

## INSUFICIENCIA RENAL CRONICA. FISIOPATOLOGIA Y PERSPECTIVAS DE TRATAMIENTO

ELVIRA EMILIA ARRIZURIETA

*Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari, Facultad de Medicina, Universidad de Buenos Aires*

Muchas de las enfermedades primarias del riñón y otras, secundarias a enfermedades sistémicas, evolucionan hacia la cronicidad determinando en el tiempo, la pérdida del órgano y la necesidad de sustituir su función por diálisis o trasplante. Actualmente, en nuestro país, hay más de 10 000 pacientes en diálisis y esta cifra tenderá a incrementarse en el tiempo porque el número de trasplante que se realizan es mucho menor que la aparición de nuevos casos. El reemplazo indefinido de la función renal para tal número de pacientes, demanda erogaciones cuantiosas de dinero y, además, aún cuando el tratamiento sustitutivo le permite al individuo llevar una vida de calidad razonable, ésta no esta siempre exenta de complicaciones. Por ello sería deseable encontrar la forma de prevenir la enfermedad o poder revertirla.

La mayoría de las enfermedades renales progresivas muestran una histología final común donde, usualmente, el riñón aparece como una masa fibrótica reducida de tamaño. Los glomérulos pierden los capilares y muestran áreas localizadas de proliferación celular y cicatrización progresiva que eventualmente causa el colapso del lecho capilar. Los túbulos, particularmente aquellos unidos a los glomérulos cicatrizales están atrofiados y, a menudo, rodeados por células inflamatorias. Hay una fibrosis difusa caracterizada por un aumento de la deposición del colágeno y, en la matriz extracelular, gran cantidad de depósitos lipídicos y aumento del número de fibroblastos. La microscopía electrónica muestra un espesamiento de la membrana basal glomerular y tubular en los estadios precoces de la enfermedad y una condensación de material amorfo en las etapas tardías. Tanto en humanos como en animales de experimentación la evolución a la glomerulosclerosis se caracteriza por un compromiso progresivo de segmentos dentro de un mismo glomérulo y una disminución del número de glomérulos y por la simplificación y obliteración de las estructuras tubulares. La alteración de la función glomerular y tubular se correlaciona con el daño histológico. En los estadios precoces aparece proteinuria que es seguida de una disminución del filtrado glomerular y del flujo sanguíneo renal. La atrofia tubular se mani-

fiesta por una alteración progresiva de la capacidad de concentración urinaria y de la excreción de ácidos.

La velocidad de progresión de la enfermedad renal no tiene relación con la etiología de la enfermedad que le diera origen y es característica de cada individuo en particular (R. Barone y col. Revista de Nefrología Diálisis y Trasplante 17: 3-22, 1987). En la práctica se la estima por la inversa de la creatinina plasmática respecto al tiempo, ecuación que permite linealizar la acumulación progresiva del marcador de filtración a medida que progresa la enfermedad.

Para poder interpretar la razón de la existencia de una vía final común frente a tanta variedad de injuria y diversidad en el tipo de respuesta de los pacientes, Brenner y colaboradores formularon hace un par de décadas una hipótesis unificadora que sostenía que cuando hay una pérdida de nefrones, los nefrones remanentes se adaptan hipertrofiándose e hiperfiltrando para compensar la pérdida inicial de la función y, más tarde, víctimas de esa sobrecompensación, van a la glomerulosclerosis que destruye nuevas unidades y perpetúa el ciclo hasta la destrucción final del parénquima renal. Esta hipótesis fue avalada por estudios de micropunción efectuados en ratas que demostraron que después de 2-4hs de uninefrectomía, los nefrones remanentes exhiben un aumento del filtrado glomerular del orden del 83%. Siendo este aumento producto, fundamentalmente, del aumento del flujo plasmático por nefrón resultante de una vasodilatación de ambas arteriolas: aferente y eferente. Este aumento del flujo plasmático generaría un aumento de la presión hidráulica de los capilares glomerulares y del gradiente de presión transcápilar sin que necesariamente se registren cambios en el coeficiente de ultrafiltración. Por su parte la presión arterial sistémica no se altera. Cuando la resección de la masa renal es mayor (5/6), se suma la alteración del coeficiente de ultrafiltración que disminuye dos semanas después de la resección de la masa renal y aumenta después de las 4 semanas. En esta circunstancia puede haber hipertensión arterial sistémica

Se observó que todas estas alteraciones regresan con la disminución de la ingesta protéica (D Tufaro y col. Nefrología (Madrid) Vol XIII, Supl 5, 1993).

El estudio secuencial de la morfología y función renal tras la remoción de la masa renal en ratas ha mostrado que, efectivamente, hay una hiperfiltración e hipertrofia renal inicial que es seguida de una caída de la función y tamaño renal en el tiempo. Es de interés señalar que esta respuesta está desplazada en el tiempo en ratas hembras respecto a las ratas macho. (F Ibarra y col. XV International Congress of Nephrology, Buenos Aires May 2-6, 1999, Abstract 678; E Oddo y col. Medicina (Bs As) 60: 5/2, resumen p 150, 2000).

Por otra parte, se pudo demostrar que el aumento agudo de la ingesta proteica es capaz de inducir una respuesta de hiperfiltración siempre y cuando haya buena función renal remanente. Esta capacidad de hiperfiltrar o de usar la reserva funcional ante una carga proteica se agotará en estadios más avanzados de la enfermedad y esto podría usarse como indicador de comienzo de la progresión de la enfermedad renal. Así pues, es posible encontrar niños con antecedente de enfermedad renal en edad temprana (síndrome urémico hemolítico, tumor de Wilms; uninefrectomía por traumatismos, etc.) que no poseen reserva funcional aún cuando su creatinina sérica es todavía normal (A Tufro y col. Clin Nephrology 34: 17-21, 1990; A Tufro y col. Pediatric Nephrology 5: 184-8, 1991).

Todos estos hechos, alteraciones hemodinámicas por la reducción de la masa renal y protección por la restricción proteica llevaron a explorar el perfil hormonal en distintas situaciones y pudo encontrarse una asociación entre dieta hiperproteica y aumento de la renina plasmática. Hoy sabemos que la progresión hacia la insuficiencia renal terminal de la mayoría de las enfermedades renales es producto de los efectos intercrinos, parácrinos, autócrinos y endocrinos de la Angiotensina II. Todos los componentes del Sistema Renina Angiotensina, incluyendo el sustrato (angiotensinógeno), las enzimas comprometidas en la síntesis y degradación de la angiotensina así como los receptores para angiotensina están presentes en el riñón. La concentración intrarrenal de Angiotensina II es, aproximadamente, 1000 veces más grande que la de los niveles circulantes.

Pudo demostrarse (A Tufro y col. Am J Physiol 263 (32): 427-435, 1992) que ratas alimentadas desde el destete con dietas hiperproteicas, estudiadas a las 12 semanas de vida, mostraron mayor peso corporal y renal y mayor filtrado glomerular y flujo sanguíneo renal que las ratas con dieta normal en proteínas. Este aumento del crecimiento renal compensador estuvo mediado por Angiotensina dado que su inhibición por un antagonista del receptor AT1 (DUP 753) anulaba el efecto observado. Asimismo pudo demostrarse que la dieta rica en proteínas modulaba la distribución de las células que contienen y expresan el gen de la renina dentro de los vasos renales (a lo largo de las arteriolas aferentes).

La renina inmunoreactiva se encontró más aumentada en los animales que recibían dieta hiperproteica siendo también mayor el porcentaje de aparatos juxtaglomerulares (AJG) conteniendo renina y mayor la longitud de inmunotinción a lo largo de las arteriolas. Las señales de hibridización para mRNA de renina se limitaron a la vasculatura y la intensidad de hibridización, que es función del contenido de mRNA, fue mayor en los animales que recibían dieta rica en proteínas. El número de granos por AJG conteniendo señales de hibridización fue superior y éstas se ubicaron en y hacia arriba del AJG con la dieta hiperproteica, mientras que se limitaron a permanecer en el AJG cuando la dieta tenía un contenido normal en proteínas.

Toda esta información impulsó el tratamiento de la insuficiencia renal crónica, en animales de experimentación primero y en el hombre después, con dietas restringidas en proteínas y/o con inhibidores del sistema renina angiotensina, asociados siempre a un estricto tratamiento de la hipertensión sistémica si la hubiere y a un control de la glucemia si fuere necesario (A Fraga y col. Medicina (Bs As) 52: 41-47, 1992; D Tufaro y col. Medicina (Bs As) 53: supl II, resumen p. 52, 1993). Estas estrategias terapéuticas fueron exitosas en los animales de experimentación y en la mayoría (2/3) de los pacientes.

Sin embargo, contrariando la hipótesis enunciada mas arriba, se observó en un estudio seriado, por micropunción, que los glomérulos con hiperflujo e hipertensión, no siempre iban a la glomeruloesclerosis mas grave. Por otra parte, otros estudios con biopsias repetidas han mostrado que la glomeruloesclerosis se asocia mas bien con el tamaño de los glomérulos (diabetes, sickle cell disease, apnea del sueño, insuficiencia cardíaca congestiva, etc.). También se ha encontrado que el polimorfismo de ciertos genes implicados en el crecimiento glomerular, tales como los del sistema renina angiotensina pueden amplificar los mecanismos de cicatrización. Se ha descrito una asociación entre el predominio del alelo D de la enzima convertora con niveles mas altos de actividad del sistema renina angiotensina y mayor susceptibilidad a padecer enfermedad renal. Esta asociación se encontró en pacientes nefropatía diabética (A Fraga y col. Clin Nephrol 54(2): E1-E3, 2000).

Estudios recientes a nivel celular nos permiten decir que, durante la injuria tisular, mecanismos de daño primariamente inmunológicos que afectan el glomérulo, túbulointersticio y vasculatura, generan un flujo de macrófagos y linfocitos que inducen la liberación de citoquinas y quimiocinas que llevan a la activación de fibroblastos residentes y posiblemente de otros tipos de células tales como las células tubulares. Estos mediadores de la activación de fibroblastos pueden liberarse también de células glomerulares y epiteliales tubulares. Además parece que esta interacción puede inducir cambios

fenotípicos de las células renales residentes (mesangio glomerulares, epiteliales, tubulointersticiales y perivasculares). La modulación fenotípica de las células residentes se asocia a la expresión de proteínas del citoesqueleto adquiriendo características de células de músculo liso y de fibroblastos. Estos cambios contribuyen a la fibrosis y cicatrización. Estas células proliferan y comienzan a sintetizar matriz extracelular, proceso que puede ser reversible si simultáneamente aumenta la degradación de la matriz en la fase de resolución del proceso inflamatorio inicial o no, si persiste la deposición por mucho tiempo. Esta última situación es la que lleva a la destrucción del órgano.

Como se sabe, excepto los elementos circulantes, toda las células están en contacto con las membranas basales. En el riñón estos elementos extracelulares son: la membrana glomerular, la cápsula de Bowman, membranas basales tubulares y vasculares y matrices mesangiales y tubulointersticiales. Todas estas matrices y membranas basales forman el andamiaje de apoyo a las células renales y ayudan a mantener la arquitectura del riñón, para que este cumpla con las funciones esenciales de filtración, concentración y dilución. Se ha podido determinar que no son sólo una mera estructura de soporte sino que son determinantes activos de la morfología, proliferación, fisiología, estado metabólico, perfil de síntesis y tipo de respuesta a citoquinas y factores de crecimiento. Estas interacciones están mediadas por receptores que no solamente transfieren información desde el medio extracelular hacia la célula sino que también afectan la interacción entre células y matriz extracelular a través de su activación y cambio de afinidad. Además de la interacción de las células con la matriz extracelular, las células interactúan entre sí y con los elementos circulantes. Estas interacciones se producen a través de las mismas moléculas que intervienen en la interacción célula y matriz mesangial así como también a través de moléculas de adhesión. Esta interacción célula a célula no solo juega un importante rol en la morfogénesis renal y en el mantenimiento de la polaridad celular, esencial para los procesos de reabsorción y secreción tubular, sino también para que los leucocitos y plaquetas localicen e inicien los fenómenos inflamatorios y de trombosis que serán determinantes del grado y gravedad del daño renal consecutivo a injurias dispares.

El aumento de los niveles de Angiotensina II, efector primario del sistema renina angiotensina, producido en la periferia o localmente, induce el aumento de la expresión de otros factores tales como: factor transformador del crecimiento (TGF- $\beta$  1), factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ), osteopontina, moléculas vasculares de adhesión (VCAM-1) y factores nucleares, entre otros. La Angiotensina II se acopla a dos receptores de alta afinidad:

el tipo 1 (AT1) y el tipo 2 (AT2). La señalización a través del receptor AT1 resulta en vasoconstricción, estimulación del crecimiento y activación de los fibroblastos y miocitos. Aumenta la expresión de varios factores proliferativos: el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), el factor del crecimiento de los fibroblastos básico (bFGF) y también el factor de crecimiento similar a la insulina (ILGF). Todos ellos promueven el crecimiento celular y la fibrosis. La señalización a través del AT2 resulta en vasodilatación, respuesta antiproliferativa y aumento de la apoptosis. Parecería que la mayor parte de los efectos adversos están mediados por el receptor AT1.

La Angiotensina II también estimula el stress oxidativo. Tal stress potencia el rol vasoconstrictor del péptido debido al aumento del catabolismo del NO. La generación de especies reactivas del oxígeno por Angiotensina II puede promover aterogénesis por diversos mecanismos incluyendo oxidación del colesterol de LDL. El gen del angiotensinógeno, que provee el precursor para la producción de angiotensina es estimulado por la activación del factor nuclear kB (NF-kB). A su vez éste es activado por Angiotensina II en hígado y riñón. Esto provee un mecanismo de refuerzo que aumenta la producción de Angiotensina II. La Angiotensina II estimula el NF-kB a través de los receptores AT1 y AT2 y los inhibidores de la enzima convertidora disminuyen la activación en la enfermedad renal del riñón. Extractos de corteza de riñón enfermo (con obstrucción ureteral) contienen proteínas que se acoplan a una secuencia semejante al NF-kB contenido en el gen promotor del TNF- $\alpha$ . Además el TNF- $\alpha$  estimula la activación del NF-kB reforzando el aumento del TNF- $\alpha$ .

Otros compuestos vasoactivos (Endotelinas, tromboxano A2 y Prostaglandinas) están también aumentados en la insuficiencia renal progresiva pero aún se desconoce el papel exacto en su fisiopatología.

El TGF- $\beta$ , que se estimula por Angiotensina, es un potente activador de fibronectina y colágeno, de la producción de proteoglicanos y de la síntesis y deposición del activador del inhibidor del plasminógeno (PAI-1). Este inhibe la formación de plasmina, necesaria para la activación de las metaloproteinasas que son las encargadas de degradar la matriz extracelular. Estos efectos profibróticos que se traducen en un aumento de la producción de la matriz extracelular por célula se suman a otros, de estímulo de proliferación celular y a alteraciones de la capacidad proliferativa. Entre los mitógenos podemos incluir al factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento similar a la insulina (ILGF-1) y la Endotelina-1 así como también el factor de crecimiento epitelial (EGF) y el factor transformador del crecimiento (TGF- $\alpha$ ). Recientemente se ha visto que la actividad de los fibroblastos transformados y

no la de los no transformados depende de la presencia de IL-1 $\beta$  y que los cultivos de fibroblastos provenientes de riñones con estadios precoces de fibrosis intersticial tienen una mayor capacidad proliferativa y para inhibirla es necesario una dosis mas alta de mitóticos.

La evolución hacia la fibrosis puede resultar también de una inadecuada degradación de la matriz extracelular. Normalmente ésta ocurre a través de las metaloproteinasas que se activan por la plasmina y se inactivan por inhibidores tisulares tales como el TIMP-1 y TIMP-II. La mayor actividad del SRA se acompaña de un aumento de la síntesis de aldosterona. Siempre se pensó que el aumento de la actividad de la aldosterona podría ser perjudicial por su rol en la reabsorción de sodio, que podría aumentar la volemia al aumentar su reabsorción, y generar así hipertensión. Actualmente se sabe que la aldosterona participa en la inducción de glomeruloesclerosis por interactuar con los sistemas fibrinolíticos que degradan la matriz extracelular. La aldosterona regula la expresión del inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1). El PAI-1 es el principal inhibidor fisiológico de los activadores del plasminógeno. El PAI-1 está implicado en la acumulación de la matriz extracelular por inhibir su degradación.

En consecuencia, las estrategias terapéuticas que están siendo ensayadas tienen que ver con la posibilidad de modular la respuesta inflamatoria en las enfermedades renales. Estas deberían destinarse a inhibir la activación de los fibroblastos – inhibir la síntesis de matriz extracelular– inhibir el procesamiento del colágeno y estimular la degradación de la matriz extracelular.

- La activación de fibroblastos podría controlarse aliviando la infiltración por linfocitos T(LFA-1) y macrófagos y controlando la actividad de las moléculas de la adhesión (ICAM-1) por medio de anticuerpos. Los mayores esfuerzos se han dirigido a bloquear el TGF- $\beta$  y el PAI-1 Otro recurso es bloquear la señal de transducción desde el receptor (inhibiendo la tirosina quinasa) para impedir la actividad mitótica de PDGF o EGF. También se han ensayado anticuerpos contra el TNF- $\alpha$  y es de interés poder inhibir, usando antagonistas del receptor, a la IL-1 que participa en la proliferación de fibroblastos transformados. Otro recurso a tener en cuenta es aquel destinado a disminuir la proliferación de los fibroblastos usando inhibidores tales como la mitomicina C.

- La inhibición de la síntesis de la matriz extracelular puede resultar de la inhibición de factores de transcripción (Sp1 y NF-1) que afectan la actividad promotora del

gen del colágeno a 1 por mitramicina, droga que se acopla al DNA. El interferón  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  y la pentoxifilina y pentifilina (metilxantinas) inhiben el acoplamiento del factor NF-1 al promotor del gen del colágeno 1. El interferón  $\gamma$  es también un antifibrótico que disminuye la proliferación de los fibroblastos y reduce la expresión de  $\alpha$  actina de músculo liso que es un marcador de la activación de fibroblastos y revierte la estimulación del colágeno por TGF- $\beta$ . Otro grupo de drogas que pueden inhibir la fibrosis son los glucocorticoides que disminuyen el mRNA del colágeno y la colchicina que, además de inhibir la síntesis del colágeno aumenta la expresión de la colagenasa.

- También se pueden inhibir competitivamente enzimas (prolil 4 hidroxilasa y prolil 4 hidrolasa) que participan en el ensamblaje de las cadenas polipeptídicas del colágeno usando prodrogas que luego de ser metabolizadas se transforman en productos activos. La inhibición de otra enzima, la lisil oxidasa, que modifica un paso postranslacional del colágeno, torna al colágeno mas susceptible a ser degradado.

- Finalmente, es posible estimular la degradación de la matriz mesangial que normalmente se produce por metaloproteinasas que son activadas por plasmina e inhibidas por inhibidores tisulares de metaloproteinasas (TIMP-I y TIMP-II). El recurso en este caso sería inhibir los inhibidores de las metaloproteinasas inhibiendo el TGF- $\beta$  y/o dando dieta hipoprotéica. También puede estimularse la colagenasa por lecitina poliinsaturada o relaxina que aumenta la colagenasa e inhibe TIMP-1.

Estudiando un modelo de insuficiencia renal aguda, donde hay recuperación de la función y morfología espontánea tras la injuria pero donde aún es muy alta la morbimortalidad, pudo demostrarse que al bloquear las moléculas de adhesión, que favorecen la obstrucción tubular por cilindros, usando péptidos que reconocen la secuencia RGD de receptores expresados en la superficie celular, podía prevenirse el daño (V De Luca Sarobe y col. Medicina (Bs As) 60: 5/2, resumen p. 768, 2000).

## Referencias

- WE Mitch et al. Lancet 11, 1326-1328, 1976.
- B Brenner et al. Am j Physiol 241: F85-F93, 1981
- WA Border et al. NEJM 331:19, 1286-1293, 1994.
- GA Müller et al. Kidney Int. 49 suppl. 54, S75-S82, 1996.
- S Klahr et al. Kidney Int. 57 suppl. 75, S7-S14, 2000.
- A Fogo et al. Kidney Int. 59, S 804-819, 2001.