

# Glomeruloesclerosis focal y segmentaria primaria con mutación en el gen *NPHS2*. Correlación clínico-patológica

Cristina Rabasco Ruiz<sup>1</sup>, Ana Martínez López<sup>2</sup>, Rosa Ortega Salas<sup>2</sup>, Mario Espinosa Hernández<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Unidad de Gestión Clínica de Nefrología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

<sup>2</sup>Unidad de Gestión Clínica de Anatomía Patológica. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba

NefroPlus 2020;12(2):103-107

© 2020 Sociedad Española de Nefrología. Servicios de edición de Elsevier España S.L.U.

## RESUMEN

La glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GEFS) es una lesión histológica inespecífica y la etiología puede ser muy heterogénea. Entre ellas se encuentran las de causa genética por mutaciones en genes que codifican las proteínas esenciales en la estructura y función del podocito. La mayoría de estos pacientes presentan un síndrome nefrótico corticorresistente hereditario, por lo que es importante solicitar un estudio genético en ellos. Presentamos el caso de una paciente de 19 años con un síndrome nefrótico corticorresistente con una GEFS con una mutación en el gen *NPHS2*, que codifica la podocina. Evidenciamos además una pérdida de la expresión de podocina en la biopsia renal. La expresión de estas proteínas estructurales del «diafragma de filtración» y del citoesqueleto de los procesos podocitarios nos puede ayudar a interpretar los mecanismos patogénicos subyacentes en esta entidad.

**Palabras clave:** Glomeruloesclerosis focal y segmentaria. Síndrome nefrótico corticorresistente. Podocina. Mutación gen *NPHS2*.

## INTRODUCCIÓN

La glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GEFS) es una lesión histológica en sí misma inespecífica y muchas entidades pueden causarla. Entre ellas, en los últimos años, se ha prestado especial interés a la GEFS de causa genética, principalmente mutaciones en proteínas esenciales en la estructura y función del podocito.

Las mutaciones en genes que codifican proteínas, como la podocina, se han identificado en formas graves del síndrome nefrótico corticorresistente (SNCR) hereditario, así como en SNCR esporádicos. Describimos un caso de GEFS con mutación en el gen *NPHS2*, en el cual un adecuado estudio clínico-patológico ayuda a interpretar la patogenia de la enfermedad.

### Correspondencia: Cristina Rabasco Ruiz

Unidad de Gestión Clínica de Nefrología.

Hospital Universitario Reina Sofía.

Av. Menéndez Pidal, s/n, 14004 Córdoba.

cristina.rabasco.sspa@juntadeandalucia.es

Revisión por expertos bajo la responsabilidad de la Sociedad Española de Nefrología.

## CASO CLÍNICO

Presentamos el caso de una mujer de 19 años que ingresó por síndrome nefrótico para realización de biopsia renal. Entre sus antecedentes personales, solo destacaban bajo peso al nacer (2.280 g) y un aborto espontáneo a los 17 años. No tenía antecedentes familiares de interés ni toma de medicación previa. La paciente ingresó en Ginecología por presentar, en la 14.ª semana de gestación, edemas, hipertensión arterial grave de difícil control y síndrome nefrótico (proteinuria en sedimento urinario de 500 mg/dl con proteínas totales de 3,3 g/dl). Se decidió una interrupción voluntaria del embarazo. Al revisar analíticas previas, se detectó hipoproteinemia (3,8 g/dl) desde, al menos, 3 años antes, sin determinaciones de proteinuria anteriores. Ingresó en nuestro servicio 2 meses después para realizar biopsia renal.

En la exploración física destacaba una altura de 145 cm y un peso de 45 kg (IMC = 21,4 kg/m<sup>2</sup>) y presión arterial de 138/75 mmHg. El resto de la exploración física fue normal.

En la analítica inicial destacaban los siguientes datos: proteínas de 3,5 g/dl, albúmina de 0,8 g/dl, colesterol total de 214 mg/dl y proteinuria de 10 g/24h con función renal normal. El estudio de autoinmunidad, que incluyó anticuerpos antinucleares, an-

ti-ADN, anticuerpos antimembrana basal glomerular, anticuerpos anticitoplasmáticos de neutrófilos de tinción citoplasmática y de tinción perinuclear, anti-Ro, anti-La, anti-Sm, anti-RNP, anticentrómero, anti-SCL 70, anti-JO, antihistonas y anticuerpos anticardiolipina, arrojó resultados negativos. El complemento y las inmunoglobulinas se encontraban dentro de la normalidad (C3: 118 mg/dl; C4: 31 mg/dl; IgG: 451 mg/dl; IgA: 87 mg/dl, e IgM: 94 mg/dl). Las serologías virales de la hepatitis C, la hepatitis B y de la inmunodeficiencia humana (VIH) fueron negativas.

La ecografía abdominal mostraba unos riñones de tamaño normal con aumento de ecogenicidad en el parénquima. El ecodópler mostró una vascularización intrarrenal conservada con venas y arterias renales permeables, flujo y velocidad pico sistólica dentro de la normalidad.

Ante los hallazgos analíticos se decidió realizar biopsia renal. Histológicamente, la muestra presentaba una estructura conservada: identificamos un total de 20 glomérulos, de los que 3 estaban esclerosados globalmente, 8 con hialino-esclerosis segmentaria y 4 quistificados. En el resto de los glomérulos encontramos una lesión de distribución focal y segmentaria (fig. 1A) con incremento de la matriz mesangial, oclusión de luces capilares y sinequias a la cápsula de Bowman (fig. 1B). El componente tubulointersticial mostraba atrofia tubular leve con fibrosis moderada de patrón parcheado. La inmunofluorescencia contaba con 3 glomérulos, 2 de ellos quistificados y 1 esclerosado, y se observaba leve positividad de IgM y C3 en depósito segmentario. En el estudio ultraestructural se observó hipertrofia y fusión podocitaria completa con ampliación de la matriz mesangial y colapso capilar (fig. 2).

Se descartaron formas secundarias de GEFS, como nefropatías con reducción de masa renal (reflujo vesicoureteral), toma de fármacos y drogas, infecciones virales (VIH y parvovirus) y otras enfermedades glomerulares (GEFS secundarias a otros procesos glomerulares).

Se solicitó también estudio genético, que mostró una mutación patogénica en los exones 5 y 7 del gen *NPHS2* que codifica

la podocina. La paciente presentó la variante de secuencia C.686G>A(p.R229Q) junto a la mutación C.851C>T(p.A284V) en heterocigosis compuesta.

Tras 10 días de ingreso, fue dada de alta con creatinina sérica de 0,8 mg/dl, albúmina de 1,2 g/dl y proteinuria de 8,5 g/24 h.

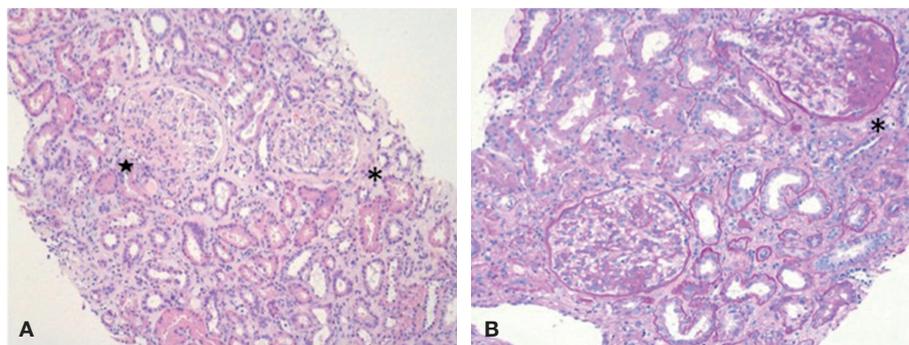
Tras recibir el estudio genético, se estudió mediante inmunofluorescencia e inmunohistoquímica la expresión de sinaptopodina, proteína del citoesqueleto de la barrera de filtración, y la expresión de podocina, proteína estructural del podocito. Nuestro objetivo fue la búsqueda de alteraciones en estas proteínas asociadas al diafragma de hendidura codificadas por el gen alterado en nuestra paciente.

La tinción para sinaptopodina (fig. 3) por inmunohistoquímica presentó una disminución de la intensidad y una apariencia discontinua con apariencia granular fina sugestiva de pérdida de expresión. Se realizó un estudio con inmunofluorescencia con doble marcaje para podocina y sinaptopodina (fig. 4). Observamos una pérdida parcial de la expresión de sinaptopodina (fig. 4C) y una pérdida total de expresión de podocina (fig. 4B), comparada con el control (fig. 4A). La tinción doble colocaliza estos hallazgos, como se muestra en la figura 4D.

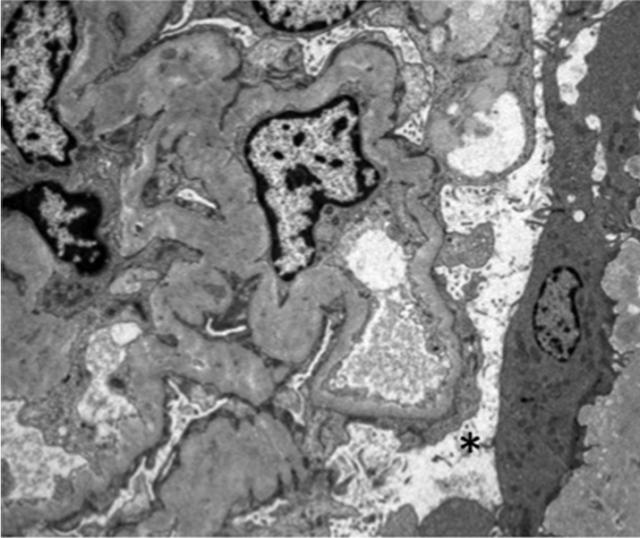
Tras el resultado de la biopsia se inició tratamiento con corticoides y ciclosporina, que fue suspendido 6 meses después por falta de respuesta. Se inició tratamiento con rituximab (2 dosis), que de la misma manera fue suspendido por no producir mejoría. Actualmente, la paciente se encuentra incluida en un programa de diálisis peritoneal, pendiente de recibir trasplante renal.

## DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

La GEFS es uno de los patrones más comunes de lesión glomerular, que se define por la afectación segmentaria y focal, y engloba solo a una subpoblación de glomérulos. Las formas adquiridas de GEFS incluyen las posadaptativas (como consecuencia de la adaptación renal a la reducción de masa renal), asociadas a drogas o fármacos (pamidronato, interferón alfa, tacrolímús, litio) y las idiopáticas (de etiología desconocida)<sup>1</sup>.



**Figura 1. Microscopio óptico. A) Hematoxilina-eosina (×20). Solidificación e incremento de matriz mesangial (★) en distribución segmentaria (\*). Sinequias capsulares. B) Ácido peryódico de Schiff (×20). Hialino-esclerosis segmentaria (\*). Atrofia tubular e histiocitos espumosos intersticiales.**



**Figura 2. Microscopía electrónica (5.000×). Hipertrofia y fusión podocitaria (\*).**

En nuestro caso excluimos las formas secundarias. Existían dudas sobre si el bajo peso al nacer se podría haber asociado a un número bajo de nefronas en el nacimiento y al desarrollo posterior de una GEFS. Nuestra paciente pesó al nacer 2.820 g. Los casos descritos se presentan en niños prematuros con pesos por debajo de 1.500 g y no suelen cursar con hipoalbuminemia grave ni con proteinurias masivas, como presentaba nuestra paciente<sup>2</sup>.

Por todo esto, ampliamos el estudio con el análisis de mutaciones descritas en el SNCR por secuenciación directa de los 8 exones que comprenden la secuencia del gen *NPHS2* en el cromosoma 1q25-q313. Este mostró una anomalía funcional en el gen *NPHS2* que codifica una proteína integral de la membrana del podocito, denominada podocina.

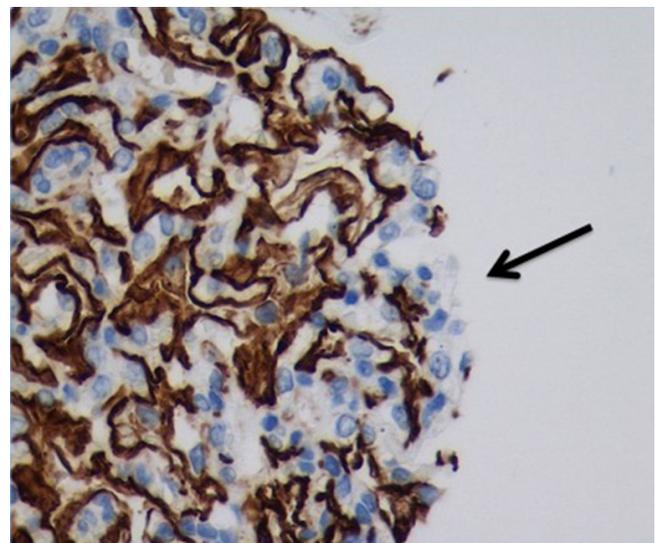
En las últimas décadas se han identificado mutaciones en genes que codifican las proteínas del podocito en formas hereditarias del SNCR y que han contribuido a entender la fisiopatología<sup>2-6</sup>. Estas proteínas estructurales, en su conjunto más de 15, forman parte de un complejo constituido por el «diafragma de filtración» y el citoesqueleto de los procesos podocitarios, todas ellas importantes en el mantenimiento de su estructura y función. Entre ellas: nefrina, podocina, NEPH1, 2 y 3, P-cadherina, proteína asociada a CD2 (CD2AP), cateninas, FAT 1 y 2, ZO-1, actina, alfa-actinina-4, densina y CRIM1. La podocina, codificada por el gen *NPHS2*, desempeña el papel principal. La podocina se expresa exclusivamente en los podocitos, recluta a la nefrina y estabilizan, junto con CD2AP, la barrera de filtración glomerular<sup>7</sup>.

Dentro de la lista de mutaciones, las mutaciones en el gen *NPHS2* son las más frecuentes en individuos con SNCR tanto en la infancia como en la adolescencia. En el estudio de Sadowski et al. se describen mutaciones en el gen *NPHS2* en el 13% de

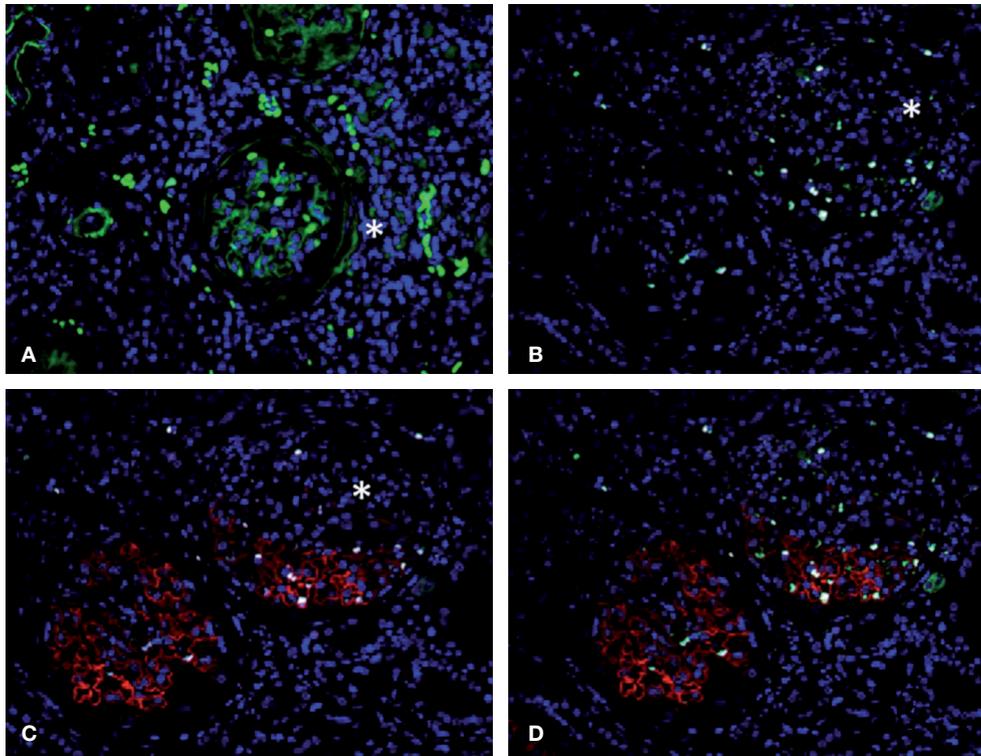
los pacientes con SNCR y hasta en el 34% de todas las mutaciones genéticas encontradas<sup>8</sup>.

Las mutaciones en el gen *NPHS2* se describieron inicialmente en pacientes que desarrollaban SNCR autosómico recesivo en la edad infantil. Santín et al. demostraron la misma tasa de mutación en el SNCR de aparición tardía como temprana, variando únicamente en el genotipo<sup>9</sup>. Los pacientes más jóvenes suelen ser homocigotos o heterocigotos compuestos para 2 variantes patogénicas. La edad de aparición en estos pacientes es menor y la insuficiencia renal se alcanza con una mediana de 8 años<sup>10</sup>. Las mutaciones en *NPHS2* también pueden causar síndrome nefrótico con inicio en la edad adulta<sup>3</sup>. En la mayoría de estos pacientes, se asocia una variante de secuencia (R229Q) junto con una mutación del gen *NPHS2* en heterocigosis compuesta. En estos pacientes, la edad de inicio es de una mediana de 19 años y la insuficiencia renal se alcanza con una mediana de 28 años<sup>9,10</sup>.

La paciente presentaba la variante de secuencia R229Q junto con la mutación patogénica A284V en heterocigosis compuesta en los exones 5 y 7 del gen *NPHS2*, que es la combinación alélica más frecuente causante de SNCR de aparición tardía (adolescencia o edad adulta) en pacientes españoles. Esta variante R229Q es la más frecuente descrita en la población europea, entre el 2 y el 3% de la población general<sup>11</sup>. Sin embargo, tiene mayor frecuencia en casos de SNCR, hasta el 5,3% en el estudio de Santín et al.<sup>9</sup>. Esta variante aislada es insuficiente para causar una GEFS. Además, el papel patogénico de esta variante se desconoce, pues algunos estudios la han relacionado con la aparición de microalbuminuria como efecto fenotípico<sup>12,13</sup>. Esto sugiere que otros factores (genéticos o ambientales) están involucrados en el desarrollo de la lesión renal. En cualquier caso, cuando esta variante se asocia con



**Figura 3. Inmunohistoquímica donde se señala pérdida de la inmunotinción de sinaptopodina de manera segmentaria.**



**Figura 4. Inmunofluorescencia indirecta. A) Control de la tinción de podocina donde se observa la tinción de podocina a nivel glomerular en color verde (\*). B) Caso de la tinción de podocina con ausencia de tinción a nivel glomerular (\*). C) Caso de la tinción de sinaptopodina donde se observa pérdida segmentaria a nivel glomerular (\*). D) Caso doble de la tinción de podocina + sinaptopodina.**

una segunda mutación en el gen *NPHS2*, aumenta claramente la susceptibilidad de aparición de GEFS, como ocurre en nuestra paciente<sup>9,10</sup>.

La mayoría de estos pacientes no responden a tratamiento estándar con corticoides y el uso de inmunosupresores es controvertido, sin evidencias claras en la respuesta<sup>14</sup>. Nuestra paciente fue tratada con esteroides, ciclosporina y rituximab con ausencia de respuesta.

Respecto a los hallazgos en la biopsia renal, la tinción con sinaptopodina en nuestra paciente presentaba una pérdida de la expresión. Se ha demostrado que la expresión está disminuida en los pacientes con enfermedad de cambios mínimos corticorresistente y en los pacientes con GEFS, en comparación con los pacientes con cambios mínimos que responden a esteroides<sup>15</sup>. La distribución normal se pierde en casos de proteinuria nefrótica, lo que puede sugerir que la alteración podocitaria encontrada en la paciente tiene relación directa con la redistribución o pérdida de la expresión de una o varias de las proteínas reguladoras de la dinámica de la actina podocitaria<sup>16</sup>.

Acercas de la podocina, se ha descrito en artículos en modelos animales con mutaciones inducidas en el gen de la podocina<sup>17</sup>. Estos ratones desarrollan síndrome nefrótico con lesiones de glomeruloesclerosis focal y segmentaria en la biopsia renal y con

pérdida de la expresión de podocina en el estudio de inmunofluorescencia, como ocurre en nuestra paciente.

En relación con el trasplante, en los últimos estudios se demuestra cómo pacientes que presentan este tipo de mutación del gen *NPHS2* (heterocigosis compuesta con la variante p.R229Q) tienen un bajo riesgo de recidiva postrasplante en comparación con GEFS primarias; aun así, se han identificado casos de recurrencia en pacientes con mutaciones en el gen *NPHS2*, especulándose un posible factor plasmático circulante que puede ser el responsable de un incremento de la actividad de la integrina podocitaria, desprendiéndose el podocito de la membrana basal glomerular<sup>18</sup>.

En resumen, se describe un caso de una paciente con un SNCR con una GEFS secundaria a una mutación genética en el gen *NPHS2* que codifica la podocina con ausencia de expresión de podocina en la biopsia renal. La expresión de podocina y sinaptopodina son marcadores que pueden ayudar a interpretar los mecanismos patogénicos subyacentes en las podocitopatías.

#### Conflicto de intereses

Los Dres. Cristina Rabasco Ruiz, Ana Martínez López, Rosa Ortega Salas y Mario Espinosa Hernández declaran que no tienen conflictos de interés.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- D'Agati V. The many masks of focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int.* 1994;46:1223-41.
- Hodgin JB, Rasoulpour M, Markowitz GS, D'Agati VD. Very low birth weight is a risk factor for secondary focal segmental glomerulosclerosis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009;4:71-6.
- Rood IM, Deegens JK, Wetzels JF. Genetic causes of focal segmental glomerulosclerosis: implications for clinical practice. *Nephrol Dial Transplant.* 2012;27:882-90.
- Benoit G, Machuca E, Antignac C. Hereditary nephrotic syndrome: A systematic approach for genetic testing and a review of associated podocyte gene mutations. *Pediatr Nephrol.* 2010;25:1621-32.
- Büscher AK, Konrad M, Nagel M, Witzke O, Kribben A, Hoyer PF, et al. Mutations in podocyte genes are a rare cause of primary FSGS associated with ESRD in adult patients. *Clin Nephrol.* 2012;78:47-53.
- Tory K, Menyhard DK, Woerner S, Nevo F, Gribouval O, Kerti A, et al. Mutation-dependent recessive inheritance of NPHS2-associated steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nat Genet.* 2014;46:299-304.
- Schwarz K, Simons M, Reiser J, Saleem MA, Faul C, Kriz W, et al. Podocin, a raft-associated component of the glomerular slit diaphragm, interacts with CD2AP and nephrin. *J Clin Invest.* 2001;108:1621-9.
- Sadowski CE, Lovric S, Ashraf S, Pabst WL, Gee HY, Kohl S, et al. A single-gene cause in 29.5% of cases of steroid-resistant nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2015;26:1279-89.
- Santín S, Tazón-Vega B, Silva I, Cobo MÁ, Giménez I, Ruiz P, et al. Clinical value of NPHS2 analysis in early- and adult-onset steroid-resistant nephrotic syndrome. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6:344-54.
- Machuca E, Hummel A, Nevo F, Dantal J, Martinez F, Al-Sabban E, et al. Clinical and epidemiological assessment of steroid-resistant nephrotic syndrome associated with the NPHS2 R229Q variant. *Kidney Int.* 2009;75:727-35.
- Tsakaguchi H, Sudhakar A, Le TC, Nguyen T, Yao J, Schwimmer JA, et al. NPHS2 mutations in late-onset focal segmental glomerulosclerosis: R229Q is a common disease-associated allele. *J Clin Invest.* 2002;110:1659-66.
- Pereira AC, Pereira AB, Mota GF, Cunha RS, Herkenhoff FL, Pollak MR, et al. NPHS2 R229Q functional variant is associated with microalbuminuria in the general population. *Kidney Int.* 2004;65:1026-30.
- Kottgen A, Hsu CC, Coresh J, Shuldiner AR, Berthier-Schaad Y, Gambhir TR, et al. The association of podocin R229Q polymorphism with increased albuminuria or reduced estimated GFR in a large population-based sample of US adults. *Am J Kidney Dis.* 2008;52:868-75.
- Ruf RG, Lichtenberger A, Karle SM, Haas JP, Anacleto FE, Schultheiss M, et al. Patients with mutations in NPHS2 (podocin) do not respond to standard steroid treatment of nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 2004;15:722-32.
- Wagrowska-Danilewicz M. Inmunoexpresión de la sinaptopodina en la enfermedad de cambios mínimos respondedora y resistente a esteroides y en la glomeruloesclerosis focal y segmentaria. *Nefrología.* 2007;27(6).
- Arias LF, Vieco BE, Arteta AA. Expression of nephrin, podocin and alpha-actinin-4 in renal tissue of patients with proteinuria. *Journal of the Spanish Society of Nephrology.* 2009;29:569-75.
- Tabatabaeifar M, Wlodkowski T, Simic I, Denc H, Mollet G, Weber S, et al. An inducible mouse model of podocin-mutation-related nephrotic syndrome. *PLoS One.* 2017;12:e0186574.
- Weber S, Gribouval O, Esquivel EL, Morinière V, Tête M-J, Legendre C, et al. NPHS2 mutation analysis shows genetic heterogeneity of steroid-resistant nephrotic syndrome and low post-transplant recurrence. *Kidney Int.* 2004;66:571-9.