

¿Son los anticuerpos antinefrina un simple biomarcador de actividad de la enfermedad de cambios mínimos y el síndrome nefrótico idiopático, o contribuyen a su patogenia?

Hengel FE, Dehde S, Lassé M, Zahner G, Seifert L, Schnarre A, et al. Autoantibodies Targeting Nephritin in Podocytopathies. *N Engl J Med.* 2024;391:422-33. doi: 10.1056/NEJMoa2314471

Análisis crítico: Francisco José Roca Oporto, Cristina Andrades Gómez, José Manuel Muñoz-Terol, Virginia Cabello Chaves

Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla

NefroPlus 2024;16(2):37-40

© 2024 Sociedad Española de Nefrología. Servicios de edición de Elsevier España S.L.U.

■ Tipo de diseño y seguimiento

- Estudio multicéntrico
- Engloba 4 cohortes:
 - Pacientes adultos con enfermedad glomerular de diferentes etiologías confirmada por biopsia renal, incluyendo, entre otras, la enfermedad de cambios mínimos (ECM) y glomeruloesclerosis focal (GSF) primaria (n = 357).
 - Población pediátrica con síndrome nefrótico idiopático (n = 182).
 - Controles sanos adultos (n = 67).
 - Controles sanos pediátricos (n = 50).

Se realiza un análisis preliminar de detección de anticuerpos antinefrina, utilizando una nueva metodología de inmunoprecipitación junto con un ensayo híbrido, combinando la inmunoprecipitación con un ensayo de inmunoabsorción enzimática (ELISA). Este procedimiento permite detectar y cuantificar dichos anticuerpos circulantes. Se evalúa, además, la relación entre estos anticuerpos y la actividad de la enfermedad en su seguimiento.

En una segunda parte del estudio, se desarrolla un modelo experimental animal de ECM mediante inmunización activa a ratones con nefrina murina recombinante en el que se estudian la aparición de la enfermedad y los mecanismos fisiopatológicos de actuación de dichos anticuerpos.

■ Asignación

- Estudio no aleatorizado.
- En el modelo experimental animal, la inmunización activa se realizó de forma aleatorizada en animales de edad similar.

■ Enmascaramiento

- Las muestras se analizaron de manera ciega. El diagnóstico de la enfermedad y los datos clínicos se reve-

laron después de la determinación de los autoanticuerpos antinefrina.

■ Ámbito

- Participaron en el estudio las siguientes instituciones:
 - Departamento de Medicina, Biometría Médica y Epidemiología, Patología, Nefrología Pediátrica, Obstetricia y Medicina Fetal, Centro de Salud Renal, Centro de Inmunología Traslacional y Centro Médico Universitario, todos ellos de Hamburgo (Alemania).
 - Centro de Pediatría y Medicina Adolescente del Hospital Universitario de Heidelberg (Alemania).
 - Departamento de Biomedicina de la Universidad de Aarhus (Dinamarca).
 - Departamento de Medicina de Precisión y Regenerativa, Unidad de Nefrología, Diálisis y Trasplante, de la Universidad de Bari Aldo Moro (Italia).
 - División de Nefrología y el Hospital Infantil Bambino Gesù de Roma (Italia).
 - Unidad de Investigación de la Universidad de la Sorbona en París (Francia).
 - Departamento de Nefrología Pediátrica, Hospital Robert Debré, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (Francia).
 - División de Nefrología, Hospital Center-Le Mans (Francia).
 - Centro de Investigación Clínica y Traslacional, Abigail Wexner Research Institute, Ohio (EE. UU.).
 - Departamento de Pediatría, Facultad de Medicina de la Universidad Estatal de Ohio (EE. UU.).
 - Departamento de Patología, Brigham and Women's Hospital, Boston (EE. UU.).
 - Facultad de Medicina de Harvard, Boston (EE. UU.).
 - Departamento de Medicina, Facultad de Medicina de la Universidad Johns Hopkins, Baltimore (EE. UU.).

Todos los autores contribuyeron por igual al trabajo.
Revisión por expertos bajo la responsabilidad de la Sociedad Española de Nefrología.

■ Pacientes



La cohorte englobaba a un total de 656 participantes, 539 pacientes (357 adultos con enfermedad glomerular confirmada por biopsia renal y 182 niños con síndrome nefrótico idiopático diagnosticados por fenotipo clínico y hallazgos de laboratorio) y 117 controles sanos (67 adultos y 57 niños).

La etiología de la enfermedad renal en la cohorte de adultos incluía: 105 pacientes con ECM, 115 diagnosticados de GSF, 75 de ellos con GSF primaria (basado en fusión podocitaria difusa en la microscopia electrónica y presencia de síndrome nefrótico), 50 con nefropatía membranosa (NM), asociados al receptor de fosfolipasa A₂ en el 84% de los casos, 48 con nefropatía por inmunoglobulina A (NlgA), 20 con vasculitis por anticuerpos anticitoplásmicos de neutrófilos (ANCA) y 20 pacientes con nefropatía lúpica (NL).

El estudio del modelo experimental animal se realizó con ratones *Wild-type* BALB/cAnNCrI y existía un grupo control.

■ Intervención

Se determinaron los anticuerpos antinefrina mediante inmunoprecipitación y para su cuantificación se empleó un ensayo híbrido de ELISA e inmunoprecipitación.

La proteinuria se midió por la relación proteína-creatinina en orina; también se analizó la albúmina y el colesterol sérico, así como el filtrado glomerular estimado (FGe) en el momento de la inclusión en el estudio.

En el modelo experimental animal, se inmunizaron por vía subcutánea a ratones *Wild-type* BALB/cAnNCrI con nefrina murina recombinante junto con adyuvantes de Freund's, un estimulador inespecífico de la respuesta inmunitaria. Los animales control recibieron el adyuvante completo de Freund's junto con

solución salina. Se tomaron muestras de suero/plasma al inicio y a las 2 semanas de la inmunización, así como el día del sacrificio, 3 semanas después. Se realizaron estudios histológicos de tejido renal en microscopia óptica, inmunofluorescencia con microscopio confocal y microscopia electrónica incluyendo inmunomarcaje con oro. Por último, se realizaron análisis proteómicos y fosfoproteómicos de glomérulos aislados.

■ Variables de resultado

Determinación de anticuerpos antinefrina en pacientes adultos con ECM o GSF primaria y pediátricos con síndrome nefrótico idiopático y su relación con la actividad de la enfermedad.

Se examinó, en un modelo experimental animal, si los autoanticuerpos antinefrina podían inducir una podocitopatía y si ejercían efectos directos sobre la señalización de la nefrina mediante estudios proteómicos en glomérulos aislados.

■ Tamaño muestral



539 pacientes:

+ 357 adultos con enfermedad glomerular biopsiada:

- ECM: 105.
- GSF primaria: 114.
- NM: 50.
- NlgA: 48.
- Vasculitis ANCA: 20.
- NL: 20.

+ 182 pacientes pediátricos con síndrome nefrótico idiopático.

117 controles: 67 adultos y 50 niños.

■ Promoción y conflicto de interés

No aplicable.

■ RESULTADOS PRINCIPALES

Análisis basal de los grupos

Las cohortes de pacientes incluidas en el estudio mantienen la proporción esperada de hombres y mujeres, y una amplia distribución de edad similar a la de estudios previos.

Los pacientes adultos de raza no caucásica están infrarrepresentados.

Variable principal

Prevalencia de autoanticuerpos antinefrina en pacientes con glomerulopatía proteinúrica

En el 44% de los pacientes adultos con ECM se detectaban autoanticuerpos antinefrina, cifra que aumentaba hasta el 61 y el 69% en aquellos con proteinuria nefrótica y pacientes con síndrome nefrótico sin tratamiento inmunosupresor, respectivamente.

La prevalencia de dichos anticuerpos en pacientes adultos con GSF primaria era claramente inferior, pues alcanzaba el 9%.

No se detectaron en pacientes con otras glomerulopatías y controles sanos, salvo en un paciente con una GSF secundaria y un paciente con NM.

La prevalencia de los autoanticuerpos en población pediátrica con síndrome nefrótico idiopático fue del 52% y se incrementó al 80% en aquellos con proteinuria en rango nefrótico y hasta el 90% en pacientes con síndrome nefrótico *naïve* de tratamiento inmunosupresor.

Variable secundaria

Se estudió, en el seguimiento del paciente, si la presencia o ausencia de autoanticuerpos antinefrina reflejaba estrechamente la actividad y remisión de la enfermedad, respectivamente. Para ello se seleccionó una subcohorte de 13 adultos con ECM, 5 adultos con GSF y 18 niños con síndrome nefrótico idiopático con más de una determinación de autoanticuerpos.

Variable principal del modelo experimental animal

La inmunización activa de ratones con el ectodominio de la nefrina murina indujo la formación de autoanticuerpos antinefrina, seguida por el rápido desarrollo de un síndrome nefrótico.

La histología renal al microscopio óptico no mostraba diferencias entre los ratones de control y los inmunizados con nefrina. Tampoco existían diferencias en la densidad podocitaria. La microscopia electrónica mostró un borramiento difuso de los procesos podocitarios y ausencia de depósitos electrondensos en los ratones inmunizados y no en los controles, hallazgos concordantes con la ECM histológica. El inmunomarcaje con oro de IgG en ratones inmunizados mostraba su depósito en el diafragma de hendidura. En la microscopia confocal se evidenció una redistribución de nefrina y un patrón de positividad de IgG colocalizado con nefrina.

Se realizó un análisis proteómico y fosfoproteómico de glomérulos aislados de ratones 3 semanas después de la inmunización. En los ratones inmunizados, estaba aumentada la fosforilación de la nefrina en los residuos de tirosina necesarios para la señalización dependiente de nefrina que altera el ensamblaje de actina, la reorganización del citoesqueleto y la endocitosis de nefrina.

■ CONCLUSIONES DE LOS AUTORES

Los autores concluyen que su estudio revela que los anticuerpos antinefrina están presentes de forma generalizada en pacientes adultos con ECM y en niños con síndrome nefrótico idiopático. Además, los defienden como indicadores de actividad de la enfermedad y sugieren que tienen un papel crucial en la patogenia del daño podocitario.

■ COMENTARIOS DE LOS REVISORES

Hengel *et al.* proporcionan en este estudio evidencias convincentes del papel de los autoanticuerpos antinefrina en la ECM y validan los resultados del trabajo previo de Watts, con una gran cohorte multicéntrica europea. Una limitación del estudio es que en la cohorte adulta la raza no caucásica está probablemente infrarrepresentada.

Para la detección de dichos autoanticuerpos, los investigadores optimizan la técnica de detección y desarrollan un ensayo híbrido que combina la inmunoprecipitación con un ELISA de nefrina, lo que les permite detectar y cuantificar los anticuerpos antinefrina circulantes. Probablemente, a diferencia de otras patologías, como la nefropatía membranosa o la enfermedad antimembrana basal glomerular, esta entidad represente una patología de «bajo título de anticuerpos» y se requieren técnicas más sensibles para la identificación de los autoanticuerpos. Es necesario desarrollar y validar un ensayo más accesible en grandes cohortes para una aplicación más amplia en la práctica clínica; este problema técnico queda por resolver.

Se identificaron autoanticuerpos antinefrina en aproximadamente la mitad de los adultos con ECM o niños con síndrome nefrótico idiopático, y en aproximadamente el 10% de los adultos que tenían el diagnóstico por biopsia de GSF primaria, pero estaban ausentes en los controles sanos o en otras glomerulopatías definidas por biopsia. La prevalencia de dichos autoanticuerpos aumentó al 69% en adultos con ECM y al 90% en niños con síndrome nefrótico con enfermedad activa sin tratamiento inmunosupresor. No quedan explicadas las diferencias de prevalencia entre población pediátrica y adulta.

La baja prevalencia de estos anticuerpos en la GSF primaria sugiere que los mecanismos inmunomediados no están completamente dilucidados o que, en la mayoría de los casos, se trate de dos entidades diferentes. El trabajo no da respuesta si existían diferencias en los pacientes con GSF primaria en función de la presencia de los autoanticuerpos.

El título de autoanticuerpos antinefrina se correlacionaba estrechamente con la proteinuria. Los análisis longitudinales también demuestran una correlación entre sus niveles y la actividad de la enfermedad, y puede considerarse, por tanto, un marcador subrogado de actividad de la enfermedad y sugiere su potencial como biomarcador no invasivo.

Los datos de cohorte disponibles no permiten un examen detallado de la historia natural de la enfermedad asociada a los autoanticuerpos antinefrina, aunque en 3 pacientes estudiados parece que existe una relación temporal entre la terapia dirigida contra las células B, el título de autoanticuerpos y la remisión de la proteinuria.

El modelo experimental de ratón respalda una relación potencialmente causal entre los autoanticuerpos antinefrina y la disfunción de los podocitos; dicho modelo también permite dilucidar los mecanismos patogénicos asociados con los anticuerpos. La inmunización de ratones con nefrina desencadenó el desarrollo de autoanticuerpos e indujo un síndrome nefrótico parecido a la ECM, con borramiento difuso de los procesos del pie de los podocitos. La localización de IgG en el diafragma de hendidura y su colocalización parcial con nefrina indican la unión antígeno-anticuerpo. Los análisis proteómicos de glomérulos de los ratones inmunizados mostraron una mayor fosforilación de nefrina en residuos de tirosina conservados, necesarios para la señalización dependiente de nefrina que altera el ensamblaje de actina, la reorganización del citoesqueleto y la endocitosis de nefrina, impactando potencialmente en los mecanismos celulares que conducen a la fusión podocitaria.

Los autores reconocen que el estudio tiene naturaleza «exploratoria» y no realizan análisis de significación estadística, y muestran los resultados como diagramas de dispersión con medianas y medias con intervalo de confianza del 95%.

■ CONCLUSIONES DE LOS REVISORES

La identificación de autoanticuerpos antinefrina en un subconjunto de pacientes con enfermedad glomerular lo convierte en un potencial marcador no invasivo en un subconjunto de podocitopatías y un avance en la definición de estas basado más en la patogenia de la enfermedad que en su morfología.

Hengel *et al.* demuestran que los autoanticuerpos antinefrina pueden medirse cuantitativamente para evaluar la actividad de la enfermedad y la respuesta al tratamiento.

Es necesario un mejor desarrollo y caracterización de estos ensayos, y su valoración en cohortes prospectivas adicionales.

El modelo animal desarrollado respalda el papel patogénico de los autoanticuerpos antinefrina en la ECM.

■ CLASIFICACIÓN

Subespecialidad: Nefrología clínica

Tema: Enfermedades glomerulares

Tipo de artículo: Estudio longitudinal de cohortes y estudio de modelo experimental animal

Palabras clave: Síndrome nefrótico. Enfermedad de cambios mínimos. Síndrome nefrótico idiopático. Glomeruloesclerosis focal. Podocitopatía. Nefrina. Anticuerpos antinefrina. Proteinuria

NIVEL DE EVIDENCIA: 2

GRADO DE RECOMENDACIÓN: 1A

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

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés.