

¿Son los autoanticuerpos antinefrina responsables de la pérdida de integridad del poro de filtración glomerular y la aparición de proteinuria en pacientes con síndrome nefrótico a lesiones mínimas de causa no genética?

Watts AJB, Keller KH, Lerner G, Rosales I, Collins AB, Sekulic M, et al. Discovery of autoantibodies targeting nephrin in minimal change disease supports a novel autoimmune etiology. *J Am Soc Nephrol.* 2022;33:238-52.

Análisis crítico: **Gema Ariceta Iraola**

Servicio de Nefrología Pediátrica. Hospital Vall d'Hebron. Universitat Autònoma de Barcelona. Bellaterra. Barcelona

NefroPlus 2023;15(1):42-46

© 2023 Sociedad Española de Nefrología. Servicios de edición de Elsevier España S.L.U.

■ Tipo de diseño y seguimiento

Estudio retrospectivo multicéntrico transversal observacional en dos cohortes de pacientes con enfermedad glomerular:

- Una cohorte de estudio integrada por pacientes con síndrome nefrótico (SN) a lesiones mínimas (LM) en fase de enfermedad activa y en remisión. Los pacientes participan en el estudio Nephrotic Syndrome Study Network (NEPTUNE).
- Otra segunda cohorte constituida por 54 pacientes con glomerulopatía membranosa y anticuerpos antirreceptores de la fosfolipasa A2 (PLA2) positivos o grupo control.

Previamente al inicio del estudio, se realizó un análisis preliminar de detección de anticuerpos antinefrina en muestras procedentes de una población de pacientes pediátricos sanos sin enfermedad renal, seleccionadas entre las incluidas en el Partners Healthcare Biobank.

■ Asignación



Estudio no aleatorizado.

■ Enmascaramiento



Estudio no enmascarado.

■ Ámbito



Participaron en el estudio las siguientes instituciones: Departamentos de Anatomía Patológica y Nefrología Pediátrica de hospitales universitarios de Estados Unidos de referencia internacional: Brigham and Women's Hospital y Harvard Medical School, Boston; Boston Medical Center y Boston University, Boston; Massachusetts General Hospital y Harvard Medical School, Boston; Columbia University College of Physicians and Surgeons, Nueva York; Mayo Clinic, Rochester, Minne-

sota; University of Michigan, Ann Arbor, Michigan; Boston Children's Hospital y Harvard Medical School, Boston, y Broad Institute of Massachusetts Institute of Technology y Harvard, Cambridge, Massachusetts.

■ Pacientes



De 62 individuos diagnosticados de síndrome nefrótico a lesiones mínimas, 41 (66%) eran niños y 21 (34%), adultos, con muestras obtenidas tanto en fase de síndrome nefrótico activo y proteinuria grave como en fase de remisión, sin proteinuria importante, incluidos en la cohorte del estudio NEPTUNE.

En el contexto del proyecto NEPTUNE y previamente al estudio actual, se había descartado la etiología monogénica de la enfermedad con el análisis genético de los siguientes genes causantes de síndrome nefrótico: *ACTN4, ADCK4, ALG1, ANLN, ARHGAP24, ARHGDI, AVIL, CD151, CD2AP, CDK20, CFH, COL4A3, COL4A4, COL4A5, COQ2, COQ6, CRB2, DGKE, DLC1, EMP2, FAT1, HNF1B, IL15RA, INF2, ITGA3, ITGB4, ITSN1, ITSN2, JAG1, KANK1, KANK2, KANK4, LAGE3, LAMB2, LMX1B, MAGI2, MTTL1, MYH9, MYO1E, MYO5B, NEIL1, NPHS1, NPHS2, NUP107, NUP205, NUP93, NXF5, OCRL, OSGEP, PAX2, PDSS2, PLCE1, PMM2, PODXL, PTPRO, SCARB2, SGPL1, SMARCA1, TNS2, TP53RK, TPRKB, TRPC6, TTC21B, UMOD, WDR73, WT1, XPO5 y ZMPSTE2.*

Un total de 54 individuos fueron diagnosticados de glomerulopatía membranosa y anticuerpos antirreceptores PLA2 positivos.

■ Intervención

Métodos

Determinación de títulos de autoanticuerpos antinefrina circulante por un método de enzoinmunoanálisis de adsorción (ELISA) indirecto y mediante inmunopre-

captación con la proteína completa de la nefrina obtenida a través de extracto glomerular humano o con un dominio extracelular purificado recombinante de la nefrina humana. Se analizaron muestras precoces en fase de actividad del síndrome nefrótico definida por la aparición de proteinuria grave (relación de proteína y creatinina en orina [UPCR, *urine protein creatinine ratio*] > 3 g/g), y en fase de remisión sin proteinuria importante (UPCR < 0,3 g/g).

En una fase preliminar del estudio, los autores desarrollaron la técnica de detección de autoanticuerpos antinefrina en suero y establecieron el umbral de positividad de la prueba en la población sana. Basándose en ello, definen como positivo el título de autoanticuerpos antinefrina > 187 U/ml, que corresponde al máximo observado en población sana sin enfermedad renal.

- Determinación con microscopia confocal mediante inmunofluorescencia de depósitos puntuales de inmunoglobulina G (IgG) asociados y colocalizados con la nefrina, en tejido procedente de biopsia renal de los pacientes indicada por criterios clínicos.
- Determinación de niveles séricos de los anticuerpos antirreceptor de la fosfolipasa A2 humano (hPLA2R)

mediante una prueba de ELISA comercial y una prueba de inmunofluorescencia indirecta.

- Las muestras del estudio fueron codificadas para preservar el anonimato de los pacientes.

■ Variables de resultados

Variable principal

Determinación de títulos de autoanticuerpos antinefrina circulante:

- En enfermedad activa precoz.
- En remisión.

Variable secundaria

Presencia de depósitos puntuados de IgG asociados con podocitos en el tejido de la biopsia renal.

■ Tamaño muestral



Grupo I (n = 30): individuos sanos.

Grupo II (n = 62): individuos con síndrome nefrótico a lesiones mínimas.

Grupo III (n = 54): individuos con glomerulopatía membranosa y anticuerpos antirreceptores PLA2+ (grupo control).

■ Promoción y conflicto de intereses

No aplicable.

■ RESULTADOS PRINCIPALES

Análisis basal de los grupos

Los grupos de estudio están bien caracterizados y se distinguen claramente entre sí.

Existe un grupo de estudio integrado por pacientes con SN a LM que son analizados en 2 situaciones definidas y diferenciables entre sí:

- Enfermedad activa: definida por un índice UPCR > 3 g/g.
- Enfermedad en remisión completa (índice UPCR < 0,3 g/g) o remisión parcial (disminución > 50% de la proteinuria).

Las características basales de los pacientes con autoanticuerpos positivos o negativos son similares.

Existe un grupo control integrado por pacientes con glomerulopatía membranosa con anticuerpos anti-hPLA2R positivos.

Variable principal

Autoanticuerpos antinefrina en suero positivos en el 29% de los pacientes con SN a LM y enfermedad activa. En la primera muestra sérica disponible, correspondiente a una fase activa de la enfermedad (UPCR > 3 g/g), en 18 (29%) de los 62 pacientes analizados, tanto niños como adultos, se detectó positividad de los autoanticuerpos antinefrina. Los coeficientes de variabilidad intra- e interensayo para la determinación de ELISA y los anticuerpos antinefrina fueron del 5,56% y del 14,36%, respectivamente.

Autoanticuerpos antinefrina en suero negativos en todos los pacientes con SN a LM en remisión total o parcial. En 11 de los 18 individuos inicialmente positivos a autoanticuerpos antinefrina circulantes en fase de actividad del SN, se realizó otra segunda determinación en situación de remisión completa (UPCR < 0,3 g/g) o remisión parcial (disminución de más del 50% de la proteinuria) y se demostró la negativización de los autoanticuerpos antinefrina en todos los pacientes. Aunque no fue un hallazgo significativo ($p = 0,09$), se observó una menor duración de la remisión del SN en pacientes con autoanticuerpos antinefrina positivos (mediana de 6 meses) en comparación con los pacientes negativos (mediana de 21,57 meses).

Autoanticuerpos antinefrina en suero negativos en el 98% de los pacientes con glomerulopatía membranosa con anticuerpos anti-hPLA2R positivos. En 53 (98%) de 54 pacientes del grupo control (diagnosticados de glomerulopatía membranosa con anticuerpos anti-hPLA2R positivos), los autoanticuerpos antinefrina circulantes en suero fueron negativos.

Variable secundaria

Los autores correlacionaron la detección de autoanticuerpos antinefrina circulantes en los pacientes con SN a LM en actividad con la presencia de depósitos puntiformes de IgG colocalizados con la proteína podocitaria nefrina en un diafragma (*slit diaphragm*) de la biopsia renal de dichos pacientes, hallazgo que no se observó en la biopsia renal de pacientes con SN a LM y autoanticuerpos antinefrina negativos.

Efectos secundarios

No aplicable.

■ CONCLUSIONES DE LOS AUTORES

Los autores del estudio concluyen que la detección de autoanticuerpos antinefrina en fase de actividad del SN y en forma de depósitos colocalizados con la nefrina en el *slit diaphragm* del tejido renal confirma la presencia de un mecanismo patogénico autoinmune en algunos pacientes con SN a LM de causa no genética, en que dichos anticuerpos alterarán la integridad del complejo del *slit diaphragm* y provocarán proteinuria.

■ COMENTARIOS DE LA REVISORA

Este estudio fundacional describe por primera vez la presencia de autoanticuerpos antinefrina en el suero de un porcentaje de pacientes pediátricos y adultos diagnosticados de SN a LM durante las fases de actividad de la enfermedad. Asimismo, en las biopsias renales de los pacientes con anticuerpos antinefrina positivos se observan depósitos granulares de IgG colocalizados con la nefrina del *slit diaphragm* que indican un mecanismo patogénico potencial de la proteinuria debido a la pérdida de la integridad del complejo de filtración. Los autores demuestran la asociación de dichos anticuerpos con la actividad de la enfermedad y argumentan la evidencia existente tanto en pacientes (basados en la bibliografía médica, como en algún caso individual descrito en el propio original) como en modelos animales bien caracterizados, que apoyan la robustez del mecanismo patogénico propuesto que relaciona la presencia de anticuerpos antinefrina con la aparición de proteinuria.

Los anticuerpos antinefrina no se observan ni en la población control sana ni en pacientes con otras enfermedades glomerulares autoinmunes, como es la glomerulopatía por anticuerpos anti-hPLA2R positivos.

Los autores pertenecen a instituciones internacionales de referencia global y nivel académico e investigador excelente. Los pacientes analizados pertenecen al estudio NEPTUNE, que es un estudio de referencia y de calidad muy elevada. La metodología utilizada es excelente, así como el nivel de evidencia de exclusión de otra enfermedad renal o proteinuria de causa genética.

Las limitaciones fundamentales son el estudio retrospectivo de una población pequeña y seleccionada, y la necesidad de confirmar los hallazgos de modo prospectivo y en otras cohortes. Especialmente es llamativo que los pacientes pediátricos estudiados hubieran precisado biopsia renal, cuando el tratamiento estándar de los pacientes pediátricos con SN primario y buena respuesta terapéutica al tratamiento de primera línea no incluye la realización de una biopsia renal.

A nivel global, este estudio abre la puerta a una nueva era en el diagnóstico, tratamiento y monitorización de los pacientes con SN a LM, lo que hace posible que la determinación de anticuerpos antinefrina permita individualizar el régimen terapéutico administrado a cada paciente, cuantificando la respuesta terapéutica, y quizá incluso anticipar la remisión y prever el riesgo de recaída, permitiendo mayor eficacia y reducir los efectos adversos asociados al tratamiento (v. el apartado «Notas clínicas»).

■ CONCLUSIONES DE LA REVISORA

La detección de anticuerpos antinefrina en el suero y en el tejido renal (biopsia) en un grupo de pacientes bien caracterizados con SN a LM permite describir por primera vez un mecanismo patogénico autoinmune en esta entidad, asociada a las fases de actividad de la enfermedad. El estudio es riguroso y de gran calidad, si bien su carácter retrospectivo y el tamaño muestral limitan la generalización e interpretación de los hallazgos.

■ CLASIFICACIÓN

Subespecialidad: Nefropediatría

Tema: Enfermedades glomerulares

Tipo de artículo: Estudio longitudinal de cohorte

Palabras clave: Síndrome nefrótico. Lesiones mínimas. Anticuerpos antinefrina. Proteinuria. Inmunoglobulina G puntiforme. Biopsia renal. *Slit diaphragm*

NIVEL DE EVIDENCIA: 2

GRADO DE RECOMENDACIÓN: 1A

(Levels of Evidence CEBM. University of Oxford: http://www.cebm.net/levels_of_evidence.asp.)

Conflicto de intereses

La Dra. Gema Ariceta Iraola declara que no tiene conflictos de interés.

■ NOTAS CLÍNICAS

El hallazgo novedoso de que en algunos pacientes con SN a LM se detecten autoanticuerpos antinefrina en el suero durante las fases de actividad de la enfermedad y que también se depositen colocalizados con la nefrina del *slit diaphragm* de la biopsia renal demuestra un nuevo mecanismo patogénico en la aparición de la proteinuria, que potencialmente puede modificar el tratamiento de los pacientes con esta enfermedad.

Concretamente, este estudio abre la puerta a una nueva era en el diagnóstico, tratamiento y monitorización de los pacientes con SN a LM, que hace posible que la determinación de anticuerpos antinefrina en un futuro próximo permita individualizar el régimen terapéutico administrado a cada paciente, cuantificando la respuesta terapéutica y quizá incluso anticipar la remisión (posiblemente minimizando el tratamiento) e incluso el diagnóstico preclínico de la recaída. Con ello, es muy probable que sea posible aminorar también el impacto negativo y los efectos adversos asociados al tratamiento.

Si estos hallazgos se confirman en otras cohortes y aumenta el nivel de evidencia, potencialmente la presencia de autoanticuerpos antinefrina permitirá clasificar a los pacientes con SN en positivos y negativos, lo que redundará en un tratamiento diferente en cada caso.

Asimismo, potencialmente la determinación de anticuerpos antinefrina en el paciente con SN candidato a trasplante renal permitirá adaptar el tratamiento pretrasplante, establecer el riesgo de recurrencia postrasplante, la idoneidad del tipo y tiempo del trasplante, y el tratamiento individualizado posterior de la recaída.

Es preciso, además, extender este estudio a otros pacientes con SN y otros patrones histológicos, como la glomeruloesclerosis focal y segmentaria, y quizá también en otras glomerulopatías, para conocer el posible papel patogénico de los anticuerpos antinefrina.

En cuanto a la evaluación del estudio, sus fortalezas están definidas por el estudio de una cohorte de pacientes muy bien caracterizada (que participa en el estudio NEPTUNE), la comparación con un grupo control y, además, con la población general, así como una metodología rigurosa y de alta calidad. La descripción de los resultados es clara y aporta no solo las tablas y figuras, sino que reproduce la imagen de las pruebas diagnósticas utilizadas.

Los resultados se refuerzan por la existencia de hallazgos y evidencias, además de la del estudio en cuestión, que refuerzan el mecanismo patogénico hipotético y las conclusiones de los pacientes, como son:

1. Eficacia del tratamiento anti-CD-20 (antilinfocitos B) en inducir y mantener la remisión en pacientes con síndrome nefrótico.
2. La respuesta al tratamiento con antilinfocitos B y las técnicas de aféresis en pacientes con recurrencia de SN después del trasplante.
3. La aparición de recurrencia de SN en pacientes con síndrome nefrótico finlandés (SNF) causado por mutaciones del gen *NPHS1* que son deficitarios en nefrina y pueden recurrir postrasplante renal. La recurrencia se asocia con la aparición de anticuerpos antinefrina, inducidos por la nefrina expresada en el injerto que no porta la mutación genética.
4. La demostración en modelos animales de que los anticuerpos antinefrina causan proteinuria.

Las limitaciones del estudio se resumen del modo siguiente:

- Estudio retrospectivo en un número limitado de pacientes.
- Cohortes poblaciones de pacientes en EE. UU.

- Es posible que los resultados puedan estar sesgados al menos en la población pediátrica, ya que los niños con SN y buena evolución no precisan la realización de una biopsia renal.
- Con todo ello, es preciso conocer si los resultados son extrapolables a otras poblaciones y si los porcentajes de positividad de anticuerpos antinefrina son similares en pacientes pediátricos con SN idiopático y buena respuesta al tratamiento habitual de primera línea (corticoides).
- Es preciso confirmar los hallazgos y, en su caso, establecer una relación entre presencia y número de anticuerpos antinefrina, y el patrón de evolución de la enfermedad (recaídas infrecuentes, recaídas frecuentes, dependencia de los corticoides y resistencia a los corticoides).