



# La nefropatía del colágeno IV ( $\alpha3$ - $\alpha4$ )

R. Torra, B. Tazón, E. Ars y J. Ballarín

Fundació Puigvert. Barcelona.

## RESUMEN

Se ha demostrado que los genes COL4A3, COL4A4 y COL4A5 están implicados en distintas manifestaciones renales. Mutaciones en estos genes del colágeno IV afectan la estructura de la membrana basal glomerular (MBG) dando lugar a una nefropatía cuyos síntomas oscilan desde la hematuria aislada hasta la insuficiencia renal. Estas alteraciones renales han sido consideradas históricamente como distintas entidades: síndrome de Alport autosómico dominante, hematuria familiar benigna y portadores del síndrome de Alport autosómico recesivo. Pero el conocimiento molecular de estas enfermedades ha hecho que podamos agruparlas bajo el epígrafe de «nefropatía del colágeno IV». Este hecho tiene importantes implicaciones en el diagnóstico, pronóstico y seguimiento de la enfermedad.

Palabras clave: **Nefropatía del colágeno IV. Síndrome de Alport. Hematuria familiar benigna. COL4A3. COL4A4.**

## COLLAGEN IV ( $\alpha3$ - $\alpha4$ ) NEPHROPATHY

### SUMMARY

Recent evidence has shown that the COL4A3, COL4A4 and COL4A5 genes are involved in different renal manifestations. Mutations in these collagen type IV genes affect the glomerular basement membrane (GBM) giving rise to a nephropathy whose symptoms range from isolated hematuria to severe renal failure. This disorder has been traditionally considered to be different entities: Autosomal Dominant Alport syndrome, Familial Benign Hematuria, Autosomal Recessive Alport Syndrome carriers. But the increased knowledge of the molecular basis of this clinical diversity prompted us to agglutinate these entities under the name of «collagen type IV nephropathy». This fact has relevant implications in diagnosis, prognosis and management.

Key words: **Collagen IV nephropathy. Alport syndrome. Familial benign hematuria. COL4A3. COL4A4.**

## ESPECTRO CLÍNICO DE LA NEFROPATÍA DEL COLÁGENO IV ( $\alpha3$ - $\alpha4$ )

### Fenotipo leve: hematuria familiar benigna

Se han utilizado diversos términos para definir la entidad clínica consistente en microhematuria persistente, mínima proteinuria, función renal normal, MBG adelgazada de forma uniforme e historia familiar con un patrón de herencia autosómico dominante: enfermedad de la membrana basal delgada, hematuria esencial benigna y hematuria familiar benigna. El término enfermedad de la membrana basal delgada refleja una ultraestructura anormal pero común a muchas otras enfermedades renales. Por otra parte la presencia de hematuria en esta entidad no es persistente. Así el término que mejor refleja esta enfermedad es hematuria familiar benigna (HFB).

La enfermedad de la membrana delgada (EMD) es probablemente la causa más común de hematuria aislada persistente y recurrente en niños y adultos y su prevalencia oscila de 1% al 14% dependiendo de la población estudiada<sup>1</sup>. Aproximadamente 2/3 de los pacientes con EMD padecen una forma autosómica dominante de la enfermedad denominada HFB. Al menos en el 40% de estas familias la enfermedad cosegrega con el locus *COL4A3*/*COL4A4*<sup>2,3</sup>. Basado en aproximaciones directas e indirectas la prevalencia estimada de hematuria debida a HFB alcanza el 1% de la población<sup>4,5</sup>. Esta prevalencia implica que la enfermedad es una de las entidades más frecuentes que afecta al riñón después de las infecciones, la litiasis y la hipertensión.

### Fenotipo intermedio

El término benigno no siempre es apropiado para la HFB, ya que el 50% de adultos con esta enfermedad tiene algún grado de proteinuria así como el 6% de niños. Además, el 16% de adultos desarrollan proteinuria superior a 500 mg/d y el 17% tienen hipertensión. También se han publicado algunos casos de progresión a insuficiencia renal crónica terminal en edad adulta<sup>6,7</sup>. Estas complicaciones de la enfermedad son muy parecidas a las del Sd de Alport (SA). Además el aspecto de la MBG de los niños con SA es indistinguible del de la HFB, mostrando solamente adelgazamiento difuso de la misma. De hecho Hudson y cols., en una revisión reciente del SA y el Sd. de Goodpasture consideran la HFB como una variante del SA<sup>8</sup>.

### Fenotipo severo: síndrome de Alport

La asociación de nefritis hereditaria y sordera fue definida por Alport como síndrome en 1927<sup>9</sup>. Las anomalías clínicas y anatomopatológicas comprenden: hematuria persistente, proteinuria e insuficiencia renal progresiva, historia familiar de la enfermedad, hipoacusia, anomalías oculares, adelgazamiento y laminación de la MBG. En algunos casos se asocia a tumores de músculo liso de esófago y genitales femeninos (leiomatosis). Se debe tener en cuenta que la hipoacusia o las anomalías oculares no están siempre presentes, lo cual complica el diagnóstico.

Las mutaciones en el gen *COL4A5* son responsables del SA ligado al sexo (SALX) (OMIM 301050) que da lugar al 85% de los casos de SA<sup>10-12</sup>. Un 15% de los casos tienen un patrón de herencia autosómico, de los cuales un 14% son recesivos ARAS (OMIM 203780) y un 1% dominante (OMIM 104200), ambos causados por mutaciones en los genes *COL4A3* y *COL4A4*<sup>13-16</sup>. Las características clínicas del SALX son las más conocidas: varones más afectados que mujeres y mujeres portadoras que ocasionalmente pueden alcanzar la IRCT<sup>17</sup>. El SAAR se caracteriza por la misma afectación orgánica pero con una igual severidad en varones que en mujeres. Esto es también cierto para el SAAD pero, en los escasos casos publicados, la edad de IRCT es mucho más tardía. A pesar de que hay pocos casos publicados parece muy probable que el SAAD sea en realidad un fenotipo más severo de la HFB<sup>18</sup>.

## LA NEFROPATÍA DEL COLÁGENO IV ( $\alpha3$ - $\alpha4$ ) COMO DENOMINADOR COMÚN PARA EL SÍNDROME DE ALPORT Y LA HEMATURIA FAMILIAR BENIGNA

Las membranas basales están ensambladas a través de una red de colágeno IV junto a laminina, nidogen y proteoglicanos sulfatados. Los genes del colágeno IV van del *COL4A1* al *COL4A6* y codifican para 6 cadenas a que se expresan en diferentes membranas en diferentes estadios del desarrollo embrionario. Estas cadenas forman unas moléculas de tres hélices llamadas protómeros que consisten en  $\alpha1$ ,  $\alpha1$ ,  $\alpha2$ (IV);  $\alpha3$ ,  $\alpha4$ ,  $\alpha5$ (IV);  $\alpha5$ ,  $\alpha5$ ,  $\alpha6$ (IV)<sup>19</sup>. El primer grupo se encuentra solo en el embrión y es gradualmente reemplazado por los dos otros protómeros. Este cambio de moléculas es crítico en el desarrollo renal. Las mutaciones en los genes *COL4A3*, *COL4A4* o *COL4A5* producen un defecto postraduccional en el ensamblaje del protómero que impide la correcta estructura del colágeno IV. La MBG está expuesta a proteasas y agentes oxidantes y no

posee la protección adecuada. De esta manera, a lo largo del tiempo, los pacientes con un colágeno IV defectuoso son más proclives a padecer una proteólisis de la MBG, la cual se engruesa y lamina hasta deteriorarse de tal manera que además de sangre permite el paso de proteínas<sup>20</sup>. Presumiblemente un leve defecto en el colágeno IV solo dará lugar a un adelgazamiento de la MBG.

Considerando las similitudes entre la HFB y el SA, parece razonable asumir que estas entidades son en realidad extremos fenotípicos de un mismo defecto molecular. Lemmink y cols., fueron los primeros en apuntar esta hipótesis demostrando ligamiento con el locus 2q35-37 (*COL4A3/COL4A4*) en una familia con HFB y SA<sup>21</sup>. Los familiares con HFB eran heterocigotos para la mutación G897E (*COL4A4*). El caso índice tenía una biopsia renal compatible con SA y había heredado la mutación de su padre, pero la madre también tenía hematuria. La hipótesis es que la madre también era portadora de una mutación en el gen *COL4A4* y había transmitido dicha mutación a su hijo. Se han descrito algunas mutaciones en los genes *COL4A3* y *COL4A4* en familias con SAAR, así mismo algunas de estas mutaciones han sido halladas en familias con HFB<sup>2,3,21-24</sup>. Estos hallazgos tienen importantes consecuencias de cara al consejo genético, así pues los hijos de una pareja con hematuria familiar pueden padecer un SA. Pero ni todas las familias con HFB muestran ligamiento al locus *COL4A3/COL4A4* ni todos los portadores de SAAR presentan hematuria<sup>3,3,25,26</sup>. Debemos tener en cuenta que la hematuria puede presentar una penetrancia incompleta, así pues familias aparentemente no ligadas al locus *COL4A3/COL4A4* pueden en realidad estarlo<sup>18,27</sup>. También debemos considerar que haya mutaciones de novo y por que no, otros genes implicados en la HFB. Los heterocigotos compuestos con una mutación en el gen *COL4A3* y otra en el *COL4A4* presentan solo microhematuria confirmando la suposición de que son precisas mutaciones en las dos copias de un mismo gen para producir la enfermedad<sup>27</sup>.

El hecho más destacable es que mutaciones en tanto el gen *COL4A3* como en el *COL4A4* han sido halladas en heterocigosis en el llamado SAAD<sup>15,24,27,28</sup>. En todos estos casos la IRCT aparece en edades tardías de la vida o incluso no llega a aparecer. Esta entidad puede estar infradiagnosticada porque la insuficiencia renal se da en edad adulta y puede ser indistinguible de una glomerulopatía avanzada. Curiosamente algunos casos de HFB con evolución a proteinuria e insuficiencia renal han sido descritos<sup>6,7</sup> demostrando que la HFB y el SAAD pertenecen a un espectro continuo de severidad variable causado por mutaciones en los genes *COL4A3*

y *COL4A4*. La diferente evolución de la enfermedad causada por mutaciones en estos genes puede ser explicada por las distintas consecuencias en la traducción proteica así como por la intervención de otras proteínas estructurales presentes en el podocito o en el diafragma como la nefrina, la podocina y la  $\beta$ -actinina, las cuales pueden interactuar con el colágeno IV y afectar la integridad de la MBG<sup>29</sup>.

El análisis mutacional no está disponible para realizar el diagnóstico rutinario de la nefropatía del colágeno IV. Debido al gran tamaño de estos genes y a la presencia de gran número de polimorfismos, las técnicas utilizadas habitualmente son poco útiles.

## CONCLUSIÓN

Las mutaciones en los genes *COL4A3*, *COL4A4* y *COL4A5* producen una alteración de la MBG. Dependiendo de la edad, sexo, tipo de mutación y número de genes mutados el fenotipo oscila desde un MBG adelgazada a engrosada y laminada, lo cual en términos clínicos va desde la microhematuria aislada hasta un SA florido.

El nuevo término «nefropatía del colágeno IV ( $\alpha 3$ - $\alpha 4$ )» permite agrupar las entidades previamente conocidas como HFB, SAAD y portadores del SAAR en un único concepto clínico y molecular para una mejor comprensión de la enfermedad.

A medida que progrese nuestro conocimiento de la genómica y proteómica de la enfermedad, esperamos que se pueda establecer un pronóstico precoz y diseñar un tratamiento que evite el deterioro de la MBG y el consecuente deterioro renal.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Savige J, Rana K, Tonna S, Buzza M, Dagher H, Wang YY: Thin basement membrane nephropathy. *Kidney Int* 64: 1169-1178, 2003.
2. Buzza M, Dagher H, Wang YY, Wilson D, Babon JJ, Cotton RG, Savige J: Mutations in the *COL4A4* gene in thin basement membrane disease. *Kidney Int* 63: 447-453, 2003.
3. Badenas C, Praga M, Tazón B, Heidet L, Arrondel C, Armengol A, Andrés A, Morales E, Camacho JA, Lens X, Dávila S, Mila M, Antignac C, Darnell A, Torra R: Mutations in the *COL4A4* and *COL4A3* Genes Cause Familial Benign Hematuria. *J Am Soc Nephrol* 13: 1248-1254, 2002.
4. Tiebosch AT, Frederik PM, Breda Vriesman PJ, Mooy JM, Van Rie H, Van de Wiel TW, Wolters J, Zeppenfeldt E: Thin-basement-membrane nephropathy in adults with persistent hematuria. *N Engl J Med* 320: 14-18, 1989.
5. Dische FE, Anderson VE, Keane SJ, Taube D, Bewick M, Parsons V: Incidence of thin membrane nephropathy: morphometric investigation of a population sample. *J Clin Pathol* 43: 457-460, 1990.

## R. TORRA y cols.

- Dische FE, Weston MJ, Parsons V: Abnormally thin glomerular basement membranes associated with hematuria, proteinuria or renal failure in adults. *Am J Nephrol* 5: 103-109, 1985.
- Nieuwhof CM, De Heer F, de Leeuw P, Breda Vriesman PJ: Thin GBM nephropathy: premature glomerular obsolescence is associated with hypertension and late onset renal failure. *Kidney Int* 51: 1596-1601, 1997.
- Hudson BG, Tryggvason K, Sundaramoorthy M, Neilson EG: Alport's syndrome, Goodpasture's syndrome, and type IV collagen. *N Engl J Med* 348: 2543-2556, 2003.
- Alport A: Hereditary familial congenital haemorrhagic nephritis. *Br Med J* 504-506, 1927.
- Barker DF, Hostikka SL, Zhou J, Chow LT, Oliphant AR, Gerken SC, Gregory MC, Skolnick MH, Atkin CL, Tryggvason K: Identification of mutations in the COL4A5 collagen gene in Alport syndrome. *Science* 248: 1224-1227, 1990.
- Knebelmann B, Deschenes G, Gros F, Hors MC, Grunfeld JP, Zhou J, Tryggvason K, Gubler MC, Antignac C: Substitution of arginine for glycine 325 in the collagen alpha 5 (IV) chain associated with X-linked Alport syndrome: characterization of the mutation by direct sequencing of PCR-amplified lymphoblast cDNA fragments. *Am J Hum Genet* 51: 135-142, 1992.
- Lemmink HH, Schroder CH, Monnens LA, Smeets HJ: The clinical spectrum of type IV collagen mutations. *Hum Mutat* 9: 477-499, 1997.
- Mochizuki T, Lemmink HH, Mariyama M, Antignac C, Gubler MC, Pirson Y, Verellen-Dumoulin C, Chan B, Schroder CH, Smeets HJ: Identification of mutations in the alpha 3(IV) and alpha 4(IV) collagen genes in autosomal recessive Alport syndrome. *Nat Genet* 8: 77-81, 1994.
- Jefferson JA, Lemmink HH, Hughes AE, Hill CM, Smeets HJ, Doherty CC, Maxwell AP: Autosomal dominant Alport syndrome linked to the type IV collagen alpha 3 and alpha 4 genes (COL4A3 and COL4A4). *Nephrol Dial Transplant* 12: 1595-1599, 1997.
- Van der Loop FT, Heidet L, Timmer ED, Van den Bosch BJ, Leinonen A, Antignac C, Jefferson JA, Maxwell AP, Monnens LA, Schroder CH, Smeets HJ: Autosomal dominant Alport syndrome caused by a COL4A3 splice site mutation. *Kidney Int* 58: 1870-1875, 2000.
- Boye E, Mollet G, Forestier L, Cohen-Solal L, Heidet L, Cochat P, Grunfeld JP, Palcoux JB, Gubler MC, Antignac C: Determination of the genomic structure of the COL4A4 gene and of novel mutations causing autosomal recessive Alport syndrome. *Am J Hum Genet* 63: 1329-1340, 1998.
- Grunfeld JP, Noel LH, Hafez S, Droz D: Renal prognosis in women with hereditary nephritis. *Clin Nephrol* 23: 267-271, 1985.
- Pescucci C, Mari F, Longo I, Vogiatzi P, Caselli R, Scala E, Abaterusso C, Gusmano R, Seri M, Miglietti N, Bresin E, Renieri A: Autosomal-dominant Alport syndrome: Natural history of a disease due to COL4A3 or COL4A4 gene. *Kidney Int* 65: 1598-1603, 2004.
- Boutaud A, Borza DB, Bondar O, Gunwar S, Netzer KO, Singh N, Ninomiya Y, Sado Y, Noelken ME, Hudson BG: Type IV collagen of the glomerular basement membrane. Evidence that the chain specificity of network assembly is encoded by the noncollagenous NC1 domains. *J Biol Chem* 275: 30716-30724, 2000.
- Kalluri R, Shield CF, Todd P, Hudson BG, Neilson EG: Isoform switching of type IV collagen is developmentally arrested in X-linked Alport syndrome leading to increased susceptibility of renal basement membranes to endoproteolysis. *J Clin Invest* 99: 2470-2478, 1997.
- Lemmink HH, Nillesen WN, Mochizuki T, Schroder CH, Brunner HG, Van Oost BA, Monnens LA, Smeets HJ: Benign familial hematuria due to mutation of the type IV collagen alpha4 gene. *J Clin Invest* 98: 1114-1118, 1996.
- Buzza M, Wang YY, Dagher H, Babon JJ, Cotton RG, Powell H, Dowling J, Savage J: COL4A4 mutation in thin basement membrane disease previously described in Alport syndrome. *Kidney Int* 60: 480-483, 2001.
- Tazón-Vega B., Badenas C, Ars E, Lens X, Mila M, Darnell A, Torra R: Autosomal recessive Alport's syndrome and benign familial hematuria are collagen type IV diseases. *Am J Kidney Dis* 42: 952-959, 2003.
- Longo I, Porcedda P, Mari F, Giachino D, Meloni I, Deplano C, Brusco A, Bosio M, Massella L, Lavoratti G, Roccatello D, Frasca G, Mazzucco G, Muda AO, Conti M, Fasciolo F, Arron-del C, Heidet L, Renieri A, De Marchi M: COL4A3/COL4A4 mutations: from familial hematuria to autosomal-dominant or recessive Alport syndrome. *Kidney Int* 61: 1947-1956, 2002.
- Piccini M, Casari G, Zhou J, Bruttini M, Volti SL, Ballabio A, Renieri A: Evidence for genetic heterogeneity in benign familial hematuria. *Am J Nephrol* 19: 464-467, 1999.
- Buzza M, Wilson D, Savage J: Segregation of hematuria in thin basement membrane disease with haplotypes at the loci for Alport syndrome. *Kidney Int* 59: 1670-1676, 2001.
- Wang YY, Rana K, Tonna S, Lin T, Sin L, Savage J: COL4A3 mutations and their clinical consequences in thin basement membrane nephropathy (TBMN). *Kidney Int* 65: 786-790, 2004.
- Ciccarese M, Casu D, Ki WF, Faedda R, Arvidsson S, Tonolo G, Luthman H, Satta A: Identification of a new mutation in the alpha4(IV) collagen gene in a family with autosomal dominant Alport syndrome and hypercholesterolaemia. *Nephrol Dial Transplant* 16: 2008-2012, 2001.
- Somlo S, Mundel P: Getting a foothold in nephrotic syndrome. *Nat Genet* 24: 333-335, 2000.