aislados de rata han demostrado que la AII aumenta la eliminación proteica. La AII induce reorganización de las fibras de F-actina y redistribución de la zónula ocludens-1 (ZO-1); la respuesta en la monocapa de los podocitos se traduce por un aumento de la permeabilidad a la albúmina.

La disfunción de los podocitos mediada por AII es en parte dependiente de la activación de Src kinasa-fosforilasa C. Estos datos revelan que las señales de trasducción intracelulares y las estrategias tendientes a estabilizar los contactos de los podocitos entre si son fundamentales para la renoprotección (o podocito protección) de los IECA e inhibidores del receptor AT1.

Alteraciones de la barrera de filtración en distintas glomerulopatías primarias y secundarias

1. Nefropatía Diabética:

La nefropatía diabética (ND) es la principal causa de insuficiencia renal crónica (IRC) en nuestro país y en Estados Unidos. Las alteraciones de las células mesangiales han sido las principales referentes en la patogenia de la nefropatía diabética, pues en la etapa preclínica predomina la nefromegalia a expensas de un aumento del volumen glomerular y tubular⁽¹⁶⁾. Las alteraciones de los podocitos y la pérdida de los FP fueron considerados durante muchos años elementos secundarios a la proteinuria. Sin embargo, la génesis de la proteinuria en ND no ha sido suficientemente explicada por la expansión de la matriz mesangial, mas bien, debe ser atribuida a las alteraciones de la BFG.⁽¹⁷⁾

Observaciones clínicas en pacientes con ND tipo 1 revelan que hay un periodo latente de varios años antes del comienzo de la diabetes (D), este período se caracteriza por presencia de nefromegalia y aumento del filtrado glomerular sin anormalidades clínicas. Además, el 30% de los pacientes genéticamente predispuestos a padecer D presenta, como primera manifestación clínica, microalbuminuria aún mucho antes que la función renal se deteriore. Recientemente se ha demostrado que los podocitos se encuentran funcional y estructuralmente lesionados y han comenzado a evaluarse las causas y consecuencias de la pérdida precoz de los mismos en la ND. Este fenómeno es predictor de progresión a la IRC.⁽¹⁸⁾

Los podocitos jóvenes son células sensibles a insulina tal como lo son los adipocitos, y las células musculares. La nefrina está capacitada para captar, por acción de la insulina, moléculas de glucosa y mediante vesículas transportadoras GLUT1 y GLUT4 desplazarse a lo largo de la membrana plasmática y fusionarse con la membrana celular. La nefrina interactúa con el cito esqueleto de actina y es requerida para el transporte de la glucosa desde la membrana plasmática a la célula. Hay suficientes evidencias de que la disminución de la nefrina en cantidad o localización es causa de síndrome nefrótico (SN) incluida la ND.

En la ND se ha demostrado que la expresión de la nefrina disminuye a medida que la albuminuria progresa. Esta acción no depende de otras moléculas como la podocina (CD2AP).

La ingesta de hidratos de carbono facilita la rápida remodelación estructural requerida para resistir el aumento del flujo sanguíneo renal luego de la misma. Esta respuesta adaptativa se pierde en la nefropatía diabética resultando en disfunción de los podocitos, ruptura de la BFG y proteinuria.⁽¹⁹⁾

Con el fin de detectar precozmente las anomalías de los podocitos asociados a proteínas en pacientes D se analizaron en orina las concentraciones de nefrina. La misma se halló en el 30% de las orinas de los pacientes con normoalbuminuria, en el 17% de aquellos con microalbuminuria, y en el 28% de quienes presentaban macroalbuminuria asociada a D tipo I; pacientes sanos no eliminaron en orina nefrina.⁽²⁰⁾

Susztak y cols.⁽²¹⁾ han demostrado que la apoptosis de los podocitos aumenta notablemente con la hiperglucemia para lo cual usaron dos tipos de ratas; Akita que reproduce diabetes tipo 1 y ratas obesas para la diabetes tipo 2. En ambos modelos observaron que la apoptosis y pérdida de los podocitos coinciden con la eliminación de albúmina en la orina. El aumento de la glucosa extracelular (30 mmol/l.) estimula rápidamente la generación extracelular de especies reactivas de oxígeno (ROS) a través de NADPH oxidasa mitocondrial y, la activación del mitógeno proapoptótico activado p38-proteína quinasa, y caspasa 3 en los podocitos. Este modelo experimental es ilustrativo de la fisiopatología de la nefropatía diabética en ratas con diabetes tipo 1 y 2.

La hiperglucemia, las proteínas no enzimáticamente glicosiladas, el estrés mecánico asociado a la hipertensión arterial, conducen a la desregulación de la nefrina cuyas propiedades antiapoptóticas han sido extensamente analizadas. La pérdida de la nefrina lleva a la retracción de los FP con aumento de la proteinuria. Como hemos visto, un mediador importante de la supresión de la nefrina es la AII la que puede activar citocinas como el TGF-beta1 y el sistema VEGF.⁽²²⁾

El TGF-beta1 provoca un aumento de la matriz mesangial, depósitos en la MBG, apoptosis y desprendimientos de los podocitos. El VEGF tiene un efecto autocrino sobre la función de los podocitos incluyendo la síntesis de los componentes de la MBG.

A través de efectos moleculares sobre los podocitos, el VEGF parecería jugar un rol importante en la proteinuria D, induciendo acciones hemodinámicas y modificaciones de la permeabilidad del capilar glomerular.

La MBG se desnuda y adhiere a la cápsula de Bowman, aspectos estructurales que marcan el comienzo de la glomerulosclerosis.⁽²³⁾

El control estricto de la glucemia, los IECA o inhibidores del receptor AT1 son de vital importancia para la protección de los podocitos y la expresión de la nefrina.

2. Nefropatía Membranosa:

La patogenia de la nefropatía membranosa (NM) se caracteriza por la formación de depósitos subepiteliales in situ en la lamina rara externa de la MBG, sin inflamación, y funcionalmente por un marcado aumento de la proteinuria.

El blanco es el epitelio visceral ya por daño directo y - o activación de los podocitos a través del complemento. Los complejos inmunes son IgG, a menudo IgG4 y la respuesta inmune es tipo celular (2T). La NM es una enfermedad Th2. La respuesta humoral resulta en depósitos de Ig y activación del complemento⁽²⁴⁾. La formación e inserción en la membrana celular de los podocitos del complemento C5b-9 es la causa de la lesión glomerular en la NM.

Depósitos sublíticos de C5b-9 en los podocitos, inducen producción de proteasas, oxidantes, prostanoïdes, componentes de la matriz extracelular, y citocinas incluyendo TGF-beta.

El C5b-9 altera el citoesqueleto de actina y lleva a una distribución anormal de proteínas en el SD, los podocitos viables se desprenden y caen al espacio de Bowman.⁽²⁵⁾

Estos eventos generan una pérdida de la integridad funcional de la MBG y un caos total en la barrera de filtración de los podocitos que se traduce en proteinuria masiva.

Los componentes del complemento en la orina proteinúrica provocan daños en el epitelio tubular resultando en la nefropatía intersticial de la NM.⁽²⁶⁾

La medida en orina de C5b-9 o de podocitos puede ser útil en la medida de la actividad y de la respuesta terapéutica. Estudios más recientes del ciclo celular de proteínas y DNA en los podocitos han aclarado porque estas células no proliferan pues carecen de citocinesis (división celular) a pesar de que muestran cierto grado de activación celular, síntesis de DNA, mitosis ocasionales y ploidía en respuesta al daño que provoca el C5b-9; la pérdida celular es irreparable en la NM.⁽²⁷⁾

Además mientras ocurre el ataque sublítico en los podocitos del C5b-9 el ciclo celular entra en asociación con proteínas mitóticas sobre expresadas tales como B1, B2, y D1, C5b-9 frenan la división de los podocitos en fase G2/M evitando la mitosis y citocinesis.⁽²⁸⁾

Este freno a la proliferación de los podocitos en la evolución de la NM se considera que es un factor que contribuye a la glomerulosclerosis e I.R.C.

El tratamiento actual de la progresión de la enfermedad renal se realiza con bloqueantes de la enzima convertidora de la angiotensina II (AII) (IECA) o bloqueantes del receptor AT1, o ambos.

3. Síndrome nefrótico esteroïdo-resistente:

Las maniobras experimentales sobre el mesangio han fracasado en provocar esclerosis glomerular; en cambio, el epitelio visceral (podocitos), se ha mostrado particularmente sensible a desarrollar glomerulosclerosis tanto en humanos como en modelos experimentales. Las lesiones de los podocitos conducen a proteinuria nefrótica y en un periodo de tiempo variable a la esclerosis, la velocidad de progresión depende de la lesión inicial, de mutaciones en los genes que se expresan en los podocitos y de la respuesta al tratamiento esteroïdeo. Un estímulo único y breve puede activar el epitelio visceral y desencadenar un "efecto dominó", tomando progresivamente células que no fueron directamente afectadas al inicio.⁽²⁹⁾

El síndrome nefrótico es frecuente en niños, puede ser familiar ⁽³⁰⁾, cortico sensible (SNCS) o cortico-resistente (SNCR). Las mutaciones NPHS2 se han detectado en casos cortico-resistentes de SN esporádicos, en algunos NF congénitos, y en GEFS familiar de comienzo tardío. ⁽³¹⁾

El SNCR comienza en la edad temprana de la vida; en 440 pacientes pertenecientes a 404 familias diferentes, la edad media de comienzo del SN fue de 1,75 años y 18,1% presentaron mutaciones recesivas para el gen NPHS2 que codifica la podocina. ^(32,33)

En 28% de casos esporádicos de SNCR se hallaron mutaciones recesivas del gen NPHS2.

Mutaciones que causan SN recesivos en niños se hallaron en el gen NPHS1 que codifica la nefrina, así como en la podocina, lamininaB-2, (LAMB2), y fosfolipasa C-e (PLCE1). En adultos con SNCR dominan las mutaciones del canal de calcio TRPC6 y ACTN4⁽³⁴⁾. Evolucionan precozmente a cambios mínimos (CM) o glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GEFS).

Mutaciones disgenicas NPHS1 y NPHS2 cambian el fenotipo y terminan en GEFS.

Todas las nefropatías en las cuales están implicadas las mutaciones del gen NPHS2 son cortico-resistentes.

Como hemos analizado anteriormente, la podocina interactúa con la nefrina, Neph 1 y la proteína adaptadora CD2AP, la pérdida del SD y la BFG, la proteinuria nefrótica es inevitable.

En la región que codifica el carboxi terminal de la podocina se han localizado la mayoría de las mutaciones del gen NPHS2; en la actualidad se conocen mas de 30⁽³⁵⁾. Hay una variante genética de la podocina R229Q que se

encuentra en el 4% de la población Europea y se asocia frecuentemente con microalbuminuria. ⁽³⁶⁾

4. Glomerulo esclerosis focal y segmentaria autosomica dominante:

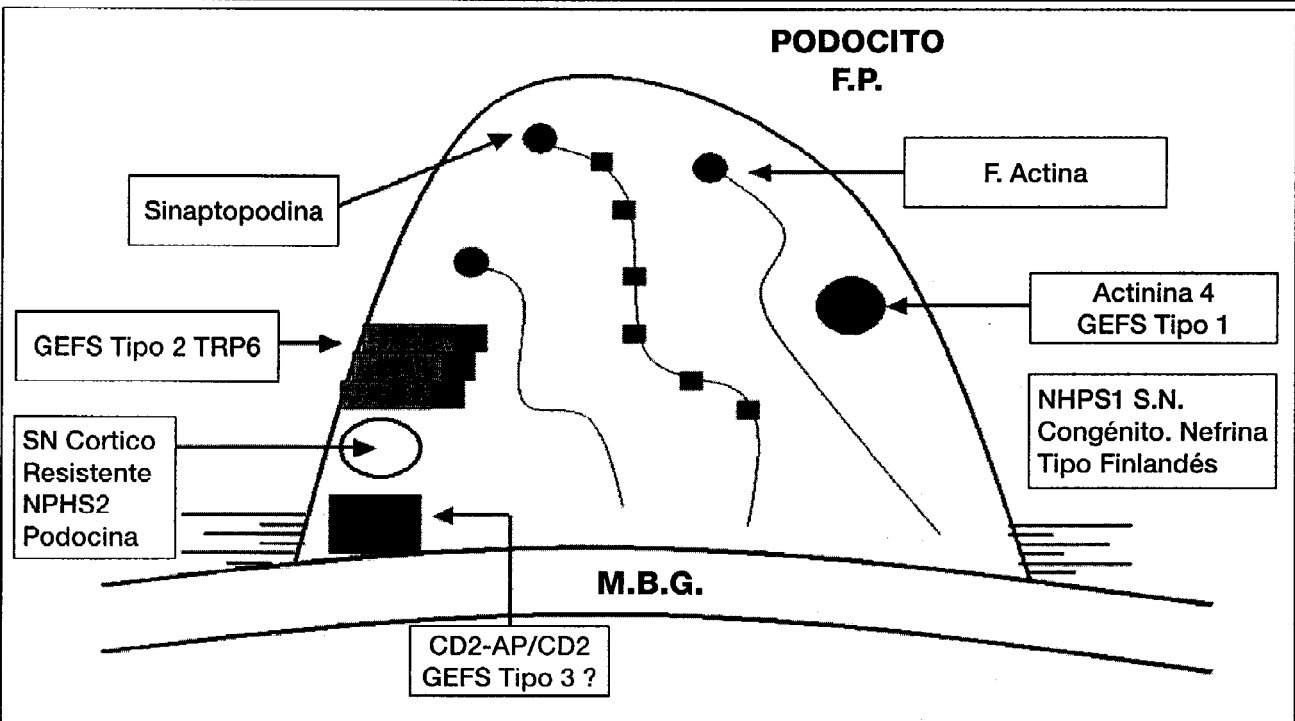
La GEFS autonómica dominante es un grupo heterogéneo de afecciones que comienzan en la adolescencia con proteinuria leve y que lentamente progresa a la IRC. En el mapa cromosómico se hallaron dos locus responsables, el 19q, 13 en la GEFS1 y el 11q 21-22 en GEFS2. En la GEFS tipo 1, muta el gen ACTN4 que codifica la alfa actinina4. Son filamentos de actina cuyas funciones han sido ampliamente analizadas en párrafos precedentes y que es expresada por los podocitos.

Las mutaciones aumentan la afinidad de la alfa-actinina-4 por la F-actina, la cual interfiere con el acople y desacople de los filamentos de actina en los FP, que cruzan y puentean diversas proteínas, llevando a la desregulación del citoesqueleto. ⁽³⁷⁾

Las mutaciones en el gen TRPC6 que codifica al receptor del canal 6 (TRPC6), no selectivo 6, que se caracteriza por un aumento del Ca²⁺ intracelular, fueron recientemente halladas en familias con GEFS autonómicas dominante tipo 2. El canal TRPC2 podría estar vinculado con los poros de los podocitos y con las señales del SD.

Además, en la actualidad, parecería existir cierta propensión, en el humano y en ratas, a padecer un tipo 3 de GEFS. Se encontró que el locus 6p12 produce alteraciones de las proteínas asociadas CD2-AP/CD2 y nefrina por haploinsuficiencia de la proteína CD2AP. ^(38,39) (Ver *Gráfico 2*).

GRAF. 2 Genes y Proteínas que intervienen en el Síndrome Nefrótico Congénito y Glomeruloesclerosis Focal y Segmentaria



Efectos de distintas drogas sobre la barrera de filtración glomerular

1. Glucocorticoides:

Los glucocorticoides, por su efecto antiinflamatorio, han sido utilizados ampliamente en el manejo de muchas formas de enfermedades glomerulares de origen inmunológico asociadas con síndrome nefrotico.

En algunas enfermedades no inmunológicas se ha sugerido que los esteroides tienen una acción directa sobre los podocitos. La dexametasona, por ejemplo, es capaz de evitar, en cultivos de podocitos, los fenómenos de apoptosis inducidos por Péptido atrial natriuretico (ANP), suprimiendo la sobre estimulación de la proteína p53 y manteniendo niveles elevados del factor antiapoptotico Bcl-xL⁽⁴⁰⁾ La dexametasona bloquearía la traslocación de proteínas pro-apoptóticas desde el citoplasma al núcleo. (Ransom).⁽⁴¹⁾

Los efectos inmunosupresores de los corticoesteroides podrían deberse a una actividad intrínseca sobre los podocitos.

Otras drogas utilizadas en el terreno experimental y clínico tienen efecto antiproteinurico: lisinopriilo, prednisona y ácido trans-retinoico; estos fármacos producen cambios en la expresión y distribución de podocina, nefrina, CA2-AP, y alfa actinina 4.⁽⁴²⁾

Kuhlman et. al.⁽⁴³⁾ han demostrado que utilizando 1,25 dihidroxi vitamina D3 en ratas subnephrectomizadas, beneficios en la prevención de la hipertrofia glomerular, manteniendo el numero de podocitos y mejoría de la proteinuria.

2. Acido retinoico:

La nefropatía por HIV-1 se caracteriza por proliferación de podocitos y desdiferenciación y pérdida de inhibición de contacto. El HIV-1 nef gen es el principal responsable de la proliferación y desdiferenciación. Biopsias hechas en el humano con nefropatía han demostrado las siguientes entidades: GEFS colapsante, dilataciones tubulares microquísticas hiperplasia y proliferación de la cápsula de Bowman.⁽⁴⁴⁾

Está ampliamente demostrado que el ácido trans retinoico (AtRA) revierte los efectos de la infección en los podocitos: la proliferación se reduce por caída crítica de la proteína G1 y, los marcadores de diferenciación se restablecen (nefrina, sinaptopodina, podocina). Los ácidos retinoicos han demostrado ser eficaces en el tratamiento de una serie de nefropatías utilizando varios modelos experimentales: SN por ANP, LES, glomerulonefritis anti membrana basal, esclerosis focal y segmentaria.

Es importante conocer que el AtRA y el 9-cisRA aumentan rápidamente los niveles intracelulares de AMPc y PKA. Otros receptores también aumentan la producción de AMPc: la proteína G acoplada, B2adrenergico, el D1dopaminergico, prostaglandina.⁽⁴⁵⁾

Estos datos basados en mecanismos moleculares abren un nuevos caminos para en tratamiento de la nefropatía por HIV en el humano.

3. Estatinas:

Las alteraciones del metabolismo lipidico son ampliamente conocidas en el síndrome nefrotico, diabetes e IRC. El deposito de lipoproteínas aterogénicas ha sido implicado en la progresión de la enfermedad renal.

El LDL oxidado (oxLDL) pero no LDL nativo, produce apoptosis en cultivos de podocitos humanos y reduce la actividad de Akt. El oxLDL conduce a la redistribución y pérdida de la nefrina. La reducción de la nefrina fue precedida por inhibición de la fosforilación nefrina-tirosina y su asociación con p85 fosfatidilinositol 3-kinasa (PI3K).

Tres estatinas se ensayaron: mevastatina, pravastatina, y sinvastatina, las que inhibieron, de manera dependiente de la dosis la apoptosis y perdida de la nefrina inducida por oxLDL a través de la activación de Akt.⁽⁴⁶⁾

Se concluye que las estatinas, a través de un aumento de las señales Akt/PI3K, pueden inhibir la acción de oxLDL, mantener la barrera de filtración (SD) y evitar la proteinuria.

CONCLUSIONES

Investigaciones recientes han permitido tener un criterio mas amplio e integrado de la BFG: además de los podocitos, la MBG tiene importancia en la ontogenia y en patología, la alteración de uno de sus componentes da origen al SN de Pierson. Las células y la pared del capilar glomerular tienen una estructura compleja y única. Los tres componentes de la BFG son importantes en el origen evolucion y pronostico de las enfermedades renales y no deberían ser considerados por separado. La nefropatía diabética es el mayor desafío en prevención y tratamiento El conocimiento del ciclo celular ha logrado saber en profundidad como reaccionan los podocitos ante la agresión En el terreno experimental se han aislado en los podocitos una serie de genes o elementos regulatorios que han permitido mediante injurias selectivas reproducir casi todas las glomerulopatías primarias y secundarias halladas en el humano. Desde el punto de vista terapéutico, se están ensayando agentes como el 1,25 hidroxí vit.D3 y el ácido retinoico que al intervenir en el ciclo celular pueden ser capaces de mantener la integridad e inducir reparación de la BFG. La presencia de pacientes con SNCR o SNCS pero con proteinuria persistente debería orientar a los nefrólogos a realizar estudios genéticos con el fin de interpretar las interrelaciones entre genotipo-fenotipo y poder de establecer índices diagnósticos y pronósticos.

BIBLIOGRAFIA

1. Kriz, W. Ontogenetic development of the filtration barrier. *Nefron Exp.Nephrol.* 2007; 106: e44-e50.
2. Mark P de Caestecker. Angiopoietin-2 and glomerular proteinuria. *J Am Soc Nephrol.*2007; 18:2217-2218.
3. Satchell SC, Harper SJ, Tooke JE et al. Human podocytes express angiopoietin 1 a potential regulator of glomerular vascular endothelial growth factor. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13: 544-550.
4. Belinda Davis, Alessandra Dei Cas, David A Long,et. al.Podocyte-specific expression of angiopoietin -2 causes proteinuria and apoptosis of glomerular endothelia. *J Am Soc Nephrol.*2007: 18: 2320-2329.

5. Caroline B Marshall Stuart J. Shankland. Cell cycle regulatory proteins in podocyte health and disease. *Nephron Exp. Nephrol.* 2007;106: e51-e59.
6. Shankland SJ, Eitner F, Hudkins KL et al. Differential expression of cyclin-dependent kinase inhibitors in human glomerular diseases: role in podocyte proliferation and maturation. *Kidney Int.* 2000; 58: 674-683.
7. Barisoni L, Mopkrzycki M, Sablay L, et al. Podocyte cell cycle regulation and proliferation in collapsing glomerulopathies. *Kidney Int.* 2000, 58: 137-143.
8. Moeller MJ, Soofi A, Hartmann I et. al. Podocyte populate cellular crescents in a murine model of inflammatory . *J Am Soc Nephrol.* 2004; 15: 61-67.
9. Liebau MC, Lang D, Bohm J. et al. Functional expression of the rennin-angiotensin system in human podocytes. *A J Physiol. Renal Physiol.* 2006; 270: 710-719.
10. Morton MJ, Hutchinson K, Mathieson PW et al. Human podocytes possess a stretch-sensitive Ca²⁺-activated K⁺ channel: potential implications for the control of glomerular filtration *J Am Soc Nephrol.* 2004; 15: 2981-2987.
11. Petermann AT, Pippin J, Durvasula R. et al. Mechanical stretch induces podocyte hypertrophy in vitro. *Kidney Int.* 2005; 67: 157-166.
12. Durvasula RV, Petermann AT, Hiromura K. et al. Activation of a local tissue angiotensin system in podocytes by mechanical strain. *Kidney Int.* 2004; 65: 30-39.
13. Hoffmann S, Plich D, Hájnel B. et al. Angiotensin II Ttype 1 receptor overexpression in podocytes induces glomerulosclerosis in transgenic rats. *J Am Soc Nephrol.* 2004; 15:1475-1487.
14. Liang XB, Ma LJ, Naito T. et al. Angiotensin type 1 receptor blocker restores podocyte potential to promote glomerular endothelial cell growth. *J Am Soc Nephrol.* 2006; 17: 1886-1895.
15. Macconi D, Abbate M, Morigi M. et al. Permeable dysfunction of podocyte-podocyte contact upon angiotensin II unravels the molecular target for renoprotective intervention. *Am J Pathol.* 2006; 168: 1073-1085.
16. Cusumano AM. Fisiopatología de la hipertrofia glomerular en la nefropatía diabética. *Rev Arg Nefrol Dial Trasp* 2005; 25 (3):117-122. Asociación Nefrológica de Buenos Aires.
17. Wolf G. Che S, Ziyadeh FN. From the periphery of glomerular capillary wall toward the center of disease. *Diabetes.* 2005; 54: 1626-1634.
18. Richard J.M. Coward., Gavin I. Welsh, Ania Koziell, et al. Nphrin is critical for the action of insulin on human glomerular podocytes . *Diabetes.* 2007; 56:1127-1135.
19. Gunter Wolf, Fuad Ziyadeh. Celular and molecular mechanisms of proteinuria in diabetic nephropathy: *Nephron Physiol.* 2007; 106:26-31.
20. Susztak K, Raff AC, Schiffer M. et al. Glucose-induced reactive oxygen species cause apoptosis of podocytes and podocyte depletion at the onset of diabetic nephropathy. *Diabetes.* 2006; 55: 225-233.
21. Mark E Cooper, Peter Mundel, Geoffrey Boner. Role of Nephryn in renal disease including diabetic nephropathy. *Seminars in nephrology.* 2002; 22(5): 393-398.
22. T-H Yoo , J-J Li, J-J Kim. Activation of the renin-angiotensin system within podocytes in diabetes. *Kyney International.* 2007; 71:1019-1027.
23. Petermann AT, Pippin J, Krofft R. et al. Viable podocytes detach in experimental diabetic nephropathy potential mechanism underlying glomerulosclerosis. *Nephron Exp. Nephrol.* 2004; 98: 114-123.
24. Kawasaki Y, Suzuki J, Sakai N. et al. Evaluation of T helper-1/2 balance on the basis of IgG subclasses and serum cytokines in children with glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis.* 2004; 44: 42-49.
25. Nangaku M, Shankland SJ, Couser WG. Cellular response to injury in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16: 1195-1204.
26. Hsu SI, Couser WG. Chronic progresión of tubulointerstitial damage in proteinuric renal diseases is mediated by complement activation: A therapeutic role for complement inhibitors?. *J Am Soc Nephrol.* 2003; 14 (2): 186-189.
27. Shankland SJ, Pippin J, Couser WG. Complement (C5b-9) induces glomerular epithelial cell DNA synthesis but not proliferation in vitro. *Kidney Int.* 1999; 56:538-548.
28. Pippin J, Durvasula R, Petermann A. et al. DNA damage is a novel response to sublytic complement C5b-9-induce injury in podocytes . *J Clin Invest* 2003; 111: 877-885.
29. Ichikawa I, Ma J, Matojima, M. Podocyte damage damages podocytes: autonomous vicious that drives local spread of glomerular sclerosis. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2005; 14:205-210.
30. Liem JM, Ramirez G, Dieguez SM. Síndrome nefrótico familiar: reporte de 10 casos. *Rev Arg Nefrol Dial Trasp.* 2005.25 (3):113-116.
31. Karle SM, Uetz B, Ronner V. et al. Novel mutations in NPHS2 detected in both familial and sporadic steroid-resistant nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2002; 113: 388-393.
32. Mathieson P. Podocyte-specific gene mutations are coming of age. *J Am Soc Nephrol.* 2008; 19:189-193
33. Hinkes B, Vlangos C, Saskia H et al. Specific podocin mutations correlate with age of onset in steroid-resistant nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2008;19: 365-371.
34. Ruf RG, Lichtenberger A Karle SM, et al. Patients with mutations in NPHS2 (podocin) do not respond to standard steroid treatment of nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2004; 15: 722-732.
35. Hasselbacher K, Wiggins RC, Matejas V, et al. Recessive missense mutations in LAMB2 as a cause of isolated and non- Pierson type congenital nephrotic syndrome. *Kidney Int.* 2006: 70: 1008-1012.
36. Weber S, Gribouval O, Esquivel EL. NPHS2 mutation análisis shows genetic heterogeneity of steroid-resistant nephritic syndrome and low pos transplant recurrence. *Kidney Int* 2004; 66: 571-579.
37. Pereira AC, Pereira AB, Mota GF et. al. NPHS2 R229Q, Functional variant is associated with microalbuminuria in the general population. *Kidney Int.* 2004; 65: 1026-1030.
38. Michaud JL, Lemieux LI, Dubé M et al. Focal and segmental glomerulosclerosis in mice with podocyte-specific expression of mutant alpha-Actinin-4. *J Am Soc Nephrol* 14: 1200-1211, 2003.
39. Daskalakis N, Winn M. Focal and segmental glomerulosclerosis: varying biologic mechanisms underlie a final histopathologic end point. *Semin. Nephrol* 26: 89-94, 2006.
40. Wada T, Pippin J, Marshall CB. et al. Dexamethasone prevents podocyte apoptosis induced by puromycin aminonucleoside: role of p53 and Bcl-2-related family proteins. *J Am. Soc Nephrol.* 2005; 16: 2615-2625.
41. Ransom RF, Vega-Warner V, Smoyer WE. et al. Diferencial proteomic analysis of proteins induced by glucocorticoids in cultured murine podocytes. *Kidney Int* 2005; 67: 1275-1285.
42. Xing, Y, Ding J, Fan Q. et al. Diversities of podocytes molecular changes induced by different antiproteinuria drugs. *Exp. Biol. And Medicine.* 2006; 231: 585-593. (Abstract).
43. Kuhlman A. Haas CS. Gross ML et al. 1,25 dihydroxyvitaminD3 decreases podocyte loss and podocyte hypertrophy in the subtotally nephrectomized rat *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286 :526-533.
44. D'Agati V, Appel GB: HIV infection and the kidney. *J Am Soc Nephrol.* 1997; 8: 138-152.
45. John Cijiang He, Ting-Chi Lu, Magaret Fleet et al. Retinoic acid inhibits HIV-1 induced podocyte proliferation through the cAMP pathway. *J Am Nephrol.* 2007; 18: 93-102.
46. Bussolati B, Deregibus MCH, Fonsato V. et al. Statins prevent oxidized LDL- induced injury of glomerular podocytes by activating the phosphatidylinositol 3-kinase /AKT-signaling pathway. *J Am Soc Nephrol.* 2005; 16: 1936-1947.

Recibido en forma original: 16 de enero de 2007

En su forma corregida: 16 de junio de 2007

Aceptación final: 24 de noviembre de 2007

Dr. José Petrolito

Cátedra de Nefrología, Escuela de Postgrado. U.C.A.

Avda. Belgrano 452 piso 4°

(1093) Ciudad de Buenos Aires. Argentina

Tel.: (54 11) 5555-1700

E-mail: josepetrolito@yahoo.com.ar