

La Nefrina: su rol en el riñón normal y patológico

Posible implicancia en las nefropatías diabética e hipertensiva

Patrick Wagner Grau

Hemos asistido en estos últimos años a progresos extraordinarios en la dilucidación de la naturaleza molecular de la barrera de filtración glomerular y específicamente del diafragma de hendidura de la misma. Se han descubierto nuevas proteínas, más o menos específicas, de dicho diafragma, principalmente por la caracterización de genes que han mutado en ciertas enfermedades renales hereditarias raras, como el síndrome nefrótico congénito y ciertas formas hereditarias de hialinosis segmentaria y focal. Así se identificó a la nefrina, hasta hace muy poco el único componente estructural conocido del diafragma de hendidura de la barrera de filtración.

La nefrina fue aislada por clonaje posicional del gen implicado en el síndrome nefrótico congénito de tipo finlandés (1). De modo similar, la podocina (2) y la alfa-actinina - 4 (3) han sido seguidamente identificadas como proteínas mutantes en el síndrome nefrótico congénito resistente a los córticoesteroides y a una forma hereditaria de hialinosis glomerular segmentaria y focal. Además, otra proteína CDA2AP, un péptido intracelular que interactúa con la nefrina a nivel del diafragma de hendidura, ha sido asimismo identificada después de la inactivación de este gen en el ratón por un grupo que trabajaba en la traducción de la señal en el linfocito T (4).

La caracterización de estas proteínas y el estudio de su rol en la barrera de filtración glomerular, trabajo actualmente en curso, han procurado un punto de vista completamente nuevo acerca de la naturaleza molecular de la barrera de filtración renal y de los mecanismos potencialmente implicados en el desarrollo de la proteinuria, que complica a un número importante de enfermedades renales.

La barrera de filtración glomerular

Dicha barrera (BFG) comprende las tres capas celulares de la pared capilar: la más interna, el endotelio fenestrado, la membrana basal glomerular (MBG) y la capa de células podocitarias, haciendo frente al espacio urinario. El tamaño de las fenestraciones del endotelio es de alrededor de 70-100 nm de diámetro lo que permite un contacto directo entre la sangre y la MBG.

Así, el endotelio no parece representar una barrera directa al paso de la macromoléculas. La MBG es una matriz extracelular acelular compuesta de proteínas grandes como el colágeno de tipo IV, las lamininas, el nidógeno y los proteoglicanos (5). Las complejas interacciones Inter. e intra - moleculares de estas moléculas hacen de la MBG una estructura permeable única que procura a la pared capilar cierta fuerza y cierta flexibilidad. Se ha mostrado, además, que la red proteica funciona como un filtro de las macromoléculas que dependen, a la vez, de la carga y del tamaño de las mismas (6), (7), (8). La carga aniónica selecta de la MBG ha sido atribuida a los proteoglicanos ricos en heparan - sulfato (9).

Los podocitos, que tienen sus cuerpos celulares situados en el espacio urinario, poseen pies que cubren la superficie externa de la MBG de manera totalmente característica. Así, los pies de dos podocitos adyacentes forman una red interconectada que está encastrada en la matriz de la MBG. Entre los pies de los podocitos, existe una estrecha hendidura que posee un ancho bastante constante de 40 nm. Esta hendidura contiene una membrana ultradelgada, el diafragma de hendidura, que se piensa sirve como filtro último para las macromoléculas plasmáticas (8), (10).

* Médico Nefrólogo - Internista.

A partir de estudios con marcadores, se ha propuesto que el glomérulo contiene dos filtros en serie: la MBG que es el filtro grosero que restringe el paso de las moléculas grandes y el diafragma de hendidura, que es un filtro más fino y que tiene una selectividad dependiente del tamaño, permeable únicamente a las moléculas más pequeñas que la albúmina. Rodewald y Karnouski han propuesto un modelo del diafragma de hendidura basado en estudios de microscopía electrónica de riñones de ratón y de rata (11). En este modelo, el diafragma de hendidura es una red proteica tridimensional con una estructura extraordinariamente ordenada y periódica con un tipo de puentes que forman un motivo en cierre relámpago. Se ha sugerido que el diafragma de hendidura contiene poros de 4 a 14 nm situados a ambos lados de un filamento central del cierre relámpago. Dichos poros serían lo suficientemente pequeños como para evitar el paso de las proteínas del tamaño de la albúmina a la orina.

La barrera de filtración glomerular puede ser afectada por numerosas enfermedades renales, hereditarias o adquiridas, que se traducen por proteinuria.

Las enfermedades hereditarias comportan síndromes nefróticos raros de tipo congénito (12), (13): el síndrome de Alport (14), (15), la hialinosis segmentaria y focal (3) y el síndrome de Denys - Gras (16). Las enfermedades adquiridas comportan, entre otras, las lesiones glomerulares mínimas y la glomerulopatía membranosa, que son las causas de mayor frecuencia del síndrome nefrótico tanto en el niño como en el adulto.

Además, como es bien sabido, la nefropatía diabética, complicación frecuente y severa de la diabetes mellitus, se manifiesta inicialmente con proteinuria. Los mecanismos fisiopatológicos implicados en el desarrollo de la proteinuria son aún, en buena parte, desconocidos. Sin embargo, los datos recientes acerca de las proteínas asociadas al diafragma de hendidura nos han aportado una nueva comprensión de esta estructura y de los procesos implicados en el desarrollo de la proteinuria (13), (17) (18).

LA NEFRINA

La nefrina es un componente del diafragma de hendidura recientemente identificada por clonaje posicional del gen responsable del síndrome nefrótico congénito de finlandés (CNF, NPHS1, MIM256300) (1).

Los resultados iniciales en Northern blot han mostrado una expresión del gen únicamente en el riñón y, por hibridación in situ, únicamente en los podocitos de la corteza renal. Es ésta la razón por la cual esta proteína ha sido denominada nefrina (1). Esta es una proteína transmembranal de 1241 aminoácidos que presenta analogías de estructura con el amplio grupo de receptores

de adhesión de la super familia de inmunoglobulinas. La extremidad carboxi-terminal extracelular contiene ocho módulos "inmunoglobulin-like" y un dominio de tipo fibronectina de tipo III, seguido de un paso transmembranal y de un corto dominio intracitoplasmático (fig. 1). Los dominios "inmunoglobulin-like" son de tipo C2 y se encuentran principalmente en las proteínas implicadas en interacciones células / células o células/matriz. El dominio intracelular no tiene analogía con proteínas conocidas. Contiene, sin embargo, nueve residuos tirosina que pudieran ser fosforilados después de la unión de un ligando a la nefrina. Los estudios de inmunomicroscopía electrónica han mostrado que la nefrina, se halla localizada en el diafragma de hendidura entre los pies de los podocitos (19).

En hibridación in vitro en el ratón (20), utilizando ratones invalidados para el gen de la nefrina reemplazado por el gen "reporter" β -galactosidasa (21), los estudios han mostrado que la nefrina es asimismo expresada a nivel de regiones limitadas del cerebro y del páncreas. El rol potencial de la nefrina en dichos tejidos es actualmente desconocido.

La nefrina, componente clave del diafragma de hendidura.

La localización de la nefrina en el diafragma de hendidura del riñón humano (19) ha sido confirmada en la rata y en el ratón (22), (23). Como la ausencia de nefrina y de diafragma de hendidura se asocia a proteinuria masiva, ello muestra el rol esencial de dicho diafragma en la función de filtración glomerular normal. Se ha propuesto (18), (19) un modelo hipotético en el cual las moléculas de nefrina provenientes de dos pies de podocitos adyacentes se unen cabeza con cabeza por medio de interacciones homofílicas y forman el esqueleto del diafragma de hendidura. Esta arquitectura está de acuerdo con el modelo en microscopía electrónica de Rodewald y Karnouski que han sugerido que el diafragma de hendidura es un filtro de estructura parecida a la de un cierre - relámpago (11).

El hecho que el aspecto filamentoso del diafragma de hendidura se halle completamente perdido en los riñones CNF, refuerza la idea del papel central de la nefrina en la estructura y la función del diafragma de hendidura (24). De manera análoga, los ratones invalidados para el gen de la nefrina no tienen ya diafragma de hendidura y mueren de un severo síndrome nefrótico poco después del nacimiento (21). Además, los estudios sobre la glomerulogénesis en el hombre han mostrado que el desarrollo precoz y la migración de los

complejos de unión entre los podocitos se desarrollan en forma normal aún en los riñones que no expresan la nefrina pero, sin embargo la maduración definitiva del diafragma de hendidura es claramente defectuosa (25). El rol de la nefrina es, asimismo, subrayado por las experiencias que muestran que los anticuerpos dirigidos contra la nefrina provocan una proteinuria masiva en los pacientes con CNF trasplantados que tienen severas mutaciones del gen de la nefrina (24). Esta recidiva de la nefrosis sobre el injerto se asemeja a la situación que se observa en el síndrome de Alport donde la generación de anticuerpos anti - MBG puede ser responsable de una glomerulonefritis de novo en algunos pacientes trasplantados (24).

La estructura molecular exacta del diafragma de hendidura permanece, sin embargo, aún en gran parte desconocida. Se ha mostrado que la nefrina se asocia a una proteína denominada CD2AP (4) y es posible que esta proteína citosólica sirva para anclar a la nefrina a los pies de los podocitos. Las otras interacciones extra e intra - celulares de la nefrina con moléculas estructurales del podocito son aún misteriosas. Mundel y col han mostrado la localización de la molécula de adhesión p-cadherina al diafragma de hendidura (26), pero su papel en la estructura y la función del diafragma de hendidura puede ser puesto en tela de juicio puesto que los ratones invalidados para la p-cadherina no presentan un fenotipo anormal (27).

Síndrome nefrótico congénito de tipo finlandés.

Como ha sido dicho, la nefrina ha sido identificada inicialmente como producto del gen mutado en el CNF (1). El síndrome nefrótico congénito de tipo finlandés o NPHS1, CNF, MiM: 256300, pertenece a un grupo de unas treinta (30) enfermedades hereditarias cuya frecuencia se halla considerablemente incrementada en Finlandia en relación con el resto del mundo (28). Se trata de una enfermedad recesiva que afecta a un recién nacido sobre 10.000 en Finlandia. Aún cuando la enfermedad sea más frecuente en Finlandia, se han descrito numerosos casos en otras regiones del mundo (12), (29). Alrededor de 300 casos de CNF han sido reportados, la mayor parte, en la raza caucásica aunque también en otros grupos étnicos. De modo interesante, se ha reportado recientemente una muy alta frecuencia de CNF en Pensilvania, entre los Menonitas Old Order, en el distrito de Lancaster (30). Así, en un subgrupo de Menonitas, la incidencia de MPS era de 1/500, lo que es alrededor de 20 veces más que lo observado en la misma Finlandia.

El CNF es una enfermedad rápidamente progresiva y conduce a la muerte, generalmente en los dos primeros

años de vida, pero los pacientes pueden ser tratados con trasplante renal (31). El cuadro clínico es bastante estereotipado (12), (13), (24).

La mayoría de los niños con CNF por encima del 80% son prematuros (antes de las 38 semanas) con un peso de nacimiento entre 1500 y 3500 g (24).

Sin embargo, los recién nacidos son rara vez pequeños para su edad gestacional. Es frecuente la presencia de meconio en el líquido amniótico, pero la mayoría de recién nacidos no presenta problemas pulmonares. El índice del peso de la placenta sobre el peso de nacimiento (ISP) está aumentado en un 25% en prácticamente la totalidad de los recién nacidos. La razón de ello es desconocida.

El problema médico mayor del CNF consiste en la importante pérdida de proteínas plasmáticas donde la albúmina representa el 90%. La proteinuria se inicia in útero y es detectable a partir de la primera muestra de orina. En un análisis reciente (24), el síndrome nefrótico se diagnostica en la primera semana después del nacimiento en el 82% de los pacientes en Finlandia y en los dos primeros meses, en todos los casos. Se observa siempre hematuria microscópica y valores normales de creatinina durante los primeros meses de vida. La proteinuria masiva lleva a hipogamaglobulinemia con un incrementado riesgo de infección (32) así como a una concentración disminuida de anti-trombina III y a un riesgo aumentado de complicación trombótica (12). La hiperlipidemia está generalmente presente como en los otros tipos de síndrome nefrótico (12).

Los niños con CNF no presentan otra malformación extrarrenal. Se observan a veces, no obstante, disfuncionamientos menores del SNC e hipertrofia cardíaca, especialmente durante el período nefrótico.

Falta determinar si el déficit cerebral es debido a la pérdida de función de la nefrina en el cerebro. Un pequeño subgrupo de pacientes finlandeses ha presentado también sintomatología de atetosis cuya etiología es desconocida.

En los casos típicos de CNF, el examen anatomopatológico revela riñones aumentados de tamaño en comparación con el peso del paciente (12). Las alteraciones histológicas son polimorfas y progresivas y no existen estigmas patognomónicos de la enfermedad (12). El número de glomérulos es de aproximadamente el doble de lo normal (33). Se nota, en los glomérulos, proliferación de las células mesangiales y aumento de los depósitos matriciales coloreados por el PAS y la plata (12). Las dilataciones de los túbulos proximales y, a veces, de los túbulos distales constituyen las observaciones más características. La intensidad de dichas dilataciones varía enormemente, pudiendo

afectar ocasionalmente a algunos túbulos o hallarse dispersos en toda la corteza renal. El epitelio tubular es de altura normal al inicio de la enfermedad para aplanarse y volverse atrófico en los casos avanzados. En el intersticio, es posible apreciar infiltración celular y fibrosis que se acrecientan con la edad.

Los estudios de microscopía electrónica muestran que la principal anomalía consiste en la fusión y el borramiento de los pies de los podocitos en los glomerulos (12). Ello no es específico del CNF sino que es susceptible de ser observado en numerosas enfermedades responsables de la aparición de un síndrome nefrótico. Se han estudiado, recientemente, riñones de pacientes con un síndrome nefrótico por CNF con mutaciones de tipo Fin - maior y Fin - minor, utilizando el microscopio electrónico (24). Es interesante constatar en estos riñones no sólo ausencia de nefrina sino, asimismo, falta de diafragma de hendidura entre los pies de los podocitos.

Mutación del gen de la nefrina en el CNF.

Ha sido mostrado que el CNF se debe a mutaciones del gen de la nefrina. En 1998, Kestila y col (1) reportan el clonaje posicional del gen NPHS1, mutado en los pacientes portadores de la enfermedad. Este gen, localizado en el brazo largo del cromosoma 19, se extiende sobre 26 kilobases y contiene 29 exones. Hasta este momento, han sido reportadas un total de 50 mutaciones en el gen de la nefrina en pacientes con CNF. Se encuentran mutaciones en falso sentido, mutaciones sin sentido y mutaciones en los sitios de episaje, lo mismo que inserciones y deleciones, que se observan tanto en el estado homocigoto como también en el estado heterocigoto compuesto.

En los pacientes finlandeses, se han encontrado dos mutaciones principales, denominadas Fin-mayor y Fin-menor(1).

Elas dan cuenta de más del 94% de los casos en Finlandia. Ambas mutaciones conducen a la síntesis de una proteína trunca. La mutación más frecuente, Fin-mayor, es una deleción de dos pares de bases en el exon 2 (121 del CT), que provoca un desfase del cuadro de lectura.

Ello conduce a la generación de un codon stop en el mismo exon. La mutación Fin mayor sola se encuentra en el 78% de los pacientes finlandeses (35). La otra mutación finlandesa, Fin-menor, es una mutación sin sentido en el exon 26 (R1109X), que provoca una amplia deleción en el dominio intracelular de la nefrina.

De manera general, la incidencia del CNF en las poblaciones no finlandesas es débil. Los Old Order

Mennonites de Lancaster County en Pensilvania constituyen, no obstante, una excepción. Los ancestros de esta población, que es fuertemente consanguínea, emigraron a los Estados Unidos desde Suiza a comienzos del siglo XIX.

No existe ancestro conocido en Finlandia y es probable que la mutación del gen de la nefrina en dicha población sea reciente (30). Dos mutaciones han sido identificadas en la población menonita. La primera 1481 del CN, parecer ser la mutación menonita original mientras que la segunda 3250 del G, ha sido — encontrada sólo en una familia (30). En otras poblaciones menos afectadas por el CNF, se encuentra un perfil variable de mutaciones. La mayoría de estos pacientes presenta mutaciones privadas aún cuando se hallan algunas variaciones de bases en más de un individuo. Las dos mutaciones finlandesas típicas, Fin-mayor y Fin-menor, dan cuenta únicamente de una pequeña proporción de casos. Hasta el momento las mutaciones menonitas no han sido encontradas en otras poblaciones.

Las 50 mutaciones reportadas hasta ahora son mutaciones de falso sentido y de no - sentido, que comprometen los sitios de episaje, lo mismo que deleciones e inserciones. Las mutaciones de falso sentido son las más frecuentes. Se han identificado hasta el presente 24 sustituciones de aminoácidos en la molécula de nefrina. Han sido identificadas ocho mutaciones sin sentido, incluyendo la mutación Fin-menor; de las cuales cinco mutaciones ocurren en los sitios de episaje. El resto de mutaciones son pequeñas deleciones, inserciones y dos combinaciones de inserción / deleción.

La distribución de las mutaciones del gen NPHS1 no es uniforme a lo largo del gen. Una importante proporción (37% de mutaciones) ha sido encontrada en los exones 4, 9 y 18, mientras que estos 3 exones no representan sino el 12% de la secuencia codante del gen. Varios exones (1,3,8,20,21,22,23,28 y 29) no han sido encontrados afectados por las mutaciones. Ello pudiera ser explicado, en parte, por el pequeño número de casos analizados hasta el presente. Otra explicación pudiera ser que ciertas regiones del gen son menos sensibles a las alteraciones de secuencias que otras. Por ejemplo los exones 20,23 que codan para la región situada entre la membrana plásmica y el dominio Ig - 8, que contiene la repetición de fibronectina de tipo III, no han sido hasta ahora jamás encontradas mutadas. Esto pudiera significar que la región fibronectina de tipo III no es sensible a ciertas

alteraciones. Se ha identificado un cierto polimorfismo en este dominio. Tampoco se ha encontrado mutación alguna en el exon 1 que codifica para el peptide - signal. Aún cuando no se ha hallado, hasta el momento,

ninguna mutación sin sentido ("non - sens") en los exones 28 y 29, la porción C-terminal intracelular de la nefrina debe tener una función importante puesto que las deleciones que afectan a los exones 28 y 29 provocan la enfermedad.

En varios casos de CNF, el análisis del ADN no encontró mutación alguna o sino un solo alelo ha sido hallado afectado. Una posible explicación es que las mutaciones residan en regiones reguladoras del gen, sea en los intrones sea en las regiones que flanquean las secuencias codantes. Otra explicación sería la existencia de otros genes que codifican para proteínas que interaccionan con la nefrina, como es el caso de la proteína CD2AP recientemente identificada, la ACTN4 o la podocina (2), (3), (4).

Varias variaciones de secuencias (polimorfismos) y mutaciones en falso sentido homocigotas han sido encontradas sin asociación con el CNF. Algunas de ellas no se tradujeron por cambios a nivel proteico, pero otras han sido halladas en estado homocigoto en testigos sanos o en el estado heterocigoto compuesto, en asociación con una mutación causante de la enfermedad. Hasta hoy, han sido descritos nueve polimorfismos en el gen NPHS1. Dos de estos polimorfismos han sido descritos en individuos sanos, a la vez en los estados hetero y homocigoto (34), (35).

En un reciente trabajo, Aya y col (36) han descrito un paciente CNF japonés que presenta, en estado homocigoto, tres variaciones nucleotídicas. Uno de ellos es un polimorfismo ya descrito (35). El segundo, D819V, se supone es la mutación causal en este caso, puesto que sustituye un aminoácido hidrófilo por un aminoácido hidrófobo en la proximidad de una cisteína, que es probablemente muy importante para la estructura de la proteína (36). La tercera variación observada en este paciente, E447K, es probablemente un polimorfismo neutro.

Tryggvason y col, han identificado seis polimorfismos suplementarios (34). Cinco de ellos no cambian la secuencia de la proteína y no debieran, por tanto, afectar la estructura o la función de la nefrina. En un caso, se ha identificado la sustitución de una treonina por una isoleucina, T2951. Esta mutación ha sido hallada en la madre de un paciente portador de CNF. Ya que la mutación no está en el mismo cromosoma que el que transmite la enfermedad al niño, y puesto que la madre no presenta ningún fenotipo, es posible concluir que se trata de un polimorfismo neutro.

El síndrome nefrótico congénito de tipo finlandés es una enfermedad severa, habitualmente letal antes del segundo año de vida. La única opción terapéutica es el trasplante renal con todas las circunstancias aleatorias inherentes

a esta terapéutica; la necesidad de encontrar un donante HLA compatible, el riesgo de rechazo y de infección. Para muchas familias afectadas por CNF, la única posibilidad de tener niños sanos reside en el diagnóstico prenatal.

Antes del clonaje posicional del gen de la nefrina, el diagnóstico prenatal en las familias afectadas, reposaba en la determinación de la tasa de α -fetoproteína (AFP) en el líquido amniótico (12). Ello no es, sin embargo, específico del CNF. Diversos otros estados patológicos pueden llevar a una elevación de la tasa de AFP durante el embarazo, especialmente los defectos de cierre del tubo neural y de la pared abdominal. Además, la concentración de AFP está elevada en el feto que porta un solo alelo mutado, y aún si dicha concentración disminuye posteriormente durante el embarazo, ello puede llevar a falsos positivos. Por todas estas razones, la posibilidad de un test que repose en el análisis del ADN resulta de gran importancia. El descubrimiento del gen NPHS1 hace ahora posible el desarrollo de un test preciso para el diagnóstico de CNF. Ello puede ser efectuado realizando primero un análisis de haplotipos y, luego, un secuenciamiento directo del ADN (1), (35), (37).

Sin embargo, sobre la base de diversas experiencias recientes (34), se recomienda el secuenciamiento directo de todos los exones y de la región promotora del gen como método de elección.

Una de las limitaciones del diagnóstico basado en el análisis del ADN consiste en el gran número de mutaciones en falso sentido que ocurre en el gen NPHS1. En la mayoría de los casos, cuando la variación nucleotídica corresponde realmente a un polimorfismo o a una mutación causante de la enfermedad, el riesgo de falso positivo es tanto mayor cuanto que no existe un criterio diagnóstico absolutamente fiable en estos pacientes.

Alteración de la nefrina en las enfermedades renales adquiridas.

Diversos grupos se han interesado en la expresión de la nefrina en el riñón de pacientes portadores de nefropatía con lesiones glomerulares mínimas y de glomerulopatía membranosa, que constituyen las causas más frecuentes del síndrome nefrótico tanto en el niño como en el adulto. En los pacientes con síndrome nefrótico con lesiones glomerulares mínimas, la expresión de la nefrina cambia de un aspecto lineal a lo largo de la MBG a un aspecto granular y pierde ella (la nefrina) su orientación hacia la MBG (38). Los estudios con microscopía electrónica han mostrado que el grado de granulación corresponde al borramiento de los pedicelos. Además, el estudio del diafragma de hendidura en inmunoelectrónica ha mostrado un reducido número de moléculas de nefrina

en las zonas de borramiento podocitario mientras que la cantidad de nefrina parecía ser normal en las regiones en las que el diafragma de hendidura no está modificado. Estos resultados muestran que la expresión de la nefrina se halla alterada en la nefropatía con lesiones glomerulares mínimas y sugieren que la nefrina es esencial para la formación del diafragma de hendidura en las formas de síndrome nefrótico diferentes del CNF.

Estudios en curso acerca de la glomerulopatía membranosa indican asimismo la existencia de alteraciones de expresión de la nefrina en el diafragma de hendidura.

El conjunto de estos resultados sugiere que la nefrina pudiese hallarse implicada en forma más general en los procesos patológicos que llevan a la proteinuria. Ello subraya la importancia del diafragma de hendidura como barrera de filtración final para las macromoléculas en el glomérulo renal.

CONCLUSIÓN:

El descubrimiento de la nefrina en 1998, seguido poco después por la identificación de la proteína CDA2AP y de otra proteína, la podocina, respectivamente en 1999 y en el 2000, ha tenido un gran impacto en fisiología renal y en nefrología en general. Estos descubrimientos no han dilucidado sólo la naturaleza molecular, hasta ahí, misteriosa del diafragma de hendidura sino que han echado nuevas luces acerca del o de los mecanismo(s) de desarrollo de la proteinuria. El rol del diafragma de hendidura en el proceso de filtración glomerular ha sido objeto de controversias desde hace dos décadas, pero los recientes trabajos sobre la nefrina, la podocina y el CDA2AP han demostrado su crucial rol en el proceso de filtración. La identificación del gen de la nefrina permite ahora un diagnóstico confiable del CNF pero, permite asimismo, entrever futuras esperanzas de terapia génica. Trabajos recientes sugieren también que la nefrina, y quizás igualmente otras proteínas asociadas al diafragma de hendidura, están implicadas en los síndromes nefróticos adquiridos y, especialmente, en la nefropatía diabética cuyo enorme impacto epidemiológico es bien conocido. Se concibe, asimismo, su rol en la patogénesis de la hipertensión de origen renal (nefroangioesclerosis).

Uno de los grandes desafíos que se nos presenta para el futuro será el de comprender mejor los mecanismos que llevan al desarrollo de esta enfermedad con el fin de emprender nuevas vías terapéuticas para prevenirlos.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

1. KESTILA M, LENKKERI U, MANNIKKO M. ET AL. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein – nephrin – is mutated in congenital nephrotic syndrome. *Mol Cell*, 1998; 1: 575-582.
2. BOUTE N, GRIBOUVAL O, ROSELLI S ET AL. NPHS2, encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephritic syndrome. *Nat Genet*, 2000, 24: 349-354.
3. KAPLAN JM, KIM SH, NORTH KN ET AL. Mutations in ACTN4, encoding alpha-actinin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genet*, 2000; 24:251-256.
4. SHIH NY, LIJ, KARPITSKII V ET AL. Congenital nephritic syndrome in mice lacking CD2-associated protein. *Science*, 1999; 286: 312-315.
5. HUDSON BG, REEDERS ST, TRYGGVASON K. Type IV collagen: Structure, gene organization, and role in human diseases. Molecular basis of goodpasture and Alport syndromes and diffuse leiomyomatosis. *J. Biol Chem*, 1993; 268:26033-26036.
6. BRENNER BM, HOSTETTER TH, JUMES, HD. Molecular basis of proteinuria of glomerular origin, *New Engl J Med*, 1978; 298: 826-833.
7. CAULFIELD JP, FARQUHAR MG. Loss of anionic sites from the glomerular basement membrane aminonucleoside nephrosis. *Lab Invest*. 1978; 39: 5050-512.
8. KANWAR YS, LIU ZZ, KAHIHARA N ET AL. Current status of the structural and functional basis of glomerular filtration and proteinuria. *Semin Nephrol*, 1991; 11: 390-413.
9. KANWAR YS, FARQUHAR MG, Presence of heparan sulfate in the glomerular basement membrane. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1979; 76: 1303-1307.
10. KARNOVSKY MJ, AINSWORTH SK. The structural basis of glomerular filtration. *Adv Nephrol*, 1972, 2: 35-60.
11. RODEWALD R, KARNOVSKY MJ. Porous substructure of the glomerular slit diaphragm in the rat and mouse. *J Cell Biol*, 1974; 60: 423-433.

12. HOLMBERG JALANKO H, TRYGGVASON K ET AL. Congenital Nephrotic Syndrome. In: Barratt TM, Avner ED, Harmon WE (ed) *Pediatric Nephrology* (4th ed), Lippincott, Williams & Wilkins, Baltimore, 1999: 765-777.
13. KHOSHNOODI J, TRYGGVASON K. Congenital nephrotic syndromes. *Curr Opin Genes Develop*, 2001, (in press).
14. ALPORT AC. Hereditary familial congenital haemorrhagic nephritis, *Br Med J*, 1927; 1: 504-506.
15. BARKER DF, HOSTIKKA SL, ZHOU J, ET AL. Identification of mutations in the COL4A5 collagen gene in Alport syndrome. *Science*, 1990; 248: 1224-1227.
16. PELLETIER J, BRUENING W, KASHTAN CE ET AL. Germline mutations in the Wilms' tumor suppressor gene are associated with abnormal urogenital development in Denys-Drash syndrome. *Cell*, 1991; 67: 437-447.
17. KHOSHNOODI J, TRYGGVASON K. Unraveling the molecular make-up of the glomerular podocyte slit diaphragm. *Exp. Nephrol*. 2000. (in press).
18. TRYGGVASON K. Unraveling the mechanisms of glomerular ultrafiltration: nephrin, a key component of the slit diaphragm. *J Am Soc Nephrol*, 1999; 10: 2440-2445.
19. RUOTSLAINEN V, LJUNGBERG P., WARTIOVAARA J ET AL. Nephrin is specifically located at the slit diaphragm of glomerular podocytes. *Proc Nat Acad Sci USA*, 1999, 96: 7962-796.
20. PUTAALA H, SAINIO K, SARIOLA H ET AL. Primary structure of mouse and rat nephrin cDNA and structure and expression of the mouse gene. *J Am Soc Nephrol*, 2000; 11: 991-1001.
21. PUTAALA H, SOININEN R, KILPELAINEN P ET AL. The murine nephrin gene is specifically expressed in kidney, brain and pancreas. Inactivation of the gene leads to massive proteinuria and neonatal death. *Hum Mol Genet*, 2001; 21:1-8.
22. HOLTHOFER H, AHOLA H, SOLIN ML ET AL. Nephrin localizes at the podocyte filtration slit area and is characteristically spliced in the human kidney. *Am J Pathol*, 1999; 155: 1681-1687.
23. HOLZMAN LB, ST JOHN PL, KOVARI IA ET AL. Nephrin localizes to the slit pore of the glomerular epithelial cell. *Kidney Int*. 1999; 56: 1481-1491.
24. PATRAKKA J, KESTILA M, WARTIOVAARA J ET AL. Congenital nephrotic syndrome (NPHS1): features resulting from different mutations in Finnish. *Kidney Int*, 2000; 58: 972-980.
25. RUOTSLAINEN V, PATRAKKA J, TISSARI P ET AL. Role of nephrin in cell junction formation in human nephrogenesis. *Am J Pathol*, 2000; 157: 1905-1916.
26. REISER J, KRIZ W, KRETZLER M ET AL. The glomerular slit diaphragm is a modified adherens junction. *J Am Soc Nephrol*, 2000; 11:1-8.
27. RADICE GL, FERREIRA - CORNWELL MC, ROBINSON SD ET AL. Precocious mammary gland development in P-cadherin-deficient mice. *J Cell Biol*, 1997, 139: 1025 - 1032.
28. DE LA CHAPPELLI A. Disease gene mapping in isolated human populations: the example of Finland. *J Med Genet*, 1993; 30: 857-865.
29. NORIO R. Heredity on the congenital nephrotic syndrome. *Ann Paediatr Fenn*, 1966 (suppl 27): 1-94.
30. BOLK S, PUFFEBERGER EG, HUDSON J ET AL. Elevated frequency and allelic heterogeneity of Congenital Nephrotic Syndrome, Finnish Type, in the Old Mennonites. *Am J Hum Genet*, 1999; 65: 1785-1790.
31. HOLMBERG C, ANTIKAINEN M, RONNHOLM K ET AL. Management of congenital nephrotic syndrome of the Finnish type. *Pediatr Nephrol*, 1995; 9: 87-93.
32. LJUNGBERG P, HOLMBERG C, Jalanko H. Infections in infants with congenital nephrosis of the Finnish type. *Pediatr Nephrol*, 1997; 11: 148 - 152.
33. TRYGGVASON K, KOUVALAINEN K. Number of nephrons in normal human kidneys and kidneys of patients with congenital nephrotic syndrome. A study using a sieving method for counting glomeruli: *Nephron*, 1975; 62-68.
34. BELTCHEVA O, MARTIN P, LENKKERI U, TRYGGVASON K. Mutation spectrum in the nephrin gene (NPHS1) in congenital nephrotic syndrome. *Hum Mutat*, 2001 (in press).
35. LENKKERI U, MANNIKKO M, MCCREADY P ET AL. Structure of the gene for congenital nephrotic syndrome of the Finnish type (NPHS1) and characterization of mutations. *Am J Hum Genet*, 1999; 64: 51-61.
36. AYA K, TANAKA H, SINO Y. Novel mutation in the nephrin gene of a Japanese patient with congenital nephrotic syndrome of the Finnish type. *Kidney Int*. 2000; 57: 401-404.
37. MANNIKKO M, KESTILA M, LENKKERI U ET AL. Improved prenatal diagnosis of the congenital nephrotic syndrome of the Finnish type based on DNA analysis. *Kidney Int*, 1997; 51: 868-872.
38. WERNERSON A, DUNER F, PETTERSSON E ET AL. Reduced nephrin expressions in glomeruli of patients with minimal change nephrotic syndrome. Submitted for publication.