

**Podocitos en orina: ¿qué hemos encontrado hasta ahora?**

**Podocytes in urine: what have we found so far?**

# Podocitos en orina: ¿qué hemos encontrado hasta ahora?

Almudena G Carrasco<sup>1</sup>, Gema Medina-Gómez<sup>1\*</sup>, Adriana Izquierdo-Lahuerta<sup>1\*</sup>

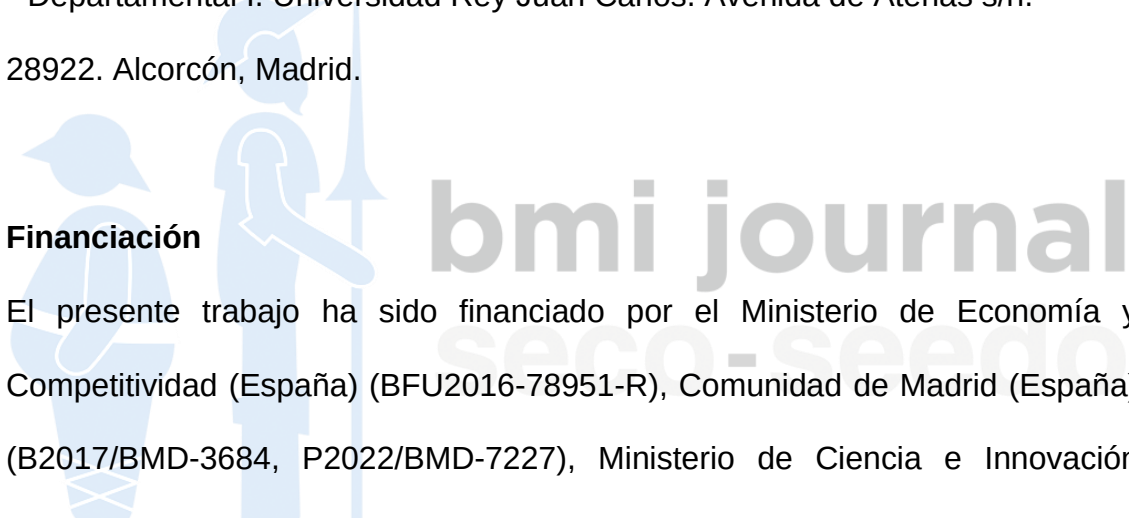
<sup>1</sup> Área de Bioquímica y Biología Molecular. Departamento de Ciencias Básicas de la Salud. Universidad Rey Juan Carlos. Alcorcón, España.

\* Departamental I. Universidad Rey Juan Carlos. Avenida de Atenas s/n. 28922. Alcorcón, Madrid.

## Financiación

El presente trabajo ha sido financiado por el Ministerio de Economía y Competitividad (España) (BFU2016-78951-R), Comunidad de Madrid (España) (B2017/BMD-3684, P2022/BMD-7227), Ministerio de Ciencia e Innovación (España) (PID2020-116875RB-I00, PDC2021-121871-I00) y la Comunidad de Madrid/ Universidad Rey Juan Carlos (Proyecto I + D jóvenes doctores.

Ref. A484 – EXOKID).



## Podocitos en orina: ¿qué hemos encontrado hasta ahora?

### Resumen

La enfermedad renal crónica representa actualmente una de las principales causas de muerte a nivel mundial, siendo la obesidad un factor de riesgo para el desarrollo de la misma. La proteinuria, que se presenta cuando el daño renal ya ha sido establecido, es uno de los parámetros por excelencia para diagnosticar la enfermedad renal. Es por ello, que la determinación de un método diagnóstico del daño renal temprano es fundamental en el manejo y para la prevención del establecimiento de la enfermedad renal. Por este motivo, la detección de los podocitos, células clave en la barrera de filtración glomerular, en la orina (o podocituria) constituye uno de los principales retos. Hasta ahora se han llevado a cabo varios intentos que buscaban determinar la presencia de podocitos completos, de alguno de sus componentes o estructuras derivadas de ellos en la orina. En el presente trabajo hemos recopilado exhaustivamente la información publicada en este sentido, con objeto de tener una visión integral sobre el estado actual del tema.

**Palabras clave:** podocito, podocituria, daño renal, orina

## Introducción

Actualmente, la enfermedad renal crónica constituye una de las principales causas de muerte a nivel mundial. Uno de los factores que compromete la salud renal es la obesidad, ya que los riñones de un paciente que presenta esta enfermedad experimentan una sobrecarga de trabajo debido a la condición de obesidad<sup>(1)</sup>.

La obesidad tiene asociadas otras comorbilidades, tales como la hipertensión, que es observable también a nivel glomerular dentro del riñón. En estos pacientes, se produce la desregulación del Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (SRAA) debido a que el tejido adiposo al expandirse es capaz de sintetizar y liberar todos los factores implicados en la alteración de este sistema y, por tanto, elevar la presión sanguínea. Esto, unido a una pobre gestión del sodio, a un aumento en la dilatación de la arteriola aferente glomerular y a una vasoconstricción de la arteriola eferente glomerular conduce, irremediablemente, al desarrollo de hipertensión glomerular y, con ello, a un aumento del tamaño glomerular o glomerulomegalia, descrita en los pacientes con obesidad<sup>(2)</sup>.

Este aumento en la presión intraglomerular genera un estrés mecánico sobre los podocitos. Los podocitos son células altamente especializadas que forman parte de la barrera de filtración glomerular. Se localizan abrazando los capilares sanguíneos glomerulares a través de unas protrusiones conocidas como procesos podocitarios, los cuales interdigitan con los procesos podocitarios de los podocitos vecinos (diafragma de filtración glomerular) formando un filtro

selectivo a las moléculas presentes en la circulación sanguínea. Estos procesos podocitarios nunca entran en contacto directo en un estado fisiológico, sino que su comunicación se realiza mediante proteínas de la hendidura de filtración, tales como la podocina y la nefrina.

Cuando el estrés mecánico derivado de la glomerulomegalia y la hipertensión intraglomerular aumenta, los podocitos reaccionan inicialmente hipertrofiándose para cubrir el aumento de área desnuda en los vasos sanguíneos<sup>(2)</sup>. El esfuerzo realizado para activar este mecanismo compensatorio conlleva la muerte del podocito. Esta pérdida constante de podocitos deja regiones desprovistas de podocitos en el glomérulo lo que compromete la integridad de la barrera de filtración glomerular. De esta forma, moléculas que hasta ese momento habían sido retenidas en el plasma sanguíneo, como la albúmina y otras proteínas, se escapan al filtrado primario y, posteriormente, a la orina. Este daño renal, de continuar su progresión, eventualmente conducirá a la enfermedad renal crónica del riñón y posteriormente a la insuficiencia renal terminal que obligará al paciente a ser sometido a un trasplante o tratamiento renal sustitutorio.

Por esta razón, la detección temprana del daño renal, cuando aún se están perdiendo podocitos (podocituria) en lugar de proteínas (proteinuria), se convierte en un aspecto de vital importancia para evitar el avance irreversible de la enfermedad renal. Este es uno de los principales objetivos de la comunidad dedicada al estudio de la nefrología. Hasta la fecha, se han realizado varios intentos de caracterizar la podocituria en las distintas patologías renales, los cuales serán resumidos a continuación.

## Material y método

Se realizó una búsqueda bibliográfica en la base de datos PubMed a través de los criterios de búsqueda “Podocyte AND Urine” y “Podocyturia”. Se descartaron todos aquellos artículos que no tuvieran relación con el diagnóstico de la enfermedad renal temprana, la obesidad ni con sus comorbilidades.

## Resultados

### Detección de Podocitos completos

La detección de podocitos completos en orina, viables o muertos, ha sido uno de los principales objetivos de los investigadores en el campo de la nefrología. Hasta la fecha, se han realizado varios intentos para su detección. Se han realizado estudios mediante la técnica de *cytospin* inmunofluorescencia, que muestran que las personas sanas excretan menos de 400 podocitos/mg de creatinina en orina. Por el contrario, pacientes con afecciones renales pueden presentar una excreción urinaria mayor, cuando se seleccionan mediante el marcador de podocalixina. Desafortunadamente, la podocalixina no es una proteína exclusiva de podocitos ya que es expresada por otros tipos celulares, tanto fuera como dentro del glomérulo <sup>(5)</sup>. No obstante, la podocalixina se ha usado para la detección de podocitos en orina de pacientes con obesidad, sola o en combinación con otras proteínas que no eran marcadores de podocitos<sup>(3)</sup>. El marcaje con podocalixina también desveló un aumento de células marcadas

a través de esta proteína en la orina de pacientes con patología renal, así como en la orina de controles sanos<sup>(4)</sup>.

Además, no sólo la detección del podocito completo en la orina es crucial para el diagnóstico temprano de la enfermedad renal, sino también su caracterización. Por esta razón, se ha intentado identificar la presencia de podocitos binucleados como indicador de daño glomerular<sup>(5,6)</sup>. La identificación de podocitos binucleados se ha realizado tanto en biopsias renales<sup>(6)</sup>, como en muestras de orina, utilizando un marcaje fluorescente y observación microscópica<sup>(5)</sup>.

En todos los casos anteriormente citados, la corrección de los datos de podocituria se ha normalizado a través de los parámetros tradicionalmente utilizados para tal efecto, como los miligramos de creatinina en orina<sup>(4)</sup> o el número total de podocitos en 24 horas<sup>(5)</sup>.

Nuestro grupo ha contribuido a la detección de la podocituria mediante el establecimiento de un protocolo de detección de podocitos binucleados en la orina de pacientes con obesidad y sin enfermedad renal. Este protocolo se ha llevado a cabo mediante la detección de podocitos marcados con un anticuerpo anti-nefrina, marcador específico de podocitos, y anti-lamina A, proteína de la membrana nuclear y que permite la detección y clasificación de podocitos binucleados grandes y pequeños mediante citometría de flujo. Asimismo, la corrección de los datos que planteamos en este trabajo, es novedosa, ya que se realiza con el número total de células excretadas en la orina, y no a través

de factores como el volumen de orina o los miligramos de creatinina excretados en la misma<sup>(7)</sup>.

### Detección de Proteínas podocitarias

El marcaje y la detección de proteínas específicas de podocitos, tales como la nefrina, también se ha identificado en muestras de en la orina, fenómeno al que se denomina nefrinuria<sup>(8)</sup>. La presencia de nefrina fue detectada en la orina de todos los pacientes con nefropatía diabética que presentaban albuminuria, y en el 54% de aquellos que no presentaban albuminuria<sup>(8)</sup>. En este estudio, los niveles de nefrina parecieron correlacionarse de forma directa con los de albuminuria y de manera inversa, con la función renal<sup>(8)</sup>. Así mismo, en este mismo estudio, la detección de podocalixina en pacientes con nefropatía diabética, precedió a la aparición de microalbuminuria y se correlacionó de forma directa con los niveles de HbA1c<sup>(8)</sup>.

### ARN mensajero y microARNs urinarios específicos de podocitos

Otra de las aproximaciones implementadas hasta la fecha para la detección de podocitos o sus componentes en la orina, se ha basado en el ARN mensajero (ARNm) extraído a partir del sedimento tras la centrifugación de las muestras de orina. Esta técnica ha planteado ciertas ventajas ya que es fácilmente cuantificable, sensible y específica, al mismo tiempo que permite medir la expresión de varios marcadores al mismo tiempo, mediante RT-PCR (del inglés *real-time polymerase chain reaction*)<sup>(9)</sup>.



De esta manera, se ha demostrado que los niveles del ARNm de la nefrina, por ejemplo, muestran una correlación directa con el recuento de podocitos en la orina<sup>(8)</sup>. Los ARNm relacionados con podocitos muestran un incremento significativo de 79 veces en los pacientes con glomerulopatía, que muestran una reducción del 50% en la función renal<sup>(9)</sup>. Además, se ha observado que el ARNm de la nefrina disminuye respecto al de la podocina en un modelo de daño glomerular progresivo, y el ratio entre el ARNm de la podocina y el de la nefrina se correlaciona de manera directa con la hipertensión y con la progresión del daño renal observada mediante técnicas histológicas<sup>(8)</sup>.

De forma similar, se pueden cuantificar por RT-PCR los microARNs (miARNs) presentes en la orina. Aunque aparentemente los podocitos solo contribuyen de forma minoritaria al conjunto total de los miARNs presentes en orina y por lo tanto, los cambios detectados en estos miARNs pueden ser debidos a alteraciones en otros tipos celulares renales<sup>(10)</sup>.

#### *Fragmentos derivados de los podocitos*

Las células renales constituyentes de diferentes segmentos de la nefrona, incluyendo los podocitos, son capaces de liberar vesículas extracelulares, con contenido de la membrana apical o intracelular<sup>(8)</sup>. Los investigadores de este estudio utilizaron de nuevo la podocalixina para la detección de estas vesículas procedentes de podocitos, tanto en biopsias renales como en muestras de orina y observaron que los niveles se ven aumentados en modelos murinos de diabetes o en condiciones de alta glucosa<sup>(8)</sup>. En el caso de los podocitos, las vesículas extracelulares, siempre detectadas a partir del marcaje con

podocalixina, mediante microscopia electrónica de transmisión o bien por centrifugación de la orina y posterior citometría de flujo, parecen proceder de la membrana apical<sup>(11)</sup> o de las microvellosidades<sup>(12)</sup>.

## Discusión

Los podocitos son células altamente diferenciadas que forman parte de la barrera de filtración renal. Cuando estos podocitos se desprenden del glomérulo, el filtro selectivo se rompe y se escapan a la orina moléculas que deberían quedar retenidas en la sangre, como las proteínas. La proteinuria constituye, por tanto, uno de los parámetros por excelencia en el diagnóstico del daño renal, pero en muchos casos cuando se detecta la presencia de proteinuria significa que ya hemos llegado tarde para ese paciente y que el avance de la enfermedad en el tiempo va a ser progresivo e irreversible. Es por ello, que la detección de la pérdida podocitaria a través de la orina constituye una de las principales metas en el diagnóstico del daño renal temprano.

Para ello, se han realizado varios intentos para poder determinar la presencia de podocitos o de sus componentes en orina. De esta forma, la detección tanto de podocitos completos como de vesículas excretadas por los mismos, se ha llevado a cabo fundamentalmente mediante el marcaje de la podocalixina<sup>(3,4,8,11,12)</sup>. Este tipo de aproximaciones plantea el problema de que la podocalixina es una sialoproteína presente además de en podocitos, en otros tipos celulares, incluso dentro del glomérulo, por lo que la identificación de

podocitos mediante podocalixina no garantiza es muy específica para este tipo celular<sup>(8)</sup>.

La podocituria, a pesar de estar asociada fundamentalmente a pacientes con daño glomerular, se ha observado también en sujetos sanos<sup>(4,5)</sup>. Existen estudios que extrapolan los valores de podocituria en sujetos sanos a partir del recuento de podocitos en la orina y mediante el conteo de estas células en campos en el microscopio óptico de forma puntual. Esta imprecisión hace que sea necesario seguir trabajando para determinar un valor fiable de podocituria en sujetos sanos.

Además, la determinación de la concentración de parámetros relacionados con los podocitos (podocituria, pérdida de proteínas o elementos propios de podocitos) ha sido difícil debido a la confusión que se ha generado al normalizar estos parámetros a través del volumen de orina de 24 horas<sup>(8)</sup>, ya que éste puede verse alterado por otros factores<sup>(13)</sup>.

Por otra parte, se han realizado otras aproximaciones mediante la detección de proteínas o ARNm relacionados con podocitos<sup>(8,9)</sup>. Se ha observado que estas moléculas podrían proceder de vesículas extracelulares o fragmentos de los podocitos, y no necesariamente ser testigos de la presencia de podocitos completos en orina<sup>(8,9)</sup>.

Aunque se han realizado numerosos intentos de establecer técnicas adecuadas y fiables de detección de podocituria adecuadas a las distintas enfermedades renales, los pacientes con obesidad aún carecen de una caracterización exhaustiva. Hasta ahora, existen tres estudios han puesto de

manifiesto la pérdida de podocitos en pacientes con obesidad, mediante el marcaje de podocalixina<sup>(3)</sup>, mediante ARNm<sup>(14)</sup> y el que parece más fiable y prometedor, el que utiliza un doble marcaje de nefrina y Lamina A y que corrige los valores obtenidos mediante el recuento de células totales <sup>(7)</sup>. Con estas premisas parece que todo apunta a que la podocituria puede ser un proceso que afecte a los pacientes con obesidad, aunque se requiere una mayor cantidad de ensayos con marcadores específicos de podocitos y aumentar la cohorte de pacientes para obtener una mejor comprensión en este grupo de población.

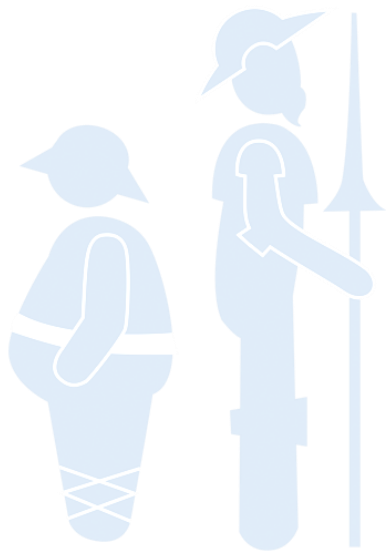
### **Conclusiones**

La podocituria constituye un futuro esperanzador en la determinación temprana del daño renal. Sin embargo, son muchas las patologías renales que deben ser abordadas, incluida la obesidad. La necesidad de un protocolo para la determinación de la podocituria basados en marcadores específicos de podocitos y la determinación de podocitos excretados por pacientes sanos sigue siendo un objetivo relevante en la lucha contra las patologías renales.

## **Bibliografía**

1. Snyder S, Turner GA, Turner A. Obesity-related Kidney Disease. Vol. 41, Primary Care - Clinics in Office Practice. 2014. p. 875–93.
2. D'Agati VD, Chagnac A, De Vries APJ, Levi M, Porrini E, Herman-Edelstein M, et al. Obesity-related glomerulopathy: Clinical and pathologic characteristics and pathogenesis. Vol. 12, Nature Reviews Nephrology. 2016. p. 453–71.
3. Suwanpen C, Nouanthong P, Jaruvongvanich V, Pongpirul K, Pongpirul WA, Leelahavanichkul A, et al. Urinary podocalyxin, the novel biomarker for detecting early renal change in obesity. J Nephrol. 2016;29(1):37–44.
4. Vogelmann SUS, Nelson WJ, Myers BD, Lemley K V. Urinary excretion of viable podocytes in health and renal disease. American Journal of Physiology-Renal Physiology [Internet]. 2003;285(1):F40-48. Available from: <http://www.ajprenal.org>
5. Larsen CP, Messias NC, Walker PD. B7-1 immunostaining in proteinuric kidney disease. Vol. 64, American Journal of Kidney Diseases. W.B. Saunders; 2014. p. 1001–3.

6. Mühldorfer J, Pfister E, Büttner-Herold M, Klewer M, Amann K, Daniel C. Binucleation of podocytes is uniformly accompanied by foot processes widening in renal disease. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2018 May 1;33(5):796–803.
7. Carrasco AG, Izquierdo-Lahuerta A, de Pablos IG, Vila-Bedmar R, Martín-Taboada M, Porrini E, et al. Detection of binucleated nephrin-marked podocytes by flow cytometry in the urine of patients with obesity. *Journal of Nephrology*. Springer Science and Business Media Deutschland GmbH; 2023.
8. Zeng L, Szeto CC. Urinary podocyte markers in kidney diseases. Vol. 523, *Clinica Chimica Acta*. Elsevier B.V.; 2021. p. 315–24.
9. Sir Elkhatim R, Li JYZ, Yong TY, Gleadle JM. Dipping your feet in the water: Podocytes in urine. *Expert Rev Mol Diagn*. 2014;14(4):423–37.
10. Szeto CC, Ching-Ha KB, Ka-Bik L, Mac-Moune LF, Cheung-Lung CP, Gang W, et al. Micro-RNA Expression in the Urinary Sediment of Patients with Chronic Kidney Diseases. *Dis Markers*. 2012;33(3):137–44.
11. Hara M, Yanagihara T, Kihara I, Higashi K, Fujimoto K, Kajita T. Apical cell membranes are shed into urine from injured podocytes: A novel phenomenon of podocyte injury. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2005;16(2):408–16.
12. Hara M, Yanagihara T, Hirayama Y, Ogasawara S, Kurosawa H, Sekine S, et al. Podocyte membrane vesicles in urine originate from tip vesiculation of podocyte microvilli. *Hum Pathol [Internet]*. 2010;41(9):1265–75. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.humpath.2010.02.004>
13. Schoen T, Blum J, Paccaud F, Burnier M, Bochud M, Conen D. Factors associated with 24-hour urinary volume: The Swiss salt survey. Vol. 14, *BMC Nephrology*. 2013.
14. Pereira SV, Dos Santos M, Rodrigues PG, Do Nascimento JF, Timm JRT, Zancan R, et al. Increased urine podocyte-associated messenger RNAs in severe obesity are evidence of podocyte injury. *Obesity*. 2015 Aug 1;23(8):1643–9.



**bmi journal**  
**seco-seedo**