



Podocitos y enfermedad de Fabry (Revisión)

Jacobo Villalobos¹.

José Atahualpa Pinto².

Virginia Leticia Colina³.

¹Especialista en Medicina Interna y en Nefrología. Profesor Asociado de la Cátedra de Fisiología. Escuela de Medicina Luis Razetti. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. Caracas-Venezuela.
villazu@yahoo.com

²Sección de Nefropatología. Instituto de Anatomía Patológica. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela. nefropatologia@gmail.com

³Sección de Investigaciones Cardio-Renales. Instituto de Medicina Experimental. Facultad de Medicina. Universidad Central de Venezuela.

Correspondencia: Instituto de Medicina Tropical - Facultad de Medicina - Universidad Central de Venezuela.

Consignado el 15 de Mayo del 2014 a la Revista Vitae Academia Biomédica Digital.

RESUMEN

Con motivo de un caso clínico, de un paciente masculino de 26 años de edad, con proteinuria no-nefrótica, sin signos clínicos ni paraclínicos de enfermedad sistémica, y con diagnóstico de enfermedad de Fabry (EF), diagnosticada mediante biopsia renal y la determinación de la mutación genética por técnicas de biología molecular. El estudio de este caso permitió hacer una revisión de las características fisiológicas del podocito, la importancia del mismo en la formación del diafragma de filtración, y la transición epitelial mesenquimal (TEM); además se enfatiza la participación del podocito en la fisiopatología de la proteinuria y su relación con la EF. La información utilizada en esta revisión, muestra el importante compromiso de la célula podocitaria, la cual tiene un fenotipo epitelial, y la susceptibilidad que ellas presentan a la terapia enzimática, lo cual pudiera cambiar el paradigma fisiopatológico de la enfermedad y sentaría las bases para investigar sobre el compromiso de este tipo de célula, así como del tejido epitelial, en la enfermedad de Fabry.

PALABRAS CLAVE: podocito, proteinuria, enfermedad de Fabry

PODOCYTES AND FABRY'S DISEASE

SUMMARY

On the occasion of a case of a male patient 26 years old, with non-nephrotic proteinuria, without clinical or paraclinical signs of systemic disease, diagnosed of Fabry's Disease by means of a renal biopsy and determination of the genetic mutation by molecular biology techniques. We review the role of podocytes, their importance in the formation of the slit diaphragm and epithelial mesenchymal transition; and emphasized the role of podocyte involvement in the pathophysiology of proteinuria and their relationship with FD . The information used in this review shows the importance of the podocyte cell, which has an epithelial phenotype, and present susceptibility to enzyme therapy, this might open new ways leading to a better understanding of the pathophysiology of Fabry's Disease.

KEY WORDS: podocyte, proteinuria, Fabry's disease

PODOCITOS Y ENFERMEDAD DE FABRY (REVISIÓN)

INTRODUCCIÓN

En una evaluación urinaria de rutina, en un paciente de sexo masculino de 26 años de edad, se reportó microalbuminuria, con una proteinuria cuantificada de 750 mg/24 horas. Durante la evaluación clínica del paciente, se demostró que en la infancia presentó acroparestesias; no había historia familiar de dolor neuropático, nefropatía, cardiopatía o accidente cerebro-vascular (ACV). El examen físico fue normal; con un peso 72 Kg, una talla 1,73m, y sin angioqueratomas. Las pruebas de laboratorio reportaron: hemoglobina (Hb) = 14.2 g/dl, ferritina = 120 ng/ml, depuración de creatinina (Dcr) = 120 ml/min. La función hepática y las proteínas plasmáticas dentro de valores normales. Las pruebas realizadas de anticuerpos antinucleares (ANA), anticuerpos anticitoplasma de neutrófilos (ANCA), factor reumatoideo (RA-test) y velocidad de sedimentación globular (VSG) fueron normales. Por otra parte, el ecocardiograma, el ecosonograma renal, la tomografía axial computarizada (TAC) cerebral y la audiometría, todas fueron normales. Debido a la proteinuria elevada y de causa no precisada, se efectuó una biopsia renal, la cual mostró una acumulación de glucoesfingolípidos intracitoplasmáticos tanto en podocitos como en células epiteliales del túbulo contorneado distal (TCD), las cuales estaban alargadas y vacuoladas. La microscopia electrónica de la biopsia renal mostró inclusiones osmófílicas en el citoplasma de todas las células renales (piel de cebollas o con apariencia de cebra) propias de Enfermedad de Fabry (EF), dicha enfermedad se confirmó debido a una baja actividad de alfa-galactosidasa A (GAL-A) tanto en leucocitos como en plasma (<1% del control); y el resultado de la secuenciación de ADN mostró una mutación R310X en el exón 6, que no se encontró en sus progenitores y parientes (1).

La enfermedad de Fabry (EF) es una enfermedad ligada al cromosoma X, que afecta el

metabolismo de glucoesfingolípidos debido a la deficiencia de la enzima lisosomal α -galactosidasa A. Se caracteriza por el depósito de globotriaosilceramida (GL3) en varios tipos de células; en las células del riñón está presente desde temprana edad. La enfermedad de Fabry puede causar falla renal, cardiomiopatía, y enfermedad vascular cerebral, manifestaciones que pueden provocar gran morbilidad y muerte prematura. La enfermedad renal es casi universal en los pacientes masculinos, y los signos iniciales son la microalbuminuria y la proteinuria, que incluso se ha reportado en niños⁽²⁾. El caso clínico descrito anteriormente confiere especial importancia a la proteinuria en rango no nefrótico como único hallazgo de laboratorio, lo que permite sospechar que existe daño glomerular, siendo la EF una de las causas probables. Ha sido reportado que en los hombres con EF durante la tercera década de su vida, se desarrolla azotemia y proteinuria, no obstante antes de los 20 años de edad pueden ser detectados depósitos renales de GL3 y disfunción tubular. Es importante señalar que en los pacientes masculinos de más de 50 años de edad, la proteinuria se manifiesta de manera casi universal, y la progresión hacia la falla renal es tan alta como la observada en los pacientes diabéticos⁽³⁾. En el 2009, de acuerdo a datos obtenidos del Registro Fabry (RF), el 39% de los pacientes tenían una proteinuria mayor o igual a 300 mg/día, y el 22% mostró valores mayores a 1 gr/día.⁽⁴⁾ Durante el año 2010, según los datos de RF, la relación proteína/creatinina (P/C) en orina, menor de 1g/g fue del 57,2% en los varones y de 59,7% en las hembras, en Latinoamérica⁽⁵⁾ (Tabla 1).

Relación proteína/creatinina en orina g/g	Adulto en América Latina		Adultos Resto del Mundo	
	Varones	Hembras	Varones	Hembras
%	%	%	%	%
Menor 0.3	28.6	55.6	34.7	42.9
Entre 0.3 y 1	28.6	22.2	25	22.5
Entre 1 y < 3	19	0	28.5	22.1
Mayor 3	23.8	22.2	11.7	12.5

Tabla 1. Relación proteína/creatinina urinaria en pacientes con Enfermedad de Fabry. Datos obtenidos del Registro Fabry (Fuente: Villalobos J, Politei JM et al.⁽⁵⁾)

Se ha reportado con base a los resultados de los estudios de la fase IV de la terapia de reemplazo enzimática (TRE), que en la EF, la relación P/C en orina parcial es de fundamental importancia, ya que cuando la misma es mayor de 1, aumenta la posibilidad que los pacientes desarrollen un evento Fabry, lo que significa que el paciente puede presentar insuficiencia cardíaca, cardiopatía isquémica, arritmias y la necesidad de marcapaso, isquemia cerebral, o el deterioro agudo de la función renal, y la necesidad de diálisis⁽⁶⁾. Debido a la incomodidad que representa la recolección de orina de 24 horas para la cuantificación de la proteinuria, se ha establecido que el cociente P/C muestra una buena correlación con valores de proteinuria/24 horas comprendidos entre 300-3499 mg. Dicha correlación se mantiene, pero con menor grado, en valores < 300 mg de proteinuria al día. Cuando la proteinuria del paciente está en rango nefrótico, el cociente P/C en orina parcial no se correlaciona con la proteinuria/24 horas.⁽⁷⁾ Los valores para comparar P/C con la proteinuria/24 horas son los siguientes: <0.5 se considera normal, entre 0.5 y 1, se considera dudoso, y >1 se considera anormal.⁽⁸⁾

A partir del año de 1947 se empezaron a estudiar las lesiones renales características de la EF, y en la década de los años 60, dichas lesiones se comenzaron a estudiar en material de autopsias, posteriormente en muestras de nefrectomía pre-transplante, o en biopsias de pacientes con proteinuria y/o falla renal. En 1978, los investigadores Gubler, Lenoir y col. reportaron en las biopsias renales de 11 de 12 pacientes con EF (sobre todo en los de sexo masculino) que en los podocitos, los depósitos lipídicos eran cuantiosísimos comparado con las células epiteliales tubulares, y casi ausentes en las células intrínsecas de los glomérulos observados⁽⁹⁾ (Tabla 2).

Paciente	Sexo	Edad	Depósitos Lipídicos								
			Glomérulo			Túbulos			Arterias		
			Podocitos	Célula Endo-capilar	Célula Capsular	T C P	T C D	Asa de Henle	Célula Endotelial	Célula muscular	
1	M	11	+++	0	+	+	++	+	+	+	+
2	M	12	+++	0	++	+	++	+	+	++	
3	M	19	+++	0	+	+	++	++	++	+	
4	M	20	+++	0	+	0	+	++	-	++	
5	M	22	+++	0	+	0	+	++	-	-	
6	M	25	+++	0	+	0	++	-	-	-	
7	M	27	+++	0	++	0	+	-	-	++	
8	M	28	+++	+	+	0	++	++	-	-	
9	M	29	+++	+	++	+	++	++	-	++	
10	F	8	++	0	+	0	+	+	0	-	
11	F	22	0	0	0	0	0	0	0	0	
12	F	51	++	0	+	0	+	+	-	-	

Tabla 2. Datos morfológicos de la microscopía de luz de biopsias renales de pacientes con EF. (Fuente Gubler MC, Lenoir G et al⁽⁹⁾). TCP: túbulo contorneado proximal. TCD: túbulo contorneado distal. 0 (normal); + (leve); ++ (moderado); +++ (severo); - (no examinado)

Los depósitos de GL3 se observan inicialmente en el glomérulo, y en una primera fase esto se manifiesta por fusión de los podocitos, y proteinuria leve, acompañada ocasionalmente con microhematuria. La manifestación a nivel tubular suele ser posterior a la glomerular, pero clínicamente el defecto de concentración renal suele surgir antes de la proteinuria. El mecanismo por el cual se produce el daño renal, específicamente de glomeruloesclerosis, es debido a cambios isquémicos de la microvasculatura renal, lesión de los podocitos por acumulación de GL3 y por la hiperfiltración. En las fases avanzadas del daño renal, se observa que hay una sustitución de las células glomerulares y tubulares por GL3, así como esclerosis glomerular y depósito de GL3 en el intersticio, lo cual condiciona atrofia tubular progresiva y fibrosis intersticial. El daño de las estructuras renales no es uniforme y pueden observarse glomérulos y áreas intersticiales preservadas⁽¹⁰⁾.

En el año 2013, en un estudio llevado a cabo por Tondel, Bostad y col, también observaron en biopsias renales de 12 pacientes con EF, en edades entre 7 y 33 años, que los podocitos y las células epiteliales del túbulo distal, eran los componentes de la nefrona que mayor compromiso estructural presentaban aún después de cinco años de TRE (10/12 pacientes, 83,33%), y se observaron inclusiones de GL3 en las células del endotelio glomerular en 8 de los 12 pacientes evaluados (66,66%); estos hallazgos llamaron poderosamente la atención, ya que hasta los actuales momentos la EF ha sido considerada como una enfermedad endotelial⁽²⁾.

Según Tondel, Bostad y col la importancia clínica del daño podocitario en la EF fue aclarado por Najafian y col. en el 2011 cuando evaluaron 14 pacientes con EF en edades promedio de 12 años y observaron correlación entre la proteinuria y los depósitos de GL3, así como daño de los pie de podocitos, pero no observó correlación entre la proteinuria y el aumento de las fenestraciones endoteliales⁽²⁾, inclusive observaron correlación entre la edad y la cantidad de inclusiones podocitarias. Tondel y col, plantean que existe una relación entre las inclusiones de GL3 y la disfunción celular, ya que ellos observaron aclaramiento marcado de las inclusiones podocitarias, así como una reducción en la fusión de los podocitos y la microalbuminuria de los pacientes que recibieron TRE para EF durante 5 años.⁽²⁾ Por todo lo anteriormente señalado es importante recordar cómo es la fisiología del podocito.

FISIOLOGÍA DEL PODOCITO

Los podocitos son células epiteliales especializadas adheridas a la membrana basal glomerular (MBG), y parte esencial en la barrera de filtración, que previenen la pérdida de las proteínas séricas por la orina.⁽¹¹⁾ Además son células muy diferenciadas que no se dividen, y en ese sentido se ha comparado su comportamiento con el de las neuronas. Inicialmente existe un número de podocitos, que se van perdiendo de forma progresiva e irreversible en el transcurso de la lesión glomerular.⁽¹²⁾ Derivan en su desarrollo del mesénquima metanéfrico mediante la transdiferenciación mesenquimal a epitelial.⁽¹³⁾ En los estadios iniciales del desarrollo renal, los podocitos son células poligonales, que se dividen rápidamente. En un estado tardío del desarrollo, comienzan a expresarse marcadores de asas capilares, y los podocitos comienzan a desarrollar su arquitectura celular característica y a formarse los pies de podocitos. En este estado, los podocitos salen del ciclo celular y pierden su habilidad para dividirse. Este proceso está acompañado por la expresión de inhibidores del ciclo celular como P27Kip 1 y P57Kip 2.⁽¹⁴⁾ Los podocitos evolucionan de las células epiteliales columnares, unidas por complejos de unión apicales que contienen uniones estrechas y uniones adherentes, las cuales migran basalmente y forman finalmente un diafragma de filtración que une los pies de los podocitos maduros, reorganizan su citoesqueleto de actina y expresan vimentina y sinaptopodina. Las uniones estrechas participan en la polaridad celular, proliferación y diferenciación celular.⁽¹⁴⁾ En riñones de ratones adultos, la inmunotinción de la proteína asociada a la unión estrecha ZO1 (zona ocludens 1) muestra una señal de gran intensidad en los sitios de inserción de los diafragmas de filtración en los pies de podocitos.⁽¹⁵⁾

De acuerdo a como las proteínas contribuyen a la función del podocito, las mismas se pueden clasificar en tres grandes grupos⁽¹²⁾:

1.- proteínas que mantienen la arquitectura del podocito.

2.- proteínas de anclaje a la MBG.

3.- proteínas del diafragma de filtración

Por otra parte, los podocitos expresan una serie de proteínas específicas que contribuyen a su alto grado de diferenciación. Se ha comprobado que el defecto de algunas de estas proteínas es la causa de la proteinuria en el ser humano y/o en animales de experimentación.

A continuación se muestran unos ejemplos.⁽¹²⁾

Nefrina..... Síndrome nefrótico congénito finlandés

Alfa actina-4..... Glomeruloesclerosis Focal Segmentaria (GEFS)

Podocina..... Síndrome nefrótico por GEFS

WT-1..... Esclerosis mesangial difusa

Con el descubrimiento de la nefrina (el primer constituyente identificado) empezó a conocerse la composición molecular de los diafragmas de filtración, que es una variante especial de la unión estrecha o unión adherente. La nefrina es una proteína transmembrana de 180 Kd, que se expresa exclusivamente en los diafragmas de filtración de los podocitos, y su gen se encuentra mutado en el síndrome nefrótico congénito del tipo finlandés, caracterizado por la formación aberrante de los pies de podocitos, la pérdida del diafragma de filtración y una proteinuria masiva. Durante el desarrollo y la regeneración después del daño, la nefrina es una molécula de señalización comprometida en el desarrollo de los pies de podocitos y del diafragma de filtración. Los diafragmas de filtración y sus proteínas asociadas son una estructura compleja y muy dinámica, formada por diferentes clases de proteínas que interactúan entre sí y con el citoesqueleto de los podocitos y ellos actúan no solo como una barrera de filtración, sino que participan en las vías comunes de señalización, necesarias para mantener la integridad funcional del podocito.⁽¹⁴⁾

Algunas proteínas intracelulares de los pies de podocitos interactúan con algunos componentes del diafragma de filtración y la modificación de esta estructura puede causar directa o indirectamente el colapso de los diafragmas de filtración y por consiguiente proteinuria. La ausencia de nefrina no afecta la expresión de ninguno de los otros componentes estudiados. Estudios realizados con ratones Nphs^{-/-}, la expresión de podocina, sinaptopodina, CD2AP, podocalixina y WT1 era igual a la de los ratones Nphs^{+/+}; lo mismo se observó para deudrina y ZO1. Por otra parte, estudios llevados a cabo con inmunoelectromicroscopía tanto en ratones salvajes como en ratones nulos para nefrina, se observó que ZO1 se localiza en los pies de los podocitos. Tampoco se observaron cambios en la expresión de colágeno IV, laminina, nidogen, pelican, integrina $\alpha 3$. Estos datos indican que la ausencia de nefrina causa mínimas alteraciones en la expresión y localización de otras proteínas de los pies de podocitos/diafragma de filtración o de los componentes de la MBG durante el desarrollo glomerular.⁽¹⁴⁾

Estudios in vivo demuestran que la ausencia de nefrina no afecta significativamente la morfogénesis glomerular, la viabilidad de los podocitos, o la expresión de otros complejos proteicos de los diafragmas de filtración. Tanto en ratones Nphs^{-/-} como ratones de tipo salvaje, a la misma edad embrionaria, las proteínas podocitarias, tales como podocina, sinaptopodina, CD2AP, podocalixina y WT1 se expresaron en niveles similares. Por otra parte

mediante análisis de microarreglos se observó que inclusive los niveles de expresión de sólo algunos genes cambiaron significativamente.⁽¹⁴⁾ La ausencia de nefrina no tiene un efecto significativo en el desarrollo glomerular temprano, y la misma aparece tardíamente en el desarrollo renal normal. Se piensa que la expresión de nefrina puede afectar este proceso y que incluso comienza en estado de asa capilar o cuerpo en forma de S tardío, y ello coincide con el cese de la proliferación celular. La ausencia de nefrina de los diafragmas de filtración no afecta la viabilidad de los podocitos o la expresión de proteínas de pie de podocitos/ diafragma de filtración, o de la MBG y en general tiene poco impacto sobre la expresión génica glomerular.⁽¹⁴⁾

FISIOPATOLOGÍA DEL PODOCITO

En condiciones patológicas, el podocito puede sufrir una transición epitelial a mesenquimal (TEM), un proceso de embriogénesis reversa, que ocurre en la enfermedad renal, así como en otros órganos. Se ha demostrado que las células del epitelio tubular renal pueden mostrar TEM después de un daño crónico, proceso que se cree juega un papel crítico en la generación de células fibrogénicas productoras de matriz y en causar atrofia tubular y disfunción tubular.⁽¹⁵⁾

En el año 2008, Li y col, plantearon que la transición mesenquimática de los podocitos después del daño, puede jugar un papel vital en el origen de la disfunción del podocito que al final conlleva a una filtración glomerular defectuosa.⁽¹³⁾

La TEM está definida por tres grandes cambios en el fenotipo celular:

a.- cambios morfológicos desde una monocapa tipo empedrado de las células epiteliales con una polaridad apical-basal, a unas células mesenquimáticas fusiformes con protrusiones migratorias.

b.- cambios en los marcadores de diferenciación de las proteínas de unión célula-célula y filamentos de vimentina y fibronectina.

c.- cambios funcionales asociados con la conversión de células estacionarias a células con movilidad que pueden invadir a través de la matriz extracelular.⁽¹⁵⁾

Los podocitos son capaces de sufrir TEM después de un daño y esta conversión fenotípica hace que el podocito pierda sus características epiteliales y que adquiera marcadores mesenquimales. El TGF-β es un potente inductor de TEM, que está regulado al alza en las enfermedades renales; la nefropatía diabética está asociada con aumento de la expresión de TGF-β en células glomerulares y epiteliales tubulares.⁽¹⁵⁾

Después del tratamiento con TGF-β, la pérdida de las uniones tipo cierre puede imitar el borramiento o pérdida de los procesos podocitarios in vivo, lo cual se acompaña de un aumento del influjo de albúmina. Este efecto es la consecuencia de que TGF-β suprime la P-cadherina y la expresión de ZO1 en los podocitos e inhibe la expresión de nefrina, induciendo

marcadores mesenquimales y matriz intersticial en los podocitos, y estimulando la expresión y secreción de MMP 9, de manera tiempo y dosis dependiente.⁽¹³⁾

Se ha demostrado que los podocitos pueden desarrollar TEM cuando son afectados por estímulos nocivos tales como TGF-β, hiperglicemia, adriamicina, homocisteína, e IgA en el medio mesangial.⁽¹⁶⁾ (Ver figura 1)

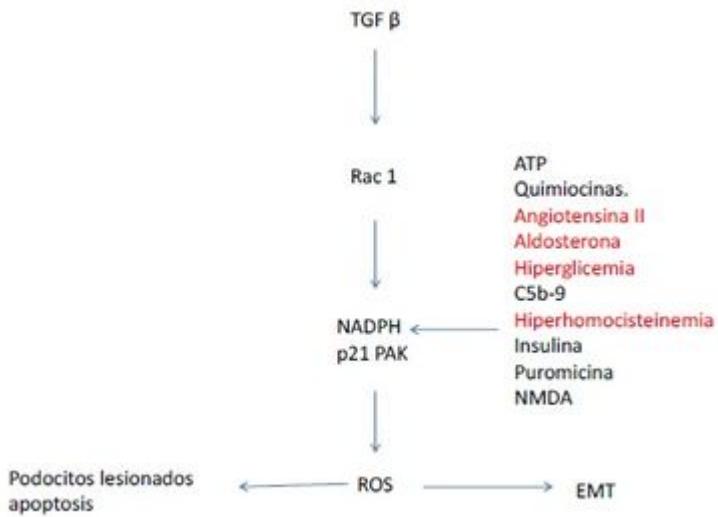


Figura 1. Mecanismo de acción de TGF-β

En diferentes tipos de células epiteliales, Chen y col⁽¹⁶⁾, mostraron que NOX2, NOX1, NOX4 (componentes de la NADPH oxidasa) y Rac1 estaban relacionados con la TEM, lo que implicaría que las especies reactivas de oxígeno derivadas de la NADPH oxidasa, pueden promover el proceso de activación de TEM. Evidencias emergentes sugieren que la homocisteína induce al podocito hacia la TEM a través de la activación de la NADPH oxidasa. Los cambios fenotípicos de los podocitos inducidos por la homocisteína están acompañados por un aumento de la producción de superóxido, el cual se elimina sustancialmente por la inhibición de la NADPH oxidasa. En ratones salvajes (*gp91+/+*), la hiperhomocisteinemia induce a un aumento de la expresión de los marcadores mesenquimales y a una reducción de la expresión de los marcadores epiteliales de los podocitos en el glomérulo, lo cual no se observó en los ratones con deficiencia en la NOX2 (*gp91-/-*).⁽¹⁶⁾

Es importante señalar que el factor inductor de la transcripción Smail juega un papel crítico en la mediación de la supresión de la P-cadherina durante la TEM. La TEM podocitaria está sustentada por la pérdida de P-cadherina, ZO1 y nefrina, y la adquisición de Fspl, desmina, colágeno tipo I y fibronectina. La inducción de la desmina es un hallazgo frecuente de la activación de células mesenquimáticas en diferentes órganos. La Fspl, proteína específica de fibroblastos, que está ausente en células epiteliales, puede servir como un marcador excelente de la TEM podocitaria, además después del daño, la producción de colágeno tipo I y fibronectina, componentes de la matriz intersticial indican un fenotipo mesenquimatoso que cambia sus funciones⁽¹³⁾ (Ver figura 2).

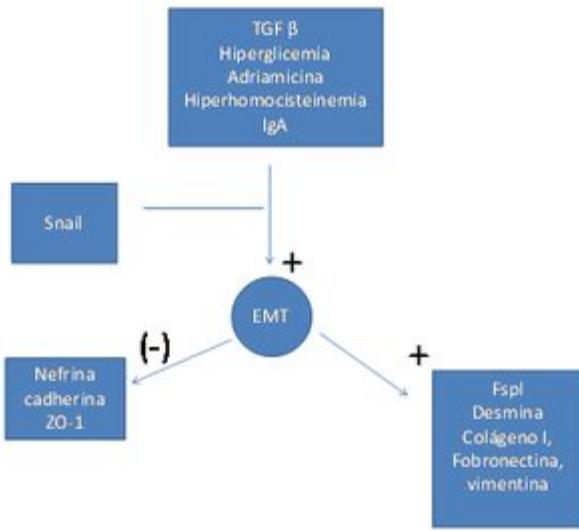


Figura 2. Generación y efectos de la TEM sobre los podocitos

La glomeruloesclerosis (GE) es un proceso patológico común que promueve el deterioro funcional del riñón independientemente de la causa de la enfermedad. Además de la proliferación mesenquimal y las vías de acumulación de matriz que conlleva a la glomeruloesclerosis, estudios recientes sugieren que las alteraciones de las células epiteliales residentes son fundamentales para la progresión de la glomeruloesclerosis, y tales alteraciones son típicas de la glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GEFS).⁽¹⁷⁾

El glomérulo tiene dos tipos de células epiteliales: los podocitos y las células parietales (CP). Ambos tipos celulares comparten el fenotipo proliferativo durante la esclerosis glomerular. En el asa capilar, los podocitos expresan marcadores específicos de diferenciación acompañados con inactivación del ciclo celular. Ha sido demostrado, en humanos y en enfermedades renales experimentales, que la pérdida de los podocitos origina la glomeruloesclerosis segmentaria post-adaptativa, y que la cantidad de podocitos urinarios está relacionada con la progresión de la enfermedad. En contraste, la hiperplasia de la célula epitelial está relacionada con la GEFS colapsante/celular.⁽¹⁷⁾

Las lesiones de la GEFS colapsante/celular revelan hallazgos únicos, y la hiperplasia de las células viscerales es consecuencia de la proliferación de las células epiteliales que sobrepasa al ovillo colapsado. Como resultado de la pérdida de los marcadores podocitarios, Barisoni y col.⁽¹⁸⁾ concluyeron que las células epiteliales en la glomeruloesclerosis focal y segmentaria colapsante son podocitos no-diferenciados.⁽¹⁸⁾ Al contrario, Suzuki T y col. observaron en estas lesiones, la expresión de los marcadores de las células epiteliales podocitarias, citoqueratina, Pax-2 y Claudina.⁽¹⁷⁾

El inhibidor del ciclo celular P21 juega un papel único en el daño glomerular. En el año 2003, Pippin y col. sugieren que la regulación al alza de P21 está asociada con el daño podocitario inducido por C5b-9, sugiriendo que P21 limita la re-entrada del podocito al ciclo celular en caso de daño celular.⁽¹⁹⁾ No obstante, se detectó en las células epiteliales hiperplásicas en las enfermedades glomerulares humanas, la expresión de novo de P21. Dichos estudios sugieren

un papel de P21 en la enfermedad glomerular, aunque el mismo permanece confuso.⁽¹⁷⁾

En ratones deficientes en P21 con glomerulonefritis, se observa una patología que es característica de la hiperplasia epitelial visceral, que expresa el marcador podocitario e兹rina, y produce la GEFS.⁽¹⁷⁾

Biancini y col (2012) concluyen que la falla de P21 promueve la mutagenicidad podocitaria llevando a GEFS colapsante.⁽²⁰⁾

La glomeruloesclerosis asociada con la proteinuria masiva está muy relacionada a cambios estructurales específicos en el complejo arquitectónico del podocito. Incluso pequeños rearreglos de la actina del citoesqueleto se traduce en pérdida de los procesos podocitarios ricos en actina en los pies de los podocitos. Estos eventos representan manifestaciones tempranas del daño podocitario progresivo asociado a la separación del podocito de la MBG y su pérdida irreversible.⁽¹¹⁾

Independientemente de su etiología, la esclerosis glomerular es una forma de pérdida progresiva de la función glomerular. Uno de los aspectos patogénicos más importantes de la GEFS es la lesión y pérdida de podocitos, con la consecuente insuficiencia podocitaria y el colapso del capilar glomerular. Es importante referir que en las glomerulopatías colapsantes como la nefropatía por HIV, los podocitos pierden marcadores de diferenciación, los cuales dejan de comportarse como tales y aumentan su tasa de proliferación y la apoptosis.⁽¹²⁾

La secuencia de eventos que ocurren durante el daño del podocito en las diferentes condiciones patológicas y la respuesta podocitaria al daño se muestran en la Tabla 3 y 4 respectivamente.⁽¹³⁾

- 1.- Desaparición de los pedicelos por re-arreglo de las cadenas de actina.
- 2.- Vacuolización
- 3.- Formación de pseudo-quistes
- 4.- Desprendimiento del podocito
- 5.- Pérdida del podocito

Tabla 3. Secuencia del daño podocitario (Fuente: Li et al⁽¹³⁾)

- | |
|---|
| <p>Estadio I: Hipertrofia para compensar cualquier pérdida de función. No se observa proteinuria</p> <p>Estadio II: TEM. Pérdida de características altamente especializadas del podocito y ganancia de marcadores mesenquimatosos. Se altera la MBG y aparece proteinuria</p> <p>Estadio III: Pérdida de podocitos por separación o apoptosis. Se empeora la proteinuria y sobreviene la glomerulosclerosis</p> |
|---|

Tabla 4. Respuesta del podocito al daño (Fuente: Li et al⁽¹³⁾)

DISCUSIÓN

Es importante recordar una vez más que la EF pertenece al grupo de enfermedades de Depósito Lisosomal, en las cuales se produce la acumulación de un sustrato específico como consecuencia de la deficiencia parcial o total en la actividad de una enzima hidrolasa ácida y que los lisosomas son definidos por un medio ácido, proteínas y lípidos de membrana característicos, y la presencia de muchas hidrolasas ácidas que catalizan la degradación de material que alcanzan el compartimiento a través de endocitosis de fase fluída, fagocitosis o autofagia.⁽²¹⁾

Según la revisión llevada a cabo por Biancini G y col, en las que se esbozan las cascadas activadas en las enfermedades de depósito lisosomal, dichas cascadas incluyen eventos tales como: autofagia, alteración en el transporte de lípidos, estrés del retículo endoplásmico, respuestas autoinmunes, alteración en la homeostasia del calcio, inflamación y estrés oxidativo.⁽²⁰⁾

La autofagia o macroautofagia es una de las principales funciones de los lisosomas, ya que es un proceso de degradación catabólica filogenéticamente conservado⁽²²⁾ y en situaciones de estrés, es un evento que impide a las células acceder a los nutrientes⁽²³⁾. Bajo estas condiciones el material intracelular es degradado por mecanismos dependientes de los lisosomas, y por consiguiente el mecanismo de autofagia se considera como un sistema de reciclaje.

El proceso de autofagia comienza con el secuestro de material citoplasmático, tales como proteínas mal plegadas y/u organelas dañadas, dentro del fagoporo seguido por la elongación y cierre del autofagosoma, una vesícula con doble membrana⁽²²⁾ que contiene la isoforma LC3-II de la proteína autofágica LC3.⁽²³⁾

Entonces el autoglosoma maduro se une con el lisosoma para crear un autolisosoma dentro del cual la membrana interna del autoglosoma y su contenido luminal son degradados por las enzimas lisosomales con el subsecuente reciclaje de macromoléculas. La autofagia incluso puede ser inducida por una variedad de estresores, tales como el ayuno, las infecciones, la edad, la supervivencia de la célula, y se habla de disfunción lisosomal en enfermedades como el cáncer, las enfermedades neurodegenerativas, la diabetes y el infarto miocárdico.^(22,23)

La inducción de la autofagia está controlada por los complejos ULK1 y ULK2, y la formación del autoglosoma requiere de los complejos clase III 3-fosfatidilinositol kinasa. El regulador clave de la autofagia es la mTOR Ser/Thr kinasa, quien regula negativamente la autofagia mediante la inhibición del complejo ULK1/2. Otro paso clave para la inducción de la autofagia es la generación de fosfatidilinositol 3 fosfato y su posterior conjugación a LC3 controlada por el sistema de proteasas Atg. La lipidoagregación de LC3 convierte la LC3 citosólica (LC3-I) a la forma asociada a la vesícula autofágica (LC3-II). De manera notable, LC3-II se usa comúnmente como un marcador de la autofagia debido a su patrón de tinción y tiene mayor movilidad electroforética comparada con la LC3-I. Además de mTOR, otras vías de señalización, como JNK, Ras, y Ca₂₊, pueden modular la autofagia.⁽²²⁾

De manera similar a la fagocitosis, la autofagia responde a la señalización de especies reactivas de oxígeno (ROS); inicialmente se pensó que debido a las consecuencias de la acumulación de ROS en las organelas y de la integridad genómica, la autofagia servía para disminuir el estrés oxidativo. Aun cuando esto parece ser cierto, y tiene drásticas implicaciones en muchos estados patológicos tales como el cáncer y las enfermedades neurodegenerativas, cuando se altera la integridad de la vía de la autofagia, existen evidencias crecientes de la regulación directa de este proceso por las moléculas ROS que modulan a proteínas específicas de la autofagia. Las ROS regulan la vía de transducción de la señal que induce la autofagia como el mTOR. Se sabe que la autofagia está inducida por el estrés oxidativo y la misma puede servir como su propio regulador negativo removiendo fuentes de ROS tales como mitocondrias (mitofagia) y depurando proteínas oxidativas del citosol. Sin embargo, en algunas condiciones, la autofagia puede contribuir a la acumulación anormal de ROS promoviendo selectivamente la degradación de la catalasa que es la principal enzima depuradora de ROS.⁽²⁴⁾

A nivel celular, la sobreproducción de ROS daña el ADN, lípidos y proteínas a través de la oxidación y lleva a la disfunción celular. Experimentalmente se demostró que un incremento intracelular de GL3 produce un aumento significativo de ROS de una manera dosis dependiente; sin embargo, no está claro el mecanismo por el que el GL3 induce la producción de ROS. Es posible que el GL3 active enzimas oxidativas tales como NADPH oxidasa, que es la mayor fuente de ROS.⁽²⁵⁾

Tal como se señaló anteriormente, estos mecanismos pueden condicionar a la apoptosis podocitaria y/o su transformación epitelial-mesenquimal (TEM), por lo que en los pacientes con EF, el podocito pierde sus marcadores epiteliales entrando en un ciclo celular activo y se establece la esclerosis glomerular colapsante. Este efecto puede también ser la consecuencia de la acción del TGF- β , que se incrementa en el podocito por efecto de Lyso-GL3, el cual es un metabolito catiónico biológicamente activo del GL3, constituido por una cadena polar de carbohidrato lo que le confiere hidrosolubilidad.⁽²⁶⁾

De acuerdo a todos los planteamientos anteriores, el caso clínico que se evaluó indica que se está frente a una patología de depósito lisosomal, consecutiva a la falta total o parcial de la enzima α -galactosidasa, la cual genera acumulación del sustrato globotriaosilceramida (GL3) en los lisosomas, principalmente en las células endoteliales; en consecuencia se genera hipertrofia del endotelio, lo que ocasiona obstrucción de los vasos e isquemia tisular. Los riñones son órganos muy vascularizados, que requieren el 25% del gasto cardíaco, del cual el 90% corresponde al flujo sanguíneo que perfunde a la corteza, que es la estructura en la que se produce la filtración glomerular, para dar inicio al proceso de formación de la orina. Por lo tanto, cualquier proceso o mecanismo que afecta este 90% del flujo sanguíneo cortical puede generar disminución de la tasa de filtración glomerular (TFG). Tal como se describió anteriormente, en la EF se produce un compromiso importante del funcionamiento renal producto del daño glomerular, y la evolución hacia la enfermedad renal crónica establecen las bases para una comorbilidad importante en estos pacientes, como consecuencia de la pérdida del control del medio interno (equilibrio hídrico, electrolítico, ácido-base, hormonal, hemodinámico, fósfo-cálcico entre otros).

Los lisosomas son estructuras celulares muy vulnerables al estrés oxidativo, como una consecuencia natural de las condiciones fisiológicas a las que es sometida dicha organela. Chen y col., demostraron que eventualmente, la acumulación de sustratos como GL3 en la enfermedad de Fabry exacerba los procesos patológicos ⁽¹⁶⁾. Ellos encontraron, mediante cultivos celulares, un incremento de las especies reactivas de oxígeno y de las moléculas de adhesión en respuesta a GL3. En los pacientes con enfermedad de Fabry cuando se comparan con pacientes controles, se observa un descenso en los niveles de las defensas antioxidantes (contenido de GSH eritrocitario y actividad GPx). La GSH es el antioxidante no enzimático más importante. La deficiencia de GSH sumado al aumento de la relación SOD/CAT observada en estos pacientes indica que probablemente, en los pacientes Fabry, el peróxido de hidrógeno (H_2O_2), es el más accesible para oxidar las moléculas biológicas. En presencia de Fe^{++} , el H_2O_2 proporciona el radical hidroxilo más tóxico, mediante la llamada reacción de Fenton. Este radical ataca a todos los tipos de biomoléculas a su alrededor, siendo extremadamente dañino para las células. Los pacientes Fabry presentan grandes daños lipídicos y oxidativos, descenso de las defensas antioxidantes e incremento de los biomarcadores inflamatorios, todo lo cual está relacionado con los niveles de GL3, sin embargo estos resultados deben ser interpretados cuidadosamente.⁽²⁰⁾

Es posible que GL3 active enzimas oxidativas tales como la NADPH oxidasa, que es la mayor fuente de especies reactivas de oxígeno; además, bajo ciertas condiciones patológicas, se ha observado que la NOSe es otra fuente importante de especies reactivas de oxígeno. La generación de superóxido por este mecanismo juega un papel importante en la disfunción endotelial. En el modelo murino de EF, se observó un aumento de GL3 y el GSL relacionado, en las fracciones de las cavéolas de las células endoteliales.⁽²⁴⁾

La hipertrofia de las células del endotelio glomerular y los cambios funcionales de las mismas producto de los depósitos de GL3 en sus organelas, además de la estrecha relación anatómica y funcional entre el endotelio y el epitelio en la barrera de filtración glomerular, puede ocasionar modificaciones en los otros componentes de esta, alterando el funcionamiento de los podocitos, células que se ven expuestas a una presión de 40 mmHg por parte del filtrado glomerular en condiciones normales.⁽¹²⁾ Tomado en cuenta que, la EF se manifiesta fisiopatológica y clínicamente como una alteración endotelial debido a una enzimopatía congénita, el estudio de dicha enfermedad se ha desarrollado tomando sólo básicamente a las células endoteliales. Sin embargo consideramos que no deben existir elementos que impidan que en los podocitos los depósitos de GL3 en sus lisosomas produzcan cambios como los descritos en las células endoteliales, lo cual debe ser motivo de nuevas investigaciones.

Participación de los Podocitos durante la Terapia de Reemplazo Enzimática de la Enfermedad de Fabry

En las investigaciones realizadas por Tondel y col, se demuestra claramente el efecto que el tratamiento enzimático con enzima recombinante (agalsidasa A o agalsidasa B) ejerce sobre la depuración de GL3 de los podocitos, lo cual reduce sustancialmente el compromiso funcional glomerular y la glomeruloesclerosis ⁽²⁾. La α -Gal A endógena no es detectable en los

podocitos humanos normales; sin embargo, experimentos realizados en ratones knockout, después de dos horas luego de la inyección intravenosa de enzima recombinante, dicha enzima se encontró en los lisosomas de los podocitos; resultados similares se reportaron en humanos con enfermedad de Fabry.⁽²⁵⁾

Por otra parte, se han identificado varios elementos tales como: la megalina, la sortilina y el receptor de manosa 6 fosfato (M6PR) en podocitos humanos como receptores endocíticos requeridos para la liberación de la enzima recombinante al lisosoma. Los M6PR que median la vía han sido muy bien caracterizados como la ruta mayor para la liberación en los lisosomas; sin embargo, el mecanismo de liberación de la enzima recombinante al lisosoma en podocitos humanos aún no está clara. La heterogeneidad del sistema de captación de la enzima Gal A ofrece nuevas perspectivas para mejorar la TRE en EF. Recientemente, en el año 2011, en ratones deficientes de Gal A y en pacientes Fabry, se ha demostrado que existe una filtración glomerular limitada, pero significativa de la Gal recombinante.⁽²⁵⁾ La megalina, la sortilina y el M6PR se expresan en podocitos humanos, co-localizados con WT1. Los residuos de M6P en la enzima recombinante activan la señal para la mayor eficiencia en la captación por parte de los M6PR; estos receptores se localizan principalmente (90-95%) en los compartimientos intracelulares, particularmente en la red trans-Golgi y en los endosomas, con entre el 5-10% de los receptores presentes en la superficie celular. La principal función de los M6PR, es participar en la entrega y el transporte de glicoproteínas con M6P desde TGN o la red trans Golgi a endosomas/lisosomas. Por otra parte, los M6PR pueden unir ligandos extracelulares y participar en la endocitosis. En la superficie de los podocitos se localiza una pequeña proporción de los M6PR, y la mayoría de dichos receptores se encuentran localizados en los compartimientos intracelulares.⁽²⁴⁾

La sortilina es un receptor multifuncional que participa en la unión con Gal A, que se expresa en la superficie y participa en la endocitosis. La sortilina pertenece a la familia de receptores del dominio de Vps10p, y es muy parecida a los M6PR. Se localiza principalmente en el compartimiento de Golgi y vesículas, y también se expresa en la superficie celular. Se co-localiza junto con los M6PR intracelulares y en la membrana celular, y se ha demostrado igual distribución en los podocitos. La sortilina puede ser un receptor nuevo de Gal A en podocitos.⁽²⁷⁾

La megalina/glicosidoproteína une a muchos de los mismos ligandos que la sortilina.⁽²⁷⁾ Es un receptor involucrado en la endocitosis mediada por múltiples ligandos; está localizada en un lado del podocito, así como en la microvellosidades de la fóvea cubierta de clatrina y en los túbulos contorneados proximales. Pertenece a la familia de los receptores de LDL y sus ligandos incluyen a la β-VLDL rica en apo E, lipoproteína A, lactoferrina, proteinlipasa, aprotinina, plasminógeno entre otros. En condiciones normales, la megalina podocitaria puede unirse proteínas filtradas por la MBG y degradarlas por vía endocítica⁽²⁸⁾. La megalina está presente en los podocitos humanos, y participa en la captación de Gal-A. La afinidad de la megalina por Gal-A es menor que la de sortilina.⁽²⁷⁾

Todo lo anteriormente mencionado comprueba la capacidad de endocitosis del podocito y pone de manifiesto las diversas rutas metabólicas en las que participa, siendo en este

contexto una ventaja funcional de la célula puesto que permite asegurar el efecto terapéutico de la enzima exógena.

El caso clínico presentado permite destacar que la EF es una de las patologías que debe tomarse en cuenta a la hora de establecer la etiología de la proteinuria en un paciente de sexo masculino, sin factores de riesgo para otras entidades como la diabetes mellitus o la hipertensión arterial sistémica. En esta revisión, se muestra el importante compromiso de la célula podocitaria, que tiene un fenotipo epitelial, y la susceptibilidad que presenta a la TRE, lo cual pudiera cambiar un tanto el paradigma fisiopatológico de la enfermedad y sentaría las bases para investigar sobre el compromiso de este tipo de célula, así como del tejido epitelial renal en la enfermedad de Fabry.

REFERENCIAS

- 1.- Altarescu G, Elstein D. Fabry disease in an oligosymptomatic male. IMAJ. 2011; 13: 191-192
- 2.- Tondel C, Bostad L, Kampevold K, Egil B, Houge G, Svartad E. Agalsidase benefits renal histology in young patients with Fabry Disease. J Am Soc Nephrol. 2013; 25: 137-148
- 3.- Warnock DG. Fabry Disease. Renal aspects of Fabry Disease. Nephrology. 2003; 1(6):802-807
- 4.- Politei JM, Cabello JF, Villalobos J, Valadez G, Loaeza A, Linares A, Martins AM. Enfermedad de Fabry: Nuevos conceptos en su historia natural, evolución y tratamiento, en relación a los hallazgos del Registro Fabry. Nefrologia, Diálisis y Transplante. 2009; 29(4):145-152
- 5.- Villalobos J, Politei JM, Martins AM, Cabrera G, Amartino H, Lemay R, Ospina S. Fabry Disease in Latin America: data from the Fabry Registry. JIMD Rep. 2013; 8: 91-99
- 6.- Keating GM, Simpson D. Agalsidase Beta: a review of its use in the management of Fabry disease. Drugs. 2007; 67 (3): 435-455
- 7.- Montero N, Soler MJ, Pascual MJ, Barrios C, Márquez E, Rodríguez E, Berrada A, et al. Correlación entre el cociente proteína/creatinina en orina esporádica y las proteínas en orina de 24 horas. Nefrologia. 2012; 32(4):494-501
- 8.- Carroll M, Temte J. Proteinuria in Adults: A Diagnostic Approach. Am Fam Physician. 2000; 62 (6):1333-1341
- 9.- Gubler MC, Lenoir G, Grünfeld JP, Ulmann A, Droz D, Habib R. Early renal changes in hemizygous and heterozygous patients with Fabry's disease. Kidney Int. 1978; 13:223-235
- 10.- Torra R, Ballarín J. La enfermedad de Fabry. Nefrologia. 2003; 23 (1):84-89
- 11.- Babelova A, Jausen F, Sander K, Löhn M, Schäfer L, Fork C, Ruetten H , et al. Activation of Rac-1 y RhoA contributes to podocytes injury in chronic kidney disease. PLoS ONE. 2013; 8(11): e80328

- 12.- Ortiz A, Marrón B, Ramos A. El destino de los podocitos en las nefropatías proteinuricas. Nefrologia. 2002; 23 (5):425-430
- 13.- Li Y, Kang YS, Dai C, Kiss LP, Wen X, Liu Y. Epithelial to mesenchymal transition is a potential leading to podocytes dysfunction and proteinuria. Am J Med. 2008; 172(2): 299-308
- 14.- Doné SC, Takemoto M, He L, Sun Y, Hultenby K, Betsholtz C, Tryggvason K. Nephrin is involved in podocyte maturation but not survival during glomerular development. Kidney Int. 2008; 73:697-704
- 15.- Reidy K, Susztak K. Epithelial-Mesenchymal transition and podocyte loss in diabetic kidney disease. Am J Kidney Dis. 2009; 54 (4): 590-599
- 16.- Chen S, Meng XF, Zhang C. Role of NADPH oxidase-mediated reactive oxygen species in podocyte injury. Biomed Res Int. 2013; ID 839761, 7 pages <http://dx.doi.org/10.1155/2013/839761>
- 17.- Suzuki T, Matsusaka T, Nakayama M, Asano T, Watnabe T, Ichicawa I, Nagata M. Genetic podocyte lineage reveals progressive podcytopenia with parietal cell hyperplasia in a murine model of cellular/collapsing focal segmental glomerulosclerosis. J Path. 2009;174, (5):1675-1682.
- 18.- Barisoni L, Kriz W, Mundel P, D'Agati V. The dysregulated podocyte phenotype: a novel concept in the pathogenesis of collapsing idiopathic focal segmental glomerulosclerosis and HIV-associated nephropathy. J Am Soc Nephrol 1999; 10:51-61
- 19.- Pippin JW, Durvasula R, Petermann A, Hiromura K, Couser WG, Shankland SJ.. DNA damage is a novel response to sublytic complement C5b-9-induced injury in podocytes. J Clin Invest 2003; 111:877-885.
- 20.-Biancini GB, Vanzin CS, Rodriguez DB, Deon M, Ribas GS, Barschak AG, Manfredini V, et al. Globotriaosylceramide is correlated with oxidative stress and inflammation in Fabry patients treated with enzyme replacement therapy. Biochim Biophys Acta. 2012;1822: 226-232
- 21.- Brignull L M, Czimmerer Z, Saidi H, Daniel B, Villela I, Bartlett N, Johnston S, Meira L, Nagy L, Nohturfft. Reprogramming of lysosomal gene expression by interleukin-4 and Stat 6 . BMC Genomics 2013; 14:853
- 22.- Lu Y, Hao Bai-Xia, Graeff R, Wong CWM, Wu T, Yue J. Two pore channel 2 (TPC2) inhibits autophagosomal-lysosomal fusion by alkalinizing lysosomal pH. J Bio Chem 2013; 288 (33): 24247-24263.
- 23.- Liebau MC., Braun F, Hopker K, Weitbrecht C, Bartels V, Muller RU"ller, Brodesser S, et al. Dysregulated autophagy contributes to podocyte damage in Fabry's Disease PLoS ONE 2013;8(5): e63506
- 24.- Vernon PJ. and Tang D. Eat-Me: Autophagy, Phagocytosis, and Reactive Oxygen Species Signaling. [Antioxid Redox Signal](#).2013;18(6):677-91
- 25.- Shen JS, Meng XL, Moore DF, Quirk JM, Shayman JA, Schiffmann R, Kaneski CR.

Globotriaosylceramide induces oxidative stress and up-regulates cell adhesion molecule expression in Fabry disease endothelial cells. Mol Genet Metab. 2008; 95(3):163-168, doi:10.1016/j.ymgme.06.016.

26.- Sanchez-Niño M, Sans A, Carrasco S, Saleem M, Mathieson P, Valdivielso J, et al. Globotriaosylsphingosine actions on human glomerular podocytes: implications for Fabry nephropathy. Nephrol Dial Transplant. (2011) 26 (6): 1797-1802.

27.- Prabakaran T, Nielsen R, Larsen JV, Sørensen SS, Feldt-Rasmussen U, Saleem MA, Petersen CM et al. Receptor-mediated endocytosis of α -galactosidase A in human podocytes in Fabry disease. PLoS ONE.2011; 6(9):e25065

28.- Zhang A, Huang S. Progress in Pathogenesis of Proteinuria. Int J Nephrol 2012; 2012 Article ID 314251, 14 pages, <http://dx.doi.org/10.1155/2012/314251>