

¿Cómo interpretar la proteinuria en el trasplante?

Hernán Trimarchi^{1,2} y Vanesa Pomeranz¹

¹ Servicio de Nefrología, Hospital Británico de Buenos Aires, Argentina

² Equipo de Trasplante Renal, Hospital Británico de Buenos Aires, Argentina.

Se define a la proteinuria como la presencia de proteínas en orina por encima de 150 mg/día. Normalmente, la proteinuria consiste de la filtración de proteínas de bajo peso molecular y de la proteína tubular de Tamm-Horsfall. En general, la proteinuria persistente es un signo ominoso en la enfermedad renal. Dependiendo de su grado y calidad, puede denotar una alteración a nivel glomerular o tubular, o tratarse de una filtración por sobreproducción, como sucede en el mieloma múltiple. Independientemente de su origen, la excreción urinaria por sí misma puede resultar en una inflamación y fibrosis glomerular y/o túbulo-intersticial, con progresión de la enfermedad renal. La extensión y la composición química de la proteinuria se correlaciona con la progresión de la enfermedad glomerular. A mayor grado de proteinuria, mayor probabilidad de encontrar daño glomerular. Sin embargo, las proteínas filtradas y reabsorbidas pueden provocar a su vez daño túbulo-intersticial por daño tóxico tubular directo, cambios en el metabolismo epitelial tubular, la inducción en la síntesis de citoquinas y quimioquinas, el aumento en la expresión de moléculas de adhesión y en la generación de especies reactivas del oxígeno [1].

A nivel glomerular, la proteinuria puede ser debida a causas estructurales o funcionales. Las alteraciones primarias han sido descritas en distintas estructuras: Podocito, endotelio, mesangio y membrana basal glomerular. La hiperfiltración hemodinámica, sea primaria o secundaria, puede también resultar en grados variables de pérdida urinaria de proteínas. Una vez filtrada la carga proteica, las células epiteliales tubulares proximales afrontan su metabolización, principalmente por medio de receptores apicales de membrana, como la megalina y la cubilina [2]. Como fuera mencionado, este tráfico proteico causa más inflamación y contribuye a la progresión de la enfermedad renal.

En el trasplante renal, la proteinuria puede hallarse en el período pos-trasplante inmediato, probablemente

por eventos relacionados al fenómeno de isquemia reperfusión, es usualmente transitorio y conlleva una influencia pobremente determinada a largo plazo en el pronóstico del injerto. En instancias más tardías, la proteinuria es generalmente persistente, aumenta con el tiempo y generalmente se asocia a mal pronóstico. Usualmente se debe a fibrosis intersticial y atrofia tubular (FIAT), (previamente reseñada en la literatura como rechazo crónico), glomerulopatía del trasplante, glomerulonefritis recurrente o *de novo*, trombosis de la vena renal y a nefropatía por reflujo [3]. La glomerulopatía del trasplante es una lesión con morfología específica y su etiología es inmunológica. Su incidencia es de alrededor del 20% a los 5 años post-trasplante, y se caracteriza por proteinuria, hipertensión y disminución de la función del injerto. Se asocia a rechazo agudo, el *status* de anticuerpos preformados previos al trasplante, y a la generación *de novo* de anticuerpos anti-HLA. Los anticuerpos anti-HLA clase II y/o anticuerpos donante-específicos son factores de riesgo adicionales [4].

Las drogas inmunosupresoras, incluyendo a los inhibidores de la calcineurina (CNI) (ciclosporina y tacrolimus) y a los inhibidores del factor transcripcional *mammalian-Target Of Rapamycin* (mTOR) (sirolimus o rapamicina y everolimus), también han sido implicados como causas de daño renal por provocar proteinuria. Es interesante notar que estas drogas también son empleadas exitosamente para tratar diversas glomerulonefritis, reduciendo significativamente la proteinuria y mejorando la sobrevida renal. Todos estos beneficios antiproteinúricos son independientes de su acción inmunosupresora [5, 6]. Esto confirma que se activan diferentes blancos moleculares y mecanismos fisiopatológicos en cada afectación glomerular, si bien el producto final es aparentemente el mismo: Proteinuria.

La toxicidad por CNI ocurre en parte a través de un efecto hemodinámico con una caída en el flujo

sanguíneo renal y particularmente a nivel glomerular por la constricción de la arteriola aferente, lo que explicaría sólo parcialmente el efecto antiproteinúrico de estas drogas en ciertas glomerulonefritis. Sin embargo, la ciclosporina actúa específicamente sobre el podocito estabilizando a la sinaptopodina y su interacción con la actina pedicelar, mejorando la anatomía de la hendidura diafragmática y restaurando la forma de los pedicelos [5]. El tacrolimus, por su parte, ejerce su acción sobre otra proteína, el Receptor Transitorio Canal 6 con Potencial Cationico (*transient receptor potential cation channel 6 - TRPC6*), otra molécula podocitaria de membrana involucrada en el anclaje y en el intercambio paracrina molecular entre el podocito y la hendidura diafragmática, la que al alterarse causa distorsiones histológicas y proteinuria [6] (Figura 1). Estos novedosos descubrimientos explican por qué los CNIs son útiles en el tratamiento de ciertas podocitopatías, como la esclerosis focal y segmentaria, o la nefropatía membranosa, en las cuales la proteinuria es el hallazgo cardinal. Como fuera mencionado previamente, estas acciones moleculares son independientes de sus acciones inmunosupresoras.

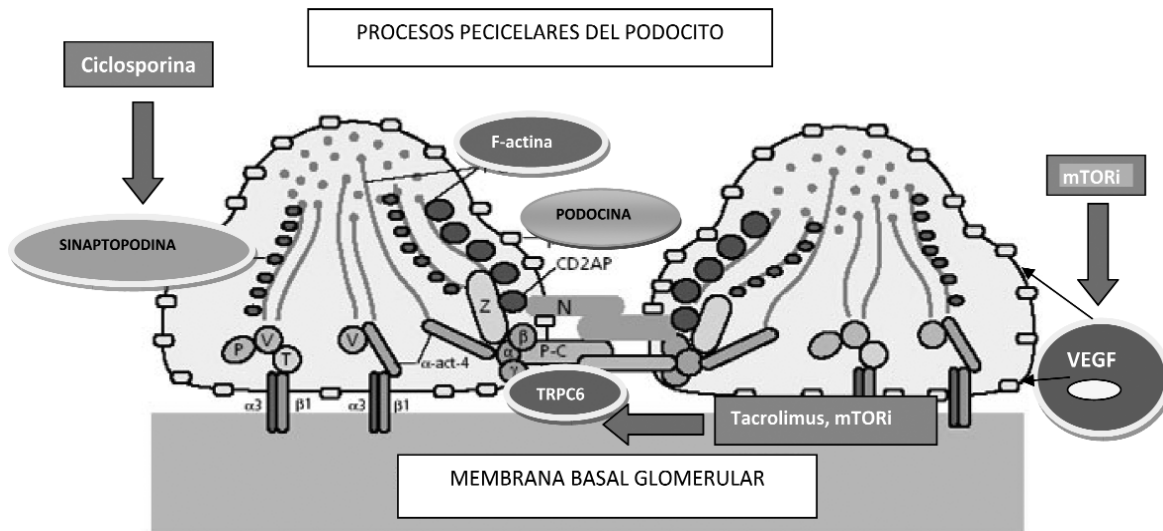
El sirolimus y el everolimus son los dos mTORi usualmente empleados en el trasplante de órganos sólidos. Estas drogas bloquean una kinasa intracelular (mTOR) que regula el crecimiento y la proliferación de linfocitos [7, 8]. Con respecto a los mTORi, el sirolimus afecta también la fosforilación del TRPC6 e inhibe al Factor de Crecimiento Endotelial Vascular (*Vascular Endothelial Growth Factor, VEGF*), con importantes consecuencias tanto en el pos-trasplante inmediato como tardío [6, 9] (Figura 1). El fenómeno de isquemia-reperfusión que ocurre en el riñón en las primeras semanas pos-trasplante demanda la imperiosa recomposición del lecho vascular a nivel parenquimatoso. Uno de los factores angiogénicos más importantes que interviene en este proceso de reparación y de vasculogénesis es el VEGF [10]. La eritropoyetina estimula la síntesis de VEGF [11]. Sin embargo, debido a la injuria renal secundaria a la isquemia-reperfusión, los niveles de eritropoyetina están reducidos, justificando en gran parte la existencia de la anemia que acompaña frecuentemente al pos-trasplante inmediato en el donante fallecido con retardo en el funcionamiento del injerto. En este sentido, en nuestra opinión, desde el punto de vista fisiopatológico, los mTORi deberían

iniciarse una vez resueltos estos eventos, los cuales supuestamente se superan una vez transcurridos los tres meses pos-trasplante.

Cuando los mTORi se emplean con dosis bajas de CNIs o directamente para reemplazarlos (*switching* o conversión), la proteinuria puede aparecer o empeorar. Tanto teorías glomerulares como tubulares se han propuesto para explicar esta proteinuria [12, 13]. En general, el grado y el tipo de proteinuria son importantes tanto para sugerir el origen de la misma, así como las estructuras histológicas involucradas, el pronóstico y la probabilidad de respuesta a un determinado plan terapéutico: la selectividad de la proteinuria, la existencia de IgG, IgM, Beta-2 microglobulina, lisozima o complemento pueden sugerir no sólo el origen glomerular o tubular, sino también el tipo de poro glomerular afectado, el mayor daño de la membrana basal y la creación de *shunts* en la barrera (verdaderos desgarros estructurales [14]), con implicancias pronósticas indiscutibles.

En ciertos reportes en los que el sirolimus ha sido asociado con proteinuria severa, no se han descripto alteraciones ultraestructurales glomerulares, apareciendo los podocitos de aspecto normal, sugiriendo que los mecanismos tubulares son los que están principalmente involucrados en la proteinuria inducida por mTORi [13]. Sin embargo, un blanco primario glomerular no puede ser excluido. Los cambios estructurales pueden ser focales y por sectores, sutiles e incluso subestimados al comienzo del cuadro clínico (cuando teóricamente el paciente es usualmente biopsiado), pasados por alto, o pueden aparecer semanas luego de las alteraciones funcionales. Una explicación posible del origen glomerular de la proteinuria inducida por mTORi puede ser la alteración en la expresión glomerular y túbulo-intersticial del VEGF [9]. El VEGF-A o simplemente VEGF pertenece a una familia de factores de crecimiento que incluye al VEGF-B, -C, -D, -E, al factor de crecimiento placentario y al PDGF. El VEGF es un potente mitógeno que facilita la proliferación de células endoteliales, la angiogénesis, y la permeabilidad microvascular. En el riñón normal, está expresado en los podocitos y en las células tubulares, y sus receptores se expresan también en el endotelio glomerular y en el endotelio de los capilares peritubulares. Finalmente, el VEGF juega un papel fundamental en la función de filtrado, integridad y permeabilidad de la membrana basal glomerular, por

Figura 1: Esquema del podocito adherido a la membrana y las principales moléculas blanco de los inmunosupresores (modificado de ECoFTS: EUROPEAN COLLABORATIVE FSGS TRANSPLANTATION STUDY) [24].



lo que su disminución estaría asociada al desarrollo de proteinuria glomerular [15, 16].

Un golpe a tres niveles en la expresión de la molécula de VEGF-A puede explicar tres escenarios distintos en la enfermedad renal. La pérdida de un solo alelo del VEGF-A en los podocitos lleva a endoteliosis, proteinuria nefrótica, glomerulosclerosis e insuficiencia renal, similar a lo que sucede en la pre-eclampsia y otras microangiopatías. Los ratones que portan un solo alelo hipomórfico del VEGF-A en sus podocitos (uno deletado y otro hipofuncional) fallecen a las 3 semanas de vida por insuficiencia renal, con desaparición de las células endoteliales glomerulares y mesangiolisis. En contrapartida, la sobreexpresión del VEGF-A conlleva al colapso del glomérulo, a proteinuria y al óbito por injuria renal. También se sabe que los genes que regulan la expresión del VEGF-A lo hacen a través de la vía de señalización de la mTOR [15]. El sirolimus y el everolimus pueden estar involucrados en el desarrollo de proteinuria glomerular al afectar la producción de VEGF-A [9]. Finalmente, el sirolimus ha sido descrito como una causa de microangiopatía trombótica asociada al trasplante. En estos casos, se han encontrado niveles tisulares disminuidos de VEGF en el compartimiento glomerular [17].

Además del impacto sobre la estructura y el daño de los podocitos a nivel glomerular, los mTORi presentan una interacción a nivel tubular proximal. Normalmente, el túbulo contorneado proximal tiene una alta capacidad para absorber las proteínas filtradas, sean estas de bajo peso molecular, capaces de pasar a través de la membrana de filtración, o por disfunción glomerular. El *tándem* de receptores de membrana tubular megalina-cubilina presenta una alta expresión en el ribete en cepillo del sector tubular proximal y está destinado a la reabsorción de una amplia gama de moléculas, incluyendo a la albúmina. Aparentemente los mTORi bloquean estos receptores de membrana por una vía dependiente de la angiotensina II, principalmente inhibiendo a la megalina, bloqueando la endocitosis y causando proteinuria [18]. Sin embargo, esta pérdida de proteínas es, en general de bajo monto comparada con la de origen glomerular, oscilando entre 0.2 y 1 g/día y sin superar los 2 g/día; incluso este efecto se lo podría considerar potencialmente beneficioso o nefroprotector, ya que bloquea el tráfico de proteínas desde la luz tubular al intersticio, y el consecuente reclutamiento de macrófagos y linfocitos, la transdiferenciación de pericitos a fibroblastos (Transición Epitelio o Endotelio-Mesenquimatosa, EMT) y la aparición de

fibrosis intersticial irreversible. El *Transforming Growth Factor-beta* (TGF- β), el *Platelet Derived Growth Factor* (PDGF) y la *Macrophage Chemottractant Protein-1* (MCP-1) están involucradas en este proceso [1]. Se ha demostrado que el sirolimus y el micofenolato son capaces de bloquear la EMT, y de atenuar el daño túbulo-intersticial y el depósito local de colágeno [19]. Finalmente, el sirolimus disminuye la infiltración de células inflamatorias, inhibe la expresión renal del TGF-beta, del *Collagen Tissue Growth Factor* (CTGF), del PDGF y de la *alpha-Smooth Muscle Actin* (α -SMA) [19, 20].

A pesar de que es generalmente aceptado que solo ínfimas concentraciones de albúmina se filtran normalmente por la membrana basal glomerular, este paradigma está siendo actualmente seriamente cuestionado, sugiriendo que la albúmina se filtra libremente en condiciones normales, y que es completamente reabsorbido por el túbulo proximal. En este caso, los mTORi producirían proteinuria severa por bloquear la reabsorción proteica tubular.

La proteinuria ocurre en el 22% de los receptores de trasplante renal que reciben ciclosporina, siendo el rechazo crónico y/o la glomerulopatía del trasplante sus causas más comunes, y de índole irreversible [3].

La asociación entre mTORi y proteinuria ocurre en aproximadamente el 20-30% de los pacientes trasplantados, pero en general resuelve luego de la suspensión de la droga. Cuando se convierte a un paciente a un tratamiento con un mTORi, se puede producir un aumento de la proteinuria con daño renal previo; sin embargo, parece preservar la función renal en sujetos con creatininas más bajas y proteinurias < 800 mg/día, y suelen no ser beneficiosos si hay pérdida avanzada de la función renal y proteinuria severa pre-conversión [12, 21].

Se han reportado algunos casos y series de esclerosis focal y segmentaria primaria con buena respuesta al sirolimus [22], mientras que por otro lado ha habido reportes de esclerosis focal y segmentaria *de novo* secundaria al sirolimus [23]. El efecto beneficioso podría explicarse en un subgrupo de pacientes con podocitopatías en las que el TRPC6 o proteínas asociadas a la misma están afectadas, ya que el sirolimus estabilizaría esta molécula [6], mientras que una disminución del VEGF o una desestabilización de la sinaptopodina podocitaria explicarían el segundo escenario [9, 23].

Una pregunta a hacerse es la siguiente: luego de la conversión de un CNIs a un mTORi, no es inusual que

los niveles de creatinina sérica disminuyan. Esto podría deberse a cambios hemodinámicos una vez que la vasoconstricción de la arteriola aferente glomerular desaparece. ¿Cómo debe interpretarse esta disminución de la creatinina sérica? A corto plazo, como un buen marcador de vitalidad y elasticidad vascular y de *compliance* de la pared. A su vez, también refleja la preservación de parénquima renal normal y funcional. Sin embargo, esta disminución de la creatinina puede estar denotando la aparición de un estado de hiperfiltración, el cual si no se maneja en forma adecuada, puede llevar con el tiempo a microalbuminuria, proteinuria y daño renal crónico a largo plazo. Un control adecuado del peso y de la presión arterial, una intervención farmacológica sobre el sistema renina-angiotensina independientemente de la presión arterial, control estricto de la glucemia, de la microalbuminuria y/o de la proteinuria, y de la excreción urinaria de sodio están entre las medidas principales a tomar en esta situación. El doble bloqueo con un IECA más un ARA II es una opción a considerar, ya que se disminuirá la acción de la angiotensina II, y por ende de moléculas profibróticas como el TGF-beta.

En conclusión, la proteinuria no debe subestimarse en el trasplante. No hay que olvidar que puede asociarse con una variada gama de condiciones, las cuales se enfocan de manera muy disímil: en el período post-trasplante temprano, puede deberse a fiebre, infecciones urinarias, a isquemia/reperfusión, a retardo en la función del injerto, y a rechazo agudo. La recurrencia de una glomerulopatía o una glomerulonefritis *de novo* es menos probable, si bien no puede descartarse. Luego de los tres meses post-trasplante, puede asociarse a infecciones urinarias, glomerulonefritis *de novo* o recurrente, hipertensión arterial, a rechazo agudo, a toxicidad por CNIs, a esclerosis glomerular por envejecimiento del injerto o a FIAT. Si los mTORi son empleados en estas circunstancias, estas drogas deben ser evaluadas como potenciales causales o agravantes. La glomerulopatía del trasplante es una entidad que también debe considerarse como causa de proteinuria. La fibrosis intersticial y la atrofia tubular son eventos histopatológicos confluyentes y finales en los cuales convergen todas las causas previamente citadas y que deben ser evitadas o dilatadas tanto como sea posible, y del cual la proteinuria es un marcador incondicional.

Bibliografía

1. Abbate M, Zoja C, Remuzzi G. How does proteinuria cause progressive renal damage? *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2974-2984.
2. Verroust PJ, Birn H, Nielsen R, Kozyraki R, Christensen EI. The tandem endocytic receptors megalin and cubilin are important proteins in renal pathology. *Kidney Int* 2002; 62: 745-756.
3. Peddi VR, Dean DE, Hariharan S, Cavallo T, Schroeder TJ, First MR. Proteinuria following renal transplantation: Correlation with histopathology and outcome. *Transplant Proc* 1997; 29: 101-103.
4. Fotheringham J, Angel CA, McKane W. Transplant glomerulopathy: Morphology, associations and mechanism. *Nephron Clin Pract* 2009; 113: e1-e7.
5. Faul C, Donnelly M, Merscher-Gomez S, Chang YH, Franz S, Delfgaauw J, Chang JM, Choi HY, Campbell KN, Kim K, Reiser J, Mundel P. The actin cytoskeleton of kidney podocytes is a direct target of the antiproteinuric effect of cyclosporine A. *Nat Med*. 2008; 14: 931-8.
6. Kim JY, Saffen D. Activation of M1 muscarinic acetylcholine receptors stimulates the formation of a multiprotein complex centered on TRPC6 channels. *J Biol Chem*. 2005; 280:32035-47.
7. Saunders RN, Metcalfe MS, Nicholson ML. Rapamycin in transplantation. A review of the evidence. *Kidney Int* 2001; 59: 3-16.
8. Cooper JE, Wiseman AC. Novel immunosuppressive agents in kidney transplantation. *Clin Nephrol*. 2010 May; 73: 333-43.
9. El-Hashemite N, Walker V, Zhang H, Kwiatkowski DJ. Loss of Tsc1 or Tsc2 Induces Vascular Endothelial Growth Factor Production through Mammalian Target of Rapamycin. *Cancer Res* 2003; 63: 5173-5177.
10. Schrijvers BF, Flyvberg A, De Zeeuw AS. The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in renal pathophysiology. *Kidney Int* 2004; 65: 2003-2017.
11. Buemi M, Lacquaniti A, Maricchiolo G, Bolignano D, Campo S, Cernaro V, Sturiale A, Grasso G, Buemi A, Allegra A, Donato V, Genovese L. Regenerative medicine: does Erythropoietin have a role? *Curr Pharm Des*. 2009; 15: 2026-36.
12. Franco AFV, Martini D, Abensur H, Noronha IL. Proteinuria in transplant patients associated with sirolimus. *Transplant Proc* 2007; 39: 449-452.
13. Straathof -Galena L, Wtzels JFM, Dijkman HBPM, Steenbergen EJ, Hilbrands LB. Sirolimus-Associated heavy proteinuria in a renal transplant recipient: Evidence for a tubular mechanism. *Am J Transplant* 2006; 6: 429-433.
14. D'Amico G, Bazzi C. Pathophysiology of proteinuria. *Kidney Int* 2003; 63: 809-825.
15. Eremina V, Baelde HJ, Quaggin SE. Role of VEGF-A signaling pathway in the glomerulus: Evidence for crosstalk between components of the glomerular filtration barrier. *Nephron Physiol* 2007; 106:p32-p37.
16. Ferrara N, Gerber HP, LeCoutre J. The biology of VEGF and its receptors. *Nat Med* 2003; 9: 669-676.
17. Sarterlet H, Toupance O, Lorenzato M, Fadel F, Noel LH, Lagonotte E, Birembaut P, Chanard J, Rieu P. Sirolimus-Induced Thrombotic Microangiopathy is Associated with Decreased Expression of Vascular Endothelial Growth Factor in Kidneys. *Am J Transplant* 2005; 5: 2441-2447.
18. Oroszlán M, Bieri M, Ligeti N, Farkas A, Meier B, Marti HP, Mohacs P. Sirolimus and everolimus reduce albumin endocytosis in proximal tubule cells via an angiotensin II-dependent pathway. *Transpl Immunol*. 2010; 23:125-32.
19. Copeland JWGV, Beaumont BW, Merrilees MJ, Pilmore HL. Epithelial-to-mesenchymal transition of human proximal tubular epithelial cells: effects of rapamycin mycophenolate, cyclosporine, azathioprine, and methylprednisolone. *Transplantation* 2007; 83: 809-814.
20. Bonegio RGB, Fuhro R, Wang Z, Valeri R, Andry C, Dalant D, Lieberthal W. Rapamycin Ameliorates Proteinuria-Associated Tubulointerstitial Inflammation and Fibrosis in Experimental Membranous Nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 2063-2072.
21. Riuz JC, Campistol JM, Sanchez-Fruetoso A, Rivera C, Oliver J, Ramos D, Diekmann F. Increase of proteinuria after conversion from calcineurin inhibitor to sirolimus-based treatment in kidney transplant patients with chronic allograft dysfunction. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 3252-3257.
22. Tumlin JA, Miller D, Near M, Selvaraj S, Hennigar R, Guasch A. A prospective, open-label trial of sirolimus in the treatment of focal segmental glomerulosclerosis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2006; 1:109-16.
23. Letavernier E, Bruneval P, Mandet C, Duong Van Huyen JP, Peraldi MN, Helal I, Noël LH, Legendre C. High sirolimus levels may induce focal segmental glomerulosclerosis de novo. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2007; 2:326-33.
24. ECoFTS: European Collaborative FSGS Transplantation Study. En http://ecofits.uki.at/de/fakten_en.html.