

Podonet
Consortio Clinico, Genetico y Experimental para
las Enfermedades Hereditarias del Podocito.

Registro Clinico y del Sindrome Nefrotico Esteroide Resistente y Exploracion Genetica
del Sindrome Nefrotico Esteroide Resistente Familiar / Sindromatico

Investigador Principal

Prof. Dr. med. Franz Schaefer
Division de Nefrologia Pediatrica
Centro de Medicina para los ninos y adolescentes.
Hospital Universitario de Heidelberg
Im Neuenheimer Feld 430
69120 Heidelberg, Alemania
Telefono +49-6221-56-2349
Fax +49-6221-56-5166
franz.schaefer@med.uni-heidelberg.de

Investigador local Medellin (Colombia):

Doctor Juan Jose Vanegas.
Servicio de Nefrologia Pediatrica.
Hospital Pablo Tobon Uribe.
Telefono 57 (4) 4459000
Direccion: calle 78b Nro 69-240 Medellin, Antioquia, Colombia.

Co-investigadores

Dr Lina Maria Serna Higueta
Residente de Pediatria
Universidad Pontificia Bolivariana
Medellin-Antioquia

Guillermo
Fellow Nefrologia Pediatrica
Unviersidad de Antioquia.

Laura
Fellow Nefrologia Pediatrica
Universidad de Antioquia

Residente de Pediatria
Universidad de Antioquia.

RESUMEN

El síndrome nefrótico cortico resistente es una rara pero importante y severa condición clínica. Es observada en aproximadamente 15-20% de los niños con síndrome nefrótico idiopático. Donde hasta el 50% de los pacientes con intensiva inmunosupresión pueden eventualmente entrar en remisión y prevenir las secuelas a largo plazo, sin embargo, un grupo grande de pacientes parece ser causado por anomalías genéticas. La forma hereditaria del síndrome nefrótico no responden a ninguna terapia inmunosupresiva y progresan rápidamente a falla renal terminal. Los pacientes con una causa genética de síndrome nefrótico esteroide resistente pueden recibir terapia inmunosupresiva y no mostrar recurrencia de la enfermedad después del trasplante renal. Sin embargo los genes identificados hasta la fecha explican menos de la mitad de los casos de síndrome nefrótico esteroide resistente que no responden a ningún tratamiento inmunosupresivo.

El proyecto PodoNet establecerá un registro internacional para Síndrome Nefrótico Esteroide Resistente. Tiene como objetivo explorar los datos demográficos de las formas genéticas e inmunológicas conocidas del síndrome nefrótico esteroide resistente y evaluar su correlación genotipo-fenotipo. Además, nosotros esperamos mejorar el manejo clínico y desarrollar nuevas estrategias terapéuticas a través del análisis prospectivo de los resultados alcanzados en los diferentes protocolos de tratamiento. Finalmente, nosotros buscaremos nuevos marcadores genéticos asociados con el síndrome nefrótico esteroide resistente.

La participación en el registro PodoNet incluirá la recolección por pseudónimos de los datos clínicos cada 6 meses, la recolección de muestras de sangre y orina cada 12 meses y el análisis de DNA una vez.

CONTENIDO

1. Contenido.
2. Objetivos del estudio.
3. Diseño del estudio.
4. Criterios de inclusion.
5. Criterios de exclusion.
6. Metodologia.
7. Retiro del estudio.
8. Estadísticas.
9. Aspectos éticos.
10. Protección de los datos.
11. Referencias.
12. Apendices
 - a. Justificación del proyecto y adaptación a nuestro país.
 - b. Consentimientos informados para los padres, niños y adolescentes.
 - c. Carta del comité de ética de Heidelberg.
 - d. Hojas de vida de los investigadores.
 - e. Proyecto original en inglés.

1. JUSTIFICACION

El síndrome nefrótico idiopático es una severa condición clínica predominantemente observada en niños la cual es caracterizada por pérdida de la selectividad glomerular y en consecuencia pérdida masiva de proteínas en la orina y severas alteraciones metabolismo proteico, metabolismo lipídico, hemostasia y alteraciones en diferentes sistemas endocrinos. La mayoría de los casos parecen ser causados por una disregulación del sistema inmune; estos pacientes responden rápidamente a la inmunosupresión con esteroides con un excelente pronóstico clínico (1)

En contraste, el síndrome nefrótico esteroide resistente (SNCR), observados en aproximadamente el 15-20% de los niños con síndrome nefrótico idiopático, es una entidad mucho más desafiante. La prevalencia acumulativa de SNCR en caucásicos es aproximadamente 3-4 por 100,000 niños. La correlación histopatológica más frecuentemente encontrada en pacientes con SNCR es glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GEFS) (15). Una parte de los pacientes con SNCR (50%) eventualmente responderán a un tratamiento inmunosupresivo intensivo (9, 10, 1). Los que alcanzan esta remisión tendrán un pronóstico favorable a largo plazo (4), los pacientes que no responden rápidamente progresarán a falla renal crónica y eventualmente a falla renal en estadio terminal (8).

Un subgrupo grande de pacientes con SNCR no responden a ningún tratamiento inmunosupresivo y estos han sido foco de investigación en la última década. En particular la identificación de marcadores genéticos involucrados en raras formas familiares del SNCR, con un modo de herencia mendeliana autosómica recesiva (AR) (2,3, 7, 11, 12 16) o herencia autosómica dominante (AD), permitiendo así la caracterización de defectos estructurales y del desarrollo de los podocitos, células epiteliales vísceras altamente especializadas, ubicadas en la membrana basal glomerular, que forman los **procesos interdigitales** e interactúan a través de un íntimo contacto célula a célula, o con el diafragma de filtración, constituyendo todos estos la barrera de filtración glomerular.

El SNCR es un desorden paradigmático que ilustra la eminente relevancia clínica que la investigación genética puede tener en los pacientes afectados y sus familias. **Ya que los niños con causas genéticas de SNCR no se benefician de ningún tratamiento inmunosupresivo** (5, 14). El análisis en los padres puede proveer bases para la consejería genética no solo con respecto a la planeación de otros hijos sino para la viabilidad de los padres como donantes de órganos (11). Además el riesgo de recurrencia de síndrome nefrótico en un paciente transplantado es menor en pacientes que sufren defectos estructurales en los podocitos que en las formas inmunológicas del SNCR (17, 18). Finalmente desde el punto de vista clínico investigativo, excluir los portadores de mutaciones para los protocolos inmunosupresivos reducirá la tasa de no respondedores y permitirá minimizar el número de pacientes requeridos para comparar terapias alternativas en protocolos clínicos.

1. OBJETIVOS DEL ESTUDIO

PodoNet es un proyecto investigativo diseñado para mejorar la salud de los pacientes que sufren SNCR por medio de una estrategia investigativa, colaborativa e internacional, que involucra el abordaje clínico, genético y terapias experimentales innovadoras. El proyecto clínico y genético beneficiará los pacientes en el futuro y a sus familias a través de la optimización de los tratamientos y la identificación de factores de riesgo para un curso desfavorable de la enfermedad.

El objetivo de este estudio clínico y genético PodoNet son:

1. Recolección de un gran grupo de pacientes con SNCR y sus familias, más el material biológico para la investigación clínica y establecer un registro electrónico internacional.
2. Estudiar sistemáticamente la correlación genotípica/fenotípica incluyendo resultados de los pacientes con SNCR con anomalías genéticas ya identificadas.
3. Proveer a los clínicos unas guías racionales y prácticas para armonizar la conducta diagnóstica y terapéutica en niños con SNCR:
4. Establecer nuevas entidades nosológicas identificando anomalías en nuevos genes causantes de formas familiares y sindrómicas de SNCR.

2. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio longitudinal observacional, que recolectará en forma prospectiva y retrospectiva la información de los niños con síndrome nefrótico esteroide resistente. La recolección de los datos incluye la historia médica, variables de laboratorio e información genética.

3. CRITERIOS DE INCLUSIÓN

- Niños (0-18 años de edad) con síndrome nefrótico esteroide resistente atendidos en los centros participativos.
- Adultos con síndrome nefrótico familiar corticoresistente.

4. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

- Síndrome nefrótico esteroide sensible.

5. METODOLOGÍA

La información será recolectada en forma retrospectiva y prospectiva en relación a las manifestaciones clínicas de la enfermedad, antecedentes familiares, comorbilidades asociadas, tratamiento farmacológico y curso de la enfermedad. En el estudio prospectivo los datos serán recogidos cada 6 meses por tres años. Las muestras de sangre (5 ml) y orina (20 ml) serán recolectadas cada 12 meses. Este estudio tiene una duración de tres años. Para la evaluación genética se obtendrá una única muestra de sangre (5 – 10 ml) de los pacientes, padres y si es necesario de otros miembros de la familia.

Los datos clínicos serán insertados en un registro electrónico, los pacientes serán identificados con un pseudónimo (por letras o número), esto permitirá que solo el investigador local pueda asociar los datos con cada paciente. También, las muestras de sangre, DNA y de orina serán codificadas de tal forma que ningún otro investigador, médico u otra persona pueda correlacionar los datos con la identificación del paciente.

6. RETIRO DEL ESTUDIO

Un paciente puede ser retirado del estudio por solicitud propia o de los padres, o si el paciente no desea realizarse los procedimientos diagnósticos para el estudio.

7. ESTADÍSTICAS:

El estudio está diseñado para la recolección de datos en forma explorativa, epidemiológica y longitudinal. El cálculo de los tamaños mínimos necesarios de cada cohorte no es posible en esta clase de estudio, ya que las frecuencias de los genotipos y la expresión de los fenotipos no son conocidos previamente.

Los puntos a evaluar estadísticamente son, el efecto de los genotipos individuales, el efecto general de la presencia de un desorden genético de base o un efecto en la consanguinidad parental, también incluirá la edad de la primera manifestación, tasa de progresión a falla renal, actual tasa de supervivencia, tiempo de enfermedad renal en estadio terminal y el riesgo de recaídas seguido del trasplante renal.

Los tests a utilizar son, test de diferencias en proporciones (χ^2 , Maentel-Haenszel, Fisher), ANOVA con Test Newman-Keuls para comparaciones múltiples, análisis de regresión logística y curva de supervivencia por Kaplan-Meier y regresión de Cox.

8. ASPECTOS ÉTICOS

Este ítem está relacionado con la parte clínica y genética del proyecto PodoNet que incluye estudios en humanos. Este estudio está en conformidad con las reglas éticas, reglamentación y leyes preconizadas por la Unión Europea y los países donde se está realizando este estudio colaborativo. Este consorcio está conciente y respetará el contenido de la declaración de Helsinki, el Consejo de la Convención Europea para la protección de los derechos humanos y Biomedicina, la Declaración Universal sobre Bioética y Derechos Humanos y las Guías Internacionales de Ética para las Investigaciones Biomédicas que Involucren Seres Humanos CIOMS/HWO y las Directivas de la Unión Europea para la Protección de la Información (95/46/EC). Además, el consorcio seguirá los códigos de los protocolos adicionales sobre la Prohibición de Clonación de Seres Humanos y la Declaración Universal del genoma humano y los derechos humanos.

La aprobación será obtenida de todos los comités locales de ética de las instituciones participantes. Tendremos cuidado en realizar todos los requerimientos éticos locales y nacionales en cada institución participante.

Este proyecto incluye niños, por lo cual la habilidad para entender los objetivos, el contenido y los riesgos de la investigación varían con la edad. En lo posible la información será presentada de acuerdo a la edad, tanto en forma verbal como escrita y el consentimiento informado será obtenido tanto de los pacientes como de los padres. Los niños entre la edad de 9-10 años, adolescentes y adultos con retardo mental, el consentimiento será solicitado por el representante legal.

Tanto niños como familiares adultos serán informados de la posibilidad de no aceptar la participación en el estudio o de retirarse en cualquier momento sin generar esto ningún tipo de consecuencias. No se inducirá ni se obligará a ningún paciente a participar en el estudio. En lo posible la aprobación debe ser obtenida en la presencia de un testigo representante de la comunidad.

Antes de participar en este estudio y registro clínico, los pacientes y sus familias recibirán la información detallada acerca de los objetivos y procedimientos a realizar en el proyecto PodoNet (se añadirá esta información en el consentimiento informado). Ellos sabrán que la participación en este estudio puede o no tener un beneficio para su enfermedad o para cambiar el curso de ella o para la planeación de futuros bebés. Ellos sabrán que los resultados de la investigación pueden tener un impacto global en nuestro entendimiento sobre la genética de las enfermedades renales y el mejoramiento de la salud a nivel social y puede llegar a ser útil para los pacientes con riesgo de nacer con SNCR, o en el futuro para el desarrollo de mejores estrategias de prevención, diagnóstico y tratamiento.

Ellos también serán informados que los riesgos de la participación en este estudio son muy pequeños y no se exponen a ningún riesgo adicional para su salud. En vista de los mínimos riesgos involucrados en los estudios observacionales, no es necesario obtener un seguro de salud.

Los laboratorios que realizarán los estudios bioquímicos y genéticos recibirán las muestras de sangre y DNA con un código el cual indicará el código del centro y del paciente y permitirá hacer la relación familiar entre los donantes de muestras pero no la identidad.

Los investigadores pueden incidentalmente encontrar alguna anomalía de inmediata relevancia clínica para el paciente u otros miembros de la familia. En estos casos los laboratorios participantes se verán obligados a reportar los resultados al médico local quien tendrá la responsabilidad de transmitir la información a su familia y donde solo el o ella está autorizado para identificar.

Las familias serán informadas acerca de la relevancia clínica de los hallazgos genéticos. Las familias también sabrán que la información de las muestras no serán usadas para ninguno otro propósito diferente a la identificación de genes relacionados con SNCR sin una aprobación explícita.

9. PROTECCION DE LOS DATOS

Tendremos cuidado en aplicar los más altos estándares éticos con respecto a la protección de los datos. En particular las directivas de la Unión Europea 95/46/EC para la protección de las personas con relación al procesamiento de los datos personales.

La confidencialidad, seguridad, precisión y manejo legal de los datos será asegurados con las siguientes medidas:

- Toda la información clínica y las muestras biológicas y tejidos obtenidos serán transmitidos a la oficina central y a los diferentes laboratorios con un pseudónimo. Solo el médico encargado del paciente podrá relocalizar los resultados e identificar los pacientes. De esta forma todo el procesamiento de los datos y materiales fuera del centro clínico será completamente despersonalizado y la protección de la identidad será garantizada.
- Los datos clínicos serán registrados en una segura base de datos, observando una alta tecnología. Donde los datos retrospectivos tomados de los archivos clínicos de los pacientes y los datos prospectivos serán llevados y registrados directamente online.
- El uso de un modelo uniforme de recolección de los datos, asegura que solo la información adecuada y relevante sea almacenada.
- Los datos serán procesados solo para propósitos ya mencionados, el uso para otros propósitos requerirá la explícita aprobación del paciente. Los datos no serán

transferidos a otro laboratorio o a otro centro fuera del Consorcio sin autorización del paciente.

- Los datos y materiales solo serán almacenados por los términos y regulación dictados por la ley nacional.

1. Primary nephrotic syndrome in children: clinical significance of histopathologic variants of minimal change and of diffuse mesangial hypercellularity. A Report of the International Study of Kidney Disease in Children. *Kidney Int.* 20:765-771, 1981
2. Barboux S, Niaudet P, Gubler MC, Grunfeld JP, Jaubert F, Kuttenn F, Fekete CN, Souleyreau-Therville N, Thibaud E, Fellous M, McElreavey K: Donor splice-site mutations in WT1 are responsible for Frasier syndrome. *Nat.Genet.* 17:467-470, 1997
3. Boute N, Gribouval O, Roselli S, Benessy F, Lee H, Fuchshuber A, Dahan K, Gubler MC, Niaudet P, Antignac C: NPHS2, encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nat.Genet.* 24:349-354, 2000
4. Cattran DC, Rao P: Long-term outcome in children and adults with classic focal segmental glomerulosclerosis. *Am.J.Kidney Dis.* 32:72-79, 1998
5. Hoyer, P. Steroid resistant nephrotic syndrome, in *Comprehensive Pediatric Nephrology*, edited by Geary D and Schaefer F. 257-268. 2008. Elsevier.
6. Kaplan JM, Kim SH, North KN, Rennke H, Correia LA, Tong HQ, Mathis BJ, Rodriguez-Perez JC, Allen PG, Beggs AH, Pollak MR: Mutations in ACTN4, encoding alpha-actinin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nat.Genet.* 24:251-256, 2000
7. Kestila M, Lenkkeri U, Mannikko M, Lamerdin J, McCready P, Putaala H, Ruotsalainen V, Morita T, Nissinen M, Herva R, Kashtan CE, Peltonen L, Holmberg C, Olsen A, Tryggvason K: Positionally cloned gene for a novel glomerular protein--nephrin--is mutated in congenital nephrotic syndrome. *Mol.Cell* 1:575-582, 1998
8. McBryde KD, Kershaw DB, Smoyer WE: Pediatric steroid-resistant nephrotic syndrome. *Curr.Probl.Pediatr.Adolesc.Health Care* 31:280-307, 2001
9. Niaudet P: Steroid-resistant idiopathic nephrotic syndrome and ciclosporin. *French Club of Pediatric Nephrology. Nephron* 57:481, 1991
10. Niaudet P: Treatment of childhood steroid-resistant idiopathic nephrosis with a combination of cyclosporine and prednisone. *French Society of Pediatric Nephrology. J.Pediatr.* 125:981-986, 1994
11. Niaudet P: Genetic forms of nephrotic syndrome. *Pediatr.Nephrol.* 19:1313-1318, 2004
12. Pelletier J, Bruening W, Li FP, Haber DA, Glaser T, Housman DE: WT1 mutations contribute to abnormal genital system development and hereditary Wilms' tumour. *Nature* 353:431-434, 1991
13. Plank C, Kalb V, Hinkes B, Hildebrandt F, Gefeller O, Rascher W: Cyclosporin A is superior to cyclophosphamide in children with steroid-resistant nephrotic syndrome-a randomized controlled multicentre trial by the Arbeitsgemeinschaft fur Padiatrische Nephrologie. *Pediatr.Nephrol.* 23:1483-1493, 2008
14. Ruf RG, Lichtenberger A, Karle SM, Haas JP, Anacleto FE, Schultheiss M, Zalewski I, Imm A, Ruf EM, Mucha B, Bagga A, Neuhaus T, Fuchshuber A, Bakaloglu A, Hildebrandt F: Patients with mutations in NPHS2 (podocin) do not respond to standard steroid treatment of nephrotic syndrome. *J.Am.Soc.Nephrol.* 15:722-732, 2004
15. Srivastava T, Simon SD, Alon US: High incidence of focal segmental glomerulosclerosis in nephrotic syndrome of childhood. *Pediatr.Nephrol.* 13:13-18, 1999
16. Weber, S. Hereditary nephrotic syndrome, in *Comprehensive Pediatric Nephrology*, edited by Geary D. and Schaefer F. 2008. Elsevier.
17. Weber S, Gribouval O, Esquivel EL, Moriniere V, Tete MJ, Legendre C, Niaudet P, Antignac C: NPHS2 mutation analysis shows genetic heterogeneity of steroid-resistant nephrotic syndrome and low post-transplant recurrence. *Kidney Int.* 66:571-579, 2004

18. Weber S, Tonshoff B: Recurrence of focal-segmental glomerulosclerosis in children after renal transplantation: clinical and genetic aspects. *Transplantation* 80:S128-S134, 2005
19. Winn MP, Conlon PJ, Lynn KL, Farrington MK, Creazzo T, Hawkins AF, Daskalakis N, Kwan SY, Ebersviller S, Burchette JL, Pericak-Vance MA, Howell DN, Vance JM, Rosenberg PB: A mutation in the TRPC6 cation channel causes familial focal segmental glomerulosclerosis. *Science* 308:1801-1804, 2005.