

Ver artículo original en página 292

El papel de los inhibidores de mTOR en las enfermedades renales

J.C. Rodríguez Pérez

Servicio de Nefrología. Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín. Las Palmas de Gran Canaria

Nefrología 2011;31(3):251-5

doi:10.3265/Nefrologia.pre2011.Apr.10947

INTRODUCCIÓN

La transducción de señales en los diferentes tipos de células frecuentemente implica la activación, condicional o constitutiva, de receptores tirosina quinasa, los cuales disparan múltiples quinasas citoplasmáticas. Tales rutas de señalización pueden operar independientemente, de forma paralela y/o a través de interconexiones que promueven el desarrollo de diferentes patologías. Entre las rutas de señalización más importantes son la ruta de la fosfatidil inositol 3 quinasa (*PI3K*), la proteína quinasa C (*PKC*) y la de la proteína quinasa activada por mitógeno (*MAPK/Ras*)¹.

LA PROTEÍNA mTOR

mTOR (*mammalian Target of Rapamycin*) es una serina/treonina quinasa de 289 kDa. La familia de proteínas TOR tiene funciones pleiotrópicas y participa en la regulación del inicio de la transcripción del ARNm y la traducción a proteína en respuesta a concentraciones intracelulares de aminoácidos y otros nutrientes esenciales. Interviene en la organización del citoesqueleto de actina, en el tráfico de membrana, en la degradación de proteínas, en la señalización de PKC y en la biogénesis del ribosoma. mTOR regula rutas de señalización esenciales y está implicada en el acoplamiento del estímulo de crecimiento y la progresión del ciclo celular.

Existen dos complejos que contienen mTOR: el complejo sensible a rapamicina (*mTORC1*), que se define por su interacción con la proteína raptor (*regulatory-associated protein of mTOR*), y un complejo insensible a rapamicina (*mTORC2*), que se define por su interacción con rictor (*rapamycin-insensitive companion of mTOR*). mTOR es una quinasa clave que

actúa por debajo de PI3K. Muchas evidencias apoyan la hipótesis de que mTOR es la llave del catabolismo y anabolismo celular que determina si las células, y en particular las células cancerígenas, deben crecer y proliferar. Además, mTOR tiene efectos en la regulación de la apoptosis.

mTOR en la forma de los dos complejos de señalización citados como *mTORC1* y *mTORC2* con sus dos proteínas diferentes, *raptor* y *rictor*, respectivamente, establecen su conexión a dos distintos brazos de acción de la ruta de mTOR. La ruta raptor-mTOR (*-mTORC1*) regula el crecimiento celular (acumulación de masa celular) y la proliferación a través de p70S6K y 4EBPs. Responde a nutrientes y a factores de crecimiento, en parte debidos a reguladores como TSC1/TSC2 (complejo esclerosis tuberosa 1-hamartina, complejo esclerosis tuberosa 2-tuberina) y Rheb (familia Ras de GTPasa). La fosforilación de mTOR (*mTORC1*) por AKT (también llamada proteína quinasa B-PKB) ocurre a través de la inactivación del complejo de esclerosis tuberosa (TSC) y directamente por Rheb^{2,3}.

El complejo rictor-mTOR (*mTORC2*) regula AKT/PKB, PKC α , Rho/rac, para controlar la polaridad celular y el citoesqueleto. Los factores de crecimiento y los AA activan AKT y mTOR a través de PI3K¹.

Hay factores de transcripción que pueden de AKT. AKT activa el factor de transcripción NF-kB, lo que tiene como consecuencia un incremento en la transcripción de genes antiapoptóticos. El factor de transcripción NF-kB es el mediador central de la respuesta inmune, de la respuesta inflamatoria y de la respuesta de supervivencia celular. Tras su activación, IKK fosforila I κ B, marcándolo para la ubiquitinación y degradación en el proteosoma. Esto expone los lugares de localización nuclear de NF-kB y le permite la traslocación al núcleo donde induce la expresión de genes antiapoptóticos. Los factores de crecimiento, como el factor vascular de crecimiento endotelial (VEGF), activan NF-kB y protegen contra la apoptosis y, por el contrario, la inhibición de NF-kB sensibiliza a la célula a una amplia variedad de estímulos proapoptóticos³.

Correspondencia: José Carlos Rodríguez Pérez

Servicio de Nefrología.

Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín.

Bco. La Ballena, s/n. 35010. Las Palmas de Gran Canaria.

jrodper@gobiernodecanarias.org

PAPEL DE mTOR EN EL FRACASO RENAL AGUDO

La regeneración y restauración de la morfología y funcionamiento renal dependerá en parte de la capacidad del resto de las células tubulares renales viables para proliferar y restaurar el epitelio dañado⁴. mTOR es una quinasa ubicua y su inhibición por rapamicina también bloquea la proliferación incluyendo las células en el riñón⁵. mTOR desempeña un importante papel en el proceso de regeneración y recuperación tras un fracaso renal agudo (FRA) experimental. La actividad mTOR está ausente o es baja en el riñón normal, pero aumenta de forma importante tras un proceso de isquemia-reperusión. La inhibición de la mTOR por rapamicina retrasa la recuperación-reparación renal⁵.

PAPEL DE mTOR EN LA ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

La vía mTOR desempeña un importante papel en los mecanismos que intervienen en la progresión de la enfermedad renal crónica (ERC) causada por la diabetes o por otras causas. La rapamicina reduce la inflamación intersticial, la fibrosis y la pérdida de función renal que se asocia con la progresión de la ERC.

Varios estudios han demostrado la importancia de la activación de la mTOR en las formas fisiológicas y patológicas de la hipertrofia renal y otros órganos, incluyendo la hipertrofia de la nefropatía diabética (ND)⁶. Este fenómeno contribuye al daño podocitario y a la progresiva pérdida de función renal⁷. Además, se va a producir un fenómeno dependiente de la activación de mTOR consistente en el incremento de síntesis de proteínas de matriz que contribuirá al engrosamiento de la membrana basal glomerular y a la acumulación de matriz mesangial típicos de la ND⁸. La activación de mTOR en la diabetes es, al menos, en parte provocada por la hiperglucemia vía activación de la AKT⁸. La rapamicina no sólo se ha visto que reduce la actividad mTOR en modelos *in vivo*, sino que también disminuye los cambios característicos de la ND ya comentados, asociados con una reducción de la albuminuria⁹.

En ERC no diabéticas pueden observarse fenómenos similares a los encontrados en la ND, con un aumento en la expresión de citoquinas proinflamatorias y profibróticas, infiltración del intersticio renal por células inflamatorias y fibrosis renal¹⁰. El tratamiento con rapamicina en un modelo de glomerulonefritis membranosa en rata reduce todos estos fenómenos¹¹.

PAPEL DE mTOR EN LA POLIQUISTOSIS RENAL AUTOSÓMICA DOMINANTE

La poliquistosis renal autosómica dominante (PQRAD) es una enfermedad genética caracterizada por la formación de

quistes múltiples dentro del parénquima renal, lo cual resulta en pérdida de su función. Se calcula que afecta hasta a un caso por cada 400-1.000 recién nacidos. La PQRAD está relacionada con las mutaciones de los genes *PKD1* y *PKD2*, que se localizan en los cromosomas 16 y 4, respectivamente. El gen *PKD1* codifica para la proteína de transmembrana policistina 1 (PC1). A esta proteína se le atribuyen funciones como la adhesión célula-célula, la adhesión célula-matriz, la transducción de señales intracelulares y la regulación de la policistina 2 (PC2), en tanto que el gen *PKD2* codifica la proteína PC2, que es un canal de calcio^{2,12}. El complejo de PC1 y PC2 es fundamental para el mantenimiento del fenotipo fisiológico de las células epiteliales tubulares.

Los complejos proteicos de policistina son fundamentales para mantener la homeostasis intracelular del calcio. Recientemente, se ha hallado que todas las células epiteliales del túbulo renal, salvo las intercaladas, poseen un único cilio primitivo que tiene funciones mecanorreceptoras y quimorreceptoras. La estimulación de estos cilios aumenta el calcio intracelular a través del complejo de PC1 y PC2. El calcio intracelular, a su vez, controla muchos de los procesos celulares como la proliferación. Por tanto, los fármacos que reducen la formación de adenosín monofosfato cíclico (AMPC) o que aumentan el calcio intracelular podrían representar un tratamiento para la PQRAD. El calcio, además, está involucrado en las vías de señalización relacionadas con los factores de crecimiento, activando cascadas de señalización de algunas proteinkinásas. Con ello, la PC1 regula la actividad de mTOR (la pérdida de actividad de PC1 en la PQRAD permite una importante actividad de mTOR en el interior de las células epiteliales de los quistes renales en modelos murinos y humanos), lo que representaría un objetivo terapéutico^{2,13}.

DESARROLLO DE LA RAPAMICINA

La rapamicina, también llamada sirolimus, es un antibiótico natural sintetizado por *S. hygroscopicus*. Esta bacteria fue descubierta hace 30 años en la tierra de la isla de Pascua, Rapa Nui, de ahí el nombre de rapamicina. Es una lactona desarrollada inicialmente como agente antifúngico. En su forma pura muestra un aspecto de polvo blanco cristalino insoluble en solución acuosa pero soluble en solventes orgánicos. La estructura química se expone en la figura 1.

Entre 1982 y 1988, la rapamicina se desarrolló como un agente inmunosupresor. Gracias a estos estudios se dilucidó el mecanismo de acción de esta molécula. La rapamicina, a través de su grupo metoxi, interactúa con la proteína de unión a la inmunofilina FK506 (*FKBP12*). El complejo rapamicina-FKBP12 se fija específicamente a la proteína mTOR inhibiendo las rutas de señalización efectoras dependientes de dicha proteína¹⁴. La rapamicina inhibe la pro-

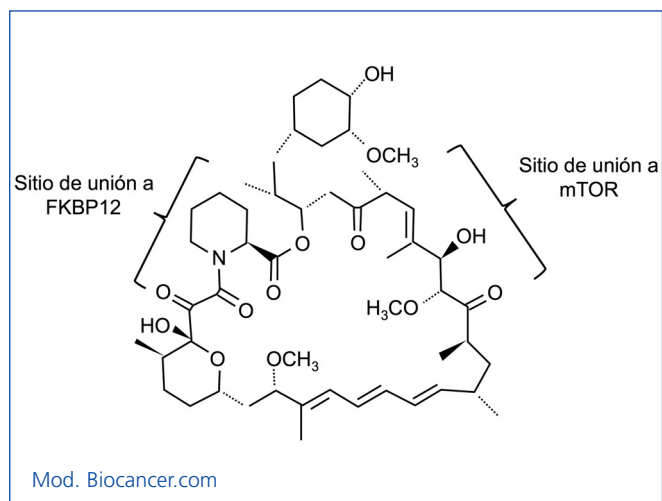


Figura 1. Estructura química de la rapamicina.

liferación de las células T inducida por antígeno y las respuestas proliferativas inducidas por citoquinas, incluyendo interleuquina 16 (IL-16), inmunoglobulin growth factor (IGF), etc. Sigue la vía del citocromo Cyp450 3A4 como el principal sistema responsable de la biotransformación del fármaco, generando metabolitos inactivos.

Se ha demostrado un elevado grado de sinergismo de este fármaco con la ciclosporina¹⁵, tanto *in vivo* como *in vitro*; de este modo, disminuye la dosis necesaria para una inmunosupresión efectiva, se reduce la probabilidad de rechazo en el trasplante renal y se minimiza la toxicidad inducida por la ciclosporina¹⁶.

Un aspecto destacable de la rapamicina como inmunosupresor es la ausencia de efectos secundarios sobre la hemodinámica renal. El tratamiento con rapamicina preserva el filtrado glomerular y el flujo sanguíneo renal tanto en ratas normales como en ratas deplecionadas de sal o con hipertensión espontánea¹⁷. El tejido renal parece estar protegido durante el tratamiento con rapamicina a través de la inhibición de la cascada de la angiotensina II intrarrenal. Sin embargo, la rapamicina provoca toxicidad tubular dosis-dependiente en ratas (incluye hipocalcemia e hipofosfatemia), fenómeno que se vincula al retraso en la recuperación de la función epitelial tubular después del daño tisular¹⁸.

La rapamicina fue aprobada por la Food and Drug Administration (FDA) de los Estados Unidos en el año 1999 para el tratamiento preventivo del rechazo agudo en combinación con la ciclosporina y los esteroides. Un año más tarde, el fármaco fue aprobado por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) como una alternativa a los antagonistas de la calcineurina en la terapia a largo plazo para evitar el rechazo de trasplantes. Cabe destacar que la rapamicina, al contrario que la ciclosporina, no parece

incrementar el riesgo de malignidad sino que más bien disminuye el riesgo de procesos linfoproliferativos posteriores al trasplante (disminuye los niveles de AKT); sin embargo, la rapamicina aumenta los efectos colaterales de la CsA: hipertensión, acné e hirsutismo y también se ha asociado con efectos secundarios leves como diarrea, taquicardia, edemas, dislipemia y neumonitis no infecciosa.

Además de su capacidad inmunosupresora, se ha demostrado que la rapamicina actúa como agente preventivo sobre la restenosis de las arterias coronarias¹⁹. El hipotético mecanismo responsable de la inhibición de la proliferación de las células del músculo liso vascular por parte de la rapamicina incluye, entre otras, la unión a la inmunofilina FKBP12.

En el artículo que presenta en este mismo número, la Dra. Cabrera, et al.²⁰ comentan los resultados del tratamiento con rapamicina sobre la evolución de los angiomiolipomas en un número nada despreciable considerando su prevalencia, de pacientes afectados de esclerosis tuberosa (ET) o enfermedad de Pringle-Bourneville.

El complejo ET es una enfermedad sistémica con herencia autosómica dominante con una prevalencia de un caso por cada 6.000 nacidos vivos²¹ caracterizada por tumores benignos (hamartomas) en múltiples órganos y sistemas, incluyendo cerebro, piel, riñones, pulmones, corazón y retina. Los angiomiolipomas son tumores ricos en tejido adiposo, músculo y vasos sanguíneos que pueden sangrar o infiltrar los riñones provocando deterioro de función renal hasta en el 80% de los pacientes²².

Las mutaciones que pueden ocurrir en cualquiera de los dos genes de ET, *TSC1* (hamartina) o *TSC2* (tuberina) se encuentran por encima del 85% de los pacientes con ET²³. Las proteínas codificadas por estos dos genes forman un complejo supresor de tumores actuando a través de una vía homóloga de Ras enriquecida en una proteína cerebral (Rheb) limitando la activación de mTOR (*mTORC1*). Cuando *TSC1* o *TSC2* son deficitarios, *mTORC1* se sobreexpresa de forma constitutiva, lo que provocará un crecimiento celular, proliferación y síntesis proteica anormalmente alta²⁴.

En el ensayo clínico en fase IV que presentan los citados autores²⁰, se demuestra una reducción significativa del volumen de los angiomiolipomas ya desde los seis meses de tratamiento con rapamicina (un 55,1% de media), alcanzando una reducción del 66,3% a los 12 meses. Esta reducción del volumen de los angiomiolipomas parece deberse al efecto de inhibición de la mTOR y a su efecto sobre el VEGF. Otro aspecto de gran interés que expresan los autores en el citado trabajo es la posibilidad de reducir las dosis de rapamicina tras conseguir la máxima reducción del volumen de los angiomiolipomas, que parece situarse entre los 12 y los 24 meses^{20,25}, ya que la retirada completa del tratamiento favo-

recería la recuperación del volumen de este tipo de tumores^{25,26}. Queda por conocer si el efecto de rapamicina sería uniforme en todo tipo de angiomiolipoma sea cual fuera su dimensión y localización (unilateral o bilateral). De igual forma, al no existir estudio genético, ya que el fenotipo puede ser diferente si la mutación se localiza en *TSC1* o *TSC2*, no sabemos si la respuesta a rapamicina pudiera variar.

Sólo un paciente fue excluido antes de los 12 meses por reactivación de un eritema nudoso. No se objetivaron cambios en la función renal considerando que se mantuvieron niveles plasmáticos constantes de rapamicina. A pesar de los efectos adversos referidos en la bibliografía médica²⁵, los autores encuentran una mayor incidencia de aftas orales y dislipemia²⁰. Es de destacar la disminución de tamaño y el menor realce de los angiofibromas faciales en estos pacientes.

Existen muy pocos datos en la bibliografía en este sentido, datos aislados sobre algún caso clínico²⁶ y un ensayo clínico publicado en *New England Journal of Medicine* con 25 pacientes de los que sólo 20 cumplieron los 12 meses de seguimiento²⁵. Ninguno de ellos aporta estudio genético. Aunque como citan los autores en su artículo²⁰ existen varios estudios en marcha en Estados Unidos y Europa.

La rapamicina, a través de la inhibición de la mTOR, es una alternativa terapéutica en esta enfermedad. Se necesitan más estudios para definir los riesgos y beneficios de rapamicina a largo plazo en este tipo de enfermedades hereditarias, su uso en monoterapia o en asociación y según localización y tamaño de los angiomiolipomas.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Pérez Machín R, Rodríguez Díaz Y, Vega Hernández MC. La ruta mTOR como diana terapéutica. *BioCancer* 2006;3.
2. Masoumi A, Reed Gitomer B, Kelleher C, Schrier RW. Potential pharmacological interventions in polycystic kidney disease. *Drugs* 2007;67:2495-510.
3. Lieberthal W, Levine JS. The role of the mammalian target of rapamycin (mTOR) in renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:2493-502.
4. Bonventre JV. Dedifferentiation and proliferation of surviving epithelial cells in acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(Suppl 1):S55-S61.
5. Lieberthal W, Fuhro R, Andry CC, Renneke H, Abernathy VE, Koh JS, et al. Rapamycin impairs recovery from acute renal failure: role of cell-cycle arrest and apoptosis of tubular cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001;281:F693-F706.
6. Lee CH, Inoki K, Guan KL. mTOR pathway as a target in tissue hypertrophy. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2007;47:443-67.
7. Hostetter TH. Hyperfiltration and glomerulosclerosis. *Semin Nephrol* 2003;23:194-9.
8. Kasinath BS, Mariappan MM, Sataranatarajan K, Lee MJ, Feliers D. mRNA translation: Unexplored territory in renal science. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:3281-92.
9. Lloberas N, Cruzado JM, Franquesa M, Herrero-Fresneda I, Torras J, Alperovich G, et al. Mammalian target of rapamycin pathway blockade slows progression of diabetic kidney disease in rats. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:1395-404.
10. Eddy AA, Neilson EG. Chronic kidney disease progression. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:2964-6.
11. Bonegio RG, Fuhro R, Wang Z, Valeri CR, Andry C, Salant DJ, et al. Rapamycin ameliorates proteinuria-associated

CONCEPTOS CLAVE

1. mTOR es un importante modulador de varios tipos de enfermedad renal.
2. mTOR se activa tras el daño renal agudo y contribuye a la regeneración y reparación renal. El uso de rapamicina puede retrasar la recuperación y la reparación renal.
3. mTOR desempeña un importante papel en la formación y crecimiento de los quistes en la EPQRAD.
4. La rapamicina podría, a través de diferentes mecanismos, retrasar la reducción del filtrado glomerular en las enfermedades renales crónicas, lo que disminuiría su progresión.
5. El uso en monoterapia de rapamicina puede ser una alternativa terapéutica para evitar el crecimiento de los angiomiolipomas renales en la esclerosis tuberosa y retrasar/impedir la llegada a la insuficiencia renal. Los posibles efectos adversos de la rapamicina deben tenerse en consideración.
6. A pesar de lo sencilla que pueda parecer la intervención sobre el complejo mTOR en la progresión de las enfermedades renales crónicas, son necesarios más estudios para establecer esta interconexión.

- tubulointerstitial inflammation and fibrosis in experimental membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:2063-72.
12. Aguiari G, Trimi V, Bogo M, Mangolini A, Szabadkai G, Pinton P, et al. Novel role for polycystin-1 in modulating cell proliferation through calcium oscillations in kidney cells. *Cell Prolif* 2008; 41:554-73.
 13. Shillingford JM, Murcia NS, Larson CH, Low SH, Hedgepeth R, Brown N, et al. The mTOR pathway is regulated by polycystin-1, and its inhibition reverses renal cystogenesis in polycystic kidney disease. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:5466-71.
 14. Baker H, Sidorowicz A, Sehgal SN, Vezina C. Rapamycin (AY-22,989), a new antifungal antibiotic. III. In vitro and in vivo evaluation. *J Antibiot (Tokyo)* 1978;31:539-45.
 15. Davies CB, Madden RL, Alexander JW. Effect of a short course of rapamycin, cyclosporin A, and donor-specific transfusion on rat cardiac allograft survival. *Transplantation* 1993;55:1107-12.
 16. Trepanier DJ, Gallant H, Legatt DF, Yatscoff RW. Rapamycin: distribution, pharmacokinetics and therapeutic range investigations: an update. *Clin Biochem* 1998;31:345-51.
 17. DiJoseph JF, Mihatsch MJ, Sehgal SN. Renal effects of rapamycin in the spontaneously hypertensive rat. *Transpl Int* 1994;7:83-8.
 18. Andoh TF, Burdmann EA, Fransechini N, Houghton DC, Bennett WM. Comparison of acute rapamycin nephrotoxicity with cyclosporine and FK506. *Kidney Int* 1996;50:1110-7.
 19. Sousa JE, Sousa AG, Costa MA, Abizaid AC, Feres F. Use of rapamycin-impregnated stents in coronary arteries. *Transplant Proc* 2003;35:1655-1705.
 20. Cabrera López C, Martí T, Catalá V, Torres F, Mateu S, Ballarín Castán J, et al. Efectos de la rapamicina en los angiomiolipomas de pacientes con esclerosis tuberosa. *Nefrologia* 2011;31(3):292-8.
 21. Krueger DA, Franz DN. Current Management of tuberous sclerosis complex. *Paediatr Drugs* 2008;10:299-313.
 22. Bissler JJ, Kingswood JC. Renal angiomyolipomata. *Kidney Int* 2004;66:924-34.
 23. Crino PB, Nathanson KL, Henske EP. The tuberous sclerosis complex. *N Engl J Med* 2006;355:1345-56.
 24. Huang J, Manning BD. The TSC1-TSC2 complex: a molecular switchboard controlling cell growth. *Biochem J* 2008;412:179-90.
 25. Bissler JJ, McCormack FX, Young LR, Elwing JM, Chuck G, Leonard JM, et al. Sirolimus for angiomyolipoma in tuberous sclerosis complex or lymphangioleiomyomatosis. *N Engl J Med* 2008; 358:140-51.
 26. Wienecke R, Facler I, Linsenmaier U, Mayer K, Licht T, Kretzler M. Antitumoral activity of rapamycin in renal angiomyolipoma associated with tuberous sclerosis complex. *Am J Kidney Dis* 2006;48:E27-E29.