

<b>Artículo de Revisión</b>
-----------------------------

## Tratamientos Específicos en Poliquistosis Renal Autosómica Dominante. *Una biología compleja y una enfermedad de larga duración*

Martín Rodolfo S, Fraga Adriana R, Fragale Guillermo, Cestari Jorge, Martínez María F, Arrizurieta Elvira, Azumendi Pablo J

Servicio de Nefrología, Centro Académico de Salud, Universidad Austral. Sección de Riñón Experimental, Instituto de Investigaciones Médicas Alfredo Lanari, UBA.

### RESUMEN

ADPKD es ocasionada por mutaciones en los genes PKD1 y PKD2. Sus dos proteínas, las policistinas 1 y 2, asientan en el cilium primario inmóvil de cada célula y contribuyen a través de su función mecanosensora a una señalización normal del calcio intracelular (Ca<sup>2+</sup>). Los quistes renales crecen por un doble proceso epitelial, secreción aumentada de fluidos y mayor proliferación, productos del aumento del AMPc intracelular. En esta línea de hallazgos, se demostró en animales que el uso de un inhibidor del receptor V2 (OPC-31260) de la vasopresina endógena, disminuye el aumento del volumen renal y de los quistes y preserva el filtrado glomerular (FG). Por otro lado, la inhibición de la proteína quinasa mTOR (mamalian target of rapamycin), que regula múltiples funciones celulares e integra la información que llega de vías que incluyen la insulina, factores de crecimiento y mitógenos, también se demostró efectiva en modelos animales. En base a estos datos, se inició un ensayo clínico en fase III (Estudio TEMPO) con el inhibidor OPC-31260 (Tolvaptan) del receptor V2 de la vasopresina. No existen todavía datos preliminares de su influencia sobre el crecimiento del volumen renal y el FG, pero disminuye la reabsorción de agua libre y causa diabetes insípida nefrogénica parcial por su acción sobre el receptor V2. Enfoques similares sobre la inhibición del contenido de AMPc intracelular pueden lograrse en humanos con la somatostatina y su análogo de acción prolongada octeotride. Los estudios en humanos con inhibidores de mTOR (everolimus y sirolimus) mostraron disminución del volumen renal pero con mayor declinación del FG en el primer caso y no diferencias en esos índices en el segundo. En conclusión, si bien los modelos animales han provisto un enfoque racional para los ensayos clínicos en humanos, son necesarios nuevos protocolos que estimen cuándo comenzar el tratamiento, cómo evaluar la “etapa

biológica” de la enfermedad y qué marcadores de eficacia son necesarios en una enfermedad de larga duración como ADPKD.

**Palabra Clave:** ADPKD – PKD1 – PKD2 – PC1–PC2– AMPc – mTor – Vasopresina – IRC – Ca<sup>2+</sup> – FG – OPC31260 – Tolvaptan – Everolimus – Sirolimus - Octeotride

### ABSTRACT

ADPKD is caused by mutations in the PKD1 and PKD2 genes. The two codified proteins, polycystins 1 and 2, are localized in the primary non-motil cilium and contribute through its mechanosensorial function to a normal signal process in the intracellular calcium (Ca<sup>2+</sup>) machinery. Renal cysts grow by a double epithelial process of increase in both fluid secretion and cell proliferation, fuelled both by a high intracellular cAMP. Along all these findings, it was also demonstrated in animal PKD models that an inhibitor of the endogenous vasopressin V2 receptor slowed the increase of renal volume and preserved the glomerular filtration rate (GFR). Besides this, the kinase-protein mTOR (mamalian target of rapamycin), that regulates multiple cellular functions and integrates information coming from a variety of growth factors and mitogens was also effective in ameliorating the course of the disease in animal PKD models. Upon all this data, a double-blind phase III clinical trial was started (TEMPO) with an inhibitor of the V2-vasopressin receptor OPC-31260 (Tolvaptan). No data are available at present on the influence of Tolvaptan on both renal volume and GFR. Similar approaches pointing to inhibit the AMPc intracellular content have been used in humans with somatostatin and its long-acting analogous octeotride, with preliminary benefits. Published results in humans with the mTOR inhibitors everolimus showed a slower pace in the growth rate

of renal volume without concurrent changes in GFR. No beneficial changes were observed with the use of sirolimus. In summary, different animal models have provided a rational approach for planning clinical trials with different compounds. It is still necessary to get new data that permit the development of a new stage of carefully designed trials. This should permit to define questions as when to start treatment, how to evaluate the “biological” stage of the disease and which markers should be used to assess treatment effectiveness in a long-life disease as ADPKD.

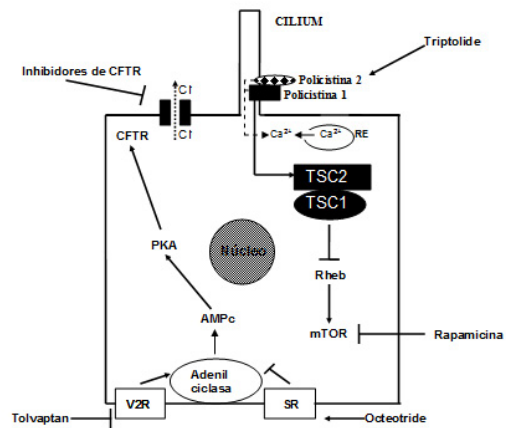
**Keywords:** ADPKD – PKD1 – PKD2 – PC1– PC2– AMPc – mTor – Vasopresina – IRC – Ca2+ – FG – OPC31260 – Tolvaptan – Everolimus – Sirolimus - Oocteotide

**INTRODUCCIÓN**

Resulta extraño y prematuro el escribir sobre nuevos tratamientos en poliquistosis renal autosómica dominante (ADPKD) cuando todavía no hay ninguno definitivamente demostrado como eficaz en el ser humano. Pero pensar sobre el tema hará que este anhelo pueda surgir de preguntas inesperadas. La búsqueda de una explicación biológica para ADPKD es un ejemplo de los tiempos que se viven en las ciencias biológicas. El sublatra causa, tollitur effectus –suprimida la causa desaparece el efecto- no existe todavía para esta enfermedad. ¿Por qué? Porque muchos de los fenómenos biológicos son productos de la interacción de componentes celulares que generan funciones no predecibles desde sus atributos individuales. Por ello, debemos aceptar que aún con los genes ya caracterizados es difícil hacer predicciones en un problema biológicamente complejo como ADPKD. La poliquistosis renal es un grupo de enfermedades causadas por mutaciones en un gen único –llamadas por ello monogénicas- que llevan al desarrollo de quistes. Las manifestaciones clínicas con morbilidad importante en las dos formas hereditarias más comunes –ADPKD y la forma recesiva ARPKD - comprometen al riñón, hígado y al árbol vascular. ADPKD –enfermedad a la cual nos referiremos en esta revisión- es muy frecuente, afectando 1 de cada 1.000 personas, y más común que la enfermedad de Huntington, la hemofilia, el síndrome de Down, la fibrosis quística y la distrofia miotónica combinadas. ADPKD evoluciona a insuficiencia renal crónica en ~ 50% de los casos y es causa del 7% de los pacientes en reemplazo dialítico en Argentina. Una característica que ADPKD comparte con otras en-

fermedades genéticas es que presenta distintas velocidades de evolución de la enfermedad, aún dentro de una misma familia, que por definición comparten la misma mutación. Este hecho, conocido como heterogeneidad alélica, está principalmente determinado por mutaciones somáticas al azar en el alelo sano del gen (second hit) <sup>(1, 2)</sup> y posiblemente también por la influencia de polimorfismos genéticos en otros genes no determinantes de la enfermedad <sup>(3)</sup>. Esto enfatiza la importancia de la interrelación entre “la dosis” de estos fenómenos de mutación hereditaria y adquirida y diferentes genes modificadores para determinar el fenotipo final de la enfermedad <sup>(4, 5, 3)</sup>. ADPKD es también una enfermedad sistémica, ya que presenta –con incidencias variables- hipertensión arterial, quistes hepáticos, aneurismas cerebrales, infecciones del tracto urinario, nefrolitiasis, dolor abdominal, tumores benignos como los mixomas cardíacos <sup>(6)</sup> y manifestaciones precoces de arterioesclerosis <sup>(7)</sup>. La nueva era en ADPKD comenzó con un enfoque molecular, con el objetivo de identificar el gen, luego la proteína y sus mecanismos celulares de acción y por último imaginarse un tratamiento definitivo de la enfermedad; así, se descubrieron en 1994 y 1996 dos genes para ADPKD, llamados PKD1 y PKD2, con la deducción de sus proteínas correspondientes, las policistinas 1 y 2 (PC1 y PC2). PKD1 y PKD2 representan ~ 85% y ~ 15% de las presentaciones clínicas a nivel mundial y en Argentina <sup>(8)</sup>. Por último, otros estudios consolidaron algo que se había observado en 1898; que todas las células desde el alga verde *Chlamydomonas* y el gusano *Caenorhabditis elegans* hasta las células humanas –y especialmente las renales– poseían un cilium primario no móvil (ver Fig. 1)

Figura 1



Adaptado de Patel V et al. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2009;Mac:18:99-106

que con su cuerpo basal, agrupa patogenéticamente a muchas enfermedades quísticas en el concepto de “ciliopatías”. Las proteínas PKD han sido localizadas en el cilium/cuerpo basal, de manera que la pérdida de función en ellas o las abnormalidades del cilium en el riñón llevan al desarrollo de los quistes <sup>(9)</sup>. El cilium primario juega un rol mayor en el mecanismo mecanosensor y la señalización del calcio (Ca<sup>2+</sup>) intracelular <sup>(10)</sup>. Sin embargo, no todas las enfermedades quísticas, muestran una proteína aberrante en el cilium, sino que alteran las modificaciones postraduccionales – desde el clivado del péptido señal hasta la transferencia y recorte de N – glicanos – como es el caso la poliquistosis hepática autosómica dominante <sup>(11, 12)</sup>.

Paralelamente a esta línea de investigación molecular, se consolidó un modelo celular que explicaba en parte el crecimiento de los quistes renales por un proceso secretorio, totalmente en las antípodas del proceso de absorción que esas mismas células muestran en túbulo normal. Así, ese modelo implicaba cotransportadores cloro/sodio/potasio en la membrana basal y canales de cloro en la membrana luminal, que sinérgicamente crean un flujo unidireccional de fluido hacia la luz del quiste y lo hacen crecer en forma exponencial (ver 9).

El tratamiento actual de la poliquistosis renal se basa en disminuir la morbilidad y mortalidad de las complicaciones de la enfermedad, tema que ya ha sido tratado en otras revisiones <sup>(13, 14, 15, 16, 17, 18, 19)</sup>. En esta revisión se mencionarán algunos hitos de la biología celular de ADPKD que forman las bases para el desarrollo de estrategias terapéuticas que disminuyan el ritmo de progresión de la enfermedad. Veremos que las estrategias actuales predominantes son disminuir la magnitud del proceso secretorio y el ritmo de proliferación de las células quísticas, y que los resultados hasta el momento en humanos son controversiales y no definitivos. Aunque varios fármacos disminuyen el crecimiento quístico en modelos animales, no existe todavía una demostración definitiva de que ellos retarden la velocidad de progresión en pacientes con la enfermedad.

Biología celular de ADPKD y experimentos terapéuticos en animales transgénicos

En el desarrollo de algunos conceptos sobre las bases celulares de ADPKD haremos mención a mecanismos que se muestran en la Fig 1 y asociaremos la evolución de esos conceptos al uso de animales transgénicos, que demuestran la elegancia que la ciencia puede aportar al proceso del descubrimiento terapéutico. Es importante enfatizar que el enfoque de corregir el gen

mutado o anular su acción patógena a través de manipular la “dosis” del gen se evidenció como una posibilidad elusiva y difícil. Baste mencionar que, paradójicamente, los ratones transgénicos con un aumento de la expresión de PKD1 y PKD2 renal, desarrollan también una enfermedad comparable al fenotipo humano <sup>(20, 21)</sup>. Por el contrario, y en forma esperada, cuando la expresión del gen es muy baja, se produce en ratones homocigotos con mutaciones para PKD1 o PKD2, una enfermedad con muerte intrauterina en la semana 14 con quistes en riñón y páncreas, indicando que la pérdida total de sus productos genéticos lleva al desarrollo de quistes <sup>(22)</sup>. Por último, los animales heterocigotos desarrollan menos quistes, principalmente hepáticos, y a edades más tardías <sup>(23)</sup>. Estos fenómenos –entre otros- hacen muy compleja la pregunta del reemplazo del gen por terapia génica, tema del que no se hará nueva mención en esta revisión.

Una serie de trabajos del grupo de Kansas - liderado por JJ Grantham-, entre los años 2000 y 2006, demostraron que el AMPc intracelular aumentado en células quísticas inhibía la proliferación de células renales normales y estimulaba la proliferación y la secreción transepitelial de fluidos de células derivadas de quistes de poliquistosis renal y que ese cambio podría deberse a una alteración en la regulación de los niveles de calcio intracelular producido por la función defectuosa del complejo policistina 1 y 2, ya que el aumento del calcio intracelular restauraba la respuesta normal anti-mitogénica al AMPc. Esta línea de concepción de los mecanismos celulares involucrados en PKD permitió imaginar futuros ensayos clínicos para la enfermedad <sup>(24, 25, 26, 27, ver 28, 29, 30)</sup>.

Casi paralelamente a estos hallazgos, ya en 1999 Gattone et al <sup>(31)</sup> habían usado un modelo animal de PKD recesiva y rápidamente progresiva (cpk/cpk) para probar la hipótesis de la vasopresina endógena como promotora del crecimiento de los quistes renales, actuando a través de la estimulación de la adenilato-ciclasa y la producción de AMPc. Administraron así un inhibidor altamente específico y de alta afinidad para el receptor V2 de la vasopresina (OPC-31260) y demostraron una disminución impactante tanto en el agrandamiento del volumen renal y de los quistes como en la preservación de la función renal. Luego se observó también que OPC-31260 presentaba efectos similares en otros tres modelos de roedores con enfermedades quísticas (Pkd2/Pkd2–tm1Som, pcy/pcy, y PCK). Una hipótesis derivada de estos resultados fue que la reducción de la concentración de vasopresina plasmática también debería ser efectiva. Efectiva-

mente, ratas con el modelo PCK, obligadas a beber agua para reducir la osmolalidad urinaria por debajo de la plasmática, mostraron una reducción marcada del volumen renal con preservación de su función<sup>(32)</sup>. ¿Qué ocurriría entonces si los animales (Pkh1-/-) con poliquistosis fueran cruzados con ratas Brattleboro con diabetes insípida (AVP-/-)? Se podrían producir animales homocigotos dobles, poliquísticos y con carencia de AVP; así, las ratas AVP-/-/Pkh1-/- mostraron una reducción “dramática” de los quistes renales; y cuando se les administró AVP por medio de bombas miniosmóticas, ¡los animales desarrollaron quistes renales!<sup>(33)</sup>. Todos estos experimentos hablan a favor del rol central de la vasopresina en el crecimiento de los quistes renales.

Torres et al en la Clínica Mayo demostraron –basados en las consideraciones descriptas– inhibición de la citogénesis en tres modelos diferentes de PKD. Así, OPC-31260, que reducía el contenido de AMPc renal, regulaba “hacia abajo” la expresión del receptor V2, inhibía el desarrollo de quistes renales y disminuía la caída de la función renal en un modelo murino de ADPKD (Pkd2WS25/-)<sup>(34)</sup>. Estos resultados aportaron argumentos para pasar a ensayos clínicos con OPC-31260, que actualmente están en desarrollo. En concordancia con lo mencionado anteriormente, también es frecuente comprobar concentraciones renales elevadas de AMPc en modelos animales de ADPKD. Este hallazgo podría estar relacionado directamente con cambios en la homeostasis de Ca<sup>2+</sup> intracelular por la estimulación de la adenilato ciclasa 6 inhibible por Ca<sup>2+</sup> o por la inhibición de la fosfodiesterasa 1 dependiente de Ca<sup>2+</sup> (Figura 1). El mismo fenómeno también fue observado en células vasculares de músculo liso aisladas de ratones PKD2+/- . Estos hallazgos han llevado a una concepción celular del proceso –“aguas abajo” de las policistinas– por el cual el Ca<sup>2+</sup> intracelular regularía las concentraciones de AMPc tanto en cultivos primarios de células principales del túbulo colector normal como de células vasculares de músculo liso. El AMPc a su vez estimularía las vías de la protein-quinasa activada por mitógenos y de la quinasa regulada extracelularmente (MAPK/ERK) y la proliferación en las células epiteliales renales en experimentos realizados en pacientes con ADPKD. En células en división carentes de cilios primarios, por supresión de la expresión de las proteínas del citoesqueleto mDia1, se pierde la localización de PC-2 en el eje mitótico y se anulan los incrementos intracelulares de Ca<sup>2+</sup> evocados por agonistas. Las concentraciones intracelulares de Ca<sup>2+</sup> se reducen en cultivos

primarios derivados de quiste en los riñones con mutaciones PKD1, así como en los conductos colectores aislados de ratones PKD1+/- .

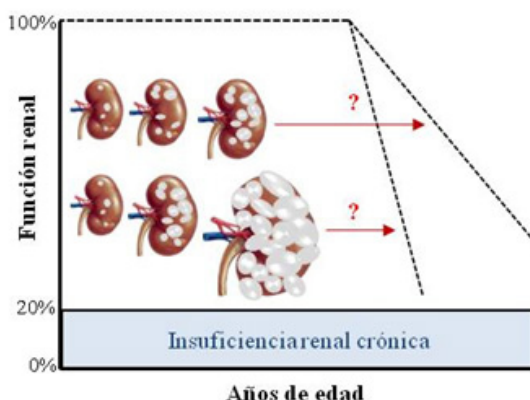
Paralelamente a estos hallazgos sobre estímulos e inhibiciones sobre la secreción tubular, otros mecanismos intracelulares que regulan la proliferación celular se tornaron claves en la génesis del quiste. Es útil recordar en esta revisión, que una protein-quinasa es una enzima que transfiere grupos fosfatos desde ATP a substratos específicos, proceso llamado fosforilación. La fosforilación lleva a un cambio funcional de la proteína blanco o substrato, ya sea cambiando la actividad, la localización celular o su asociación con otras proteínas. Hay que recordar que las kinasas pueden modificar la mayoría de los caminos celulares, especialmente los relacionados con la transducción de señales en ~ 30% de todas las proteínas humanas. Es también necesario hacer mención aquí que transducción de señales es el proceso por el cual una molécula extracelular activa un receptor de membrana, que a su vez altera moléculas intracelulares, creando una respuesta; y cuando una de las proteínas en el “camino celular” está mutada, esa proteína puede quedar “apagada” o “encendida”, fenómeno que a veces es un paso necesario en el desarrollo de muchas neoplasias. En sentido contrario, los fármacos que “prenden” o “apagan” esos caminos son consideradas como fármacos a investigar para tratar neoplasias (ver 35), como es el caso de mTOR (mamalian target of rapamycin), una proteína kinasa aislada en 1994 en células humanas, codificada por el gen FRAP1. Muchas funciones celulares son reguladas por mTOR, como el crecimiento, la proliferación, la motilidad, la supervivencia, la síntesis proteica y la transcripción de ADN a una copia complementaria de ARN e integra así la información que llega de vías que incluyen la insulina, factores de crecimiento (IGF-1 e IGF-2) y mitógenos (ver 36).

¿Cuáles son las dificultades en la implementación de ensayos clínicos en PKD?

Las dificultades en evaluar ensayos clínicos en PKD –una enfermedad de larga duración, y sin síntomas y con valores de laboratorio normales en etapas tempranas–, están relacionadas con el marcador de evolución que debe usarse como índice de respuesta a una intervención terapéutica. Y por el contrario y en etapas tardías de la evolución, donde actúan mecanismos inespecíficos de caída de la función renal, la bondad de un tratamiento específico podría ser difícil de evaluar. Uno de los desafíos es entonces encontrar un mar-

cador precoz de evolución cuando índices biológicos de progresión (filtrado glomerular, v.g.) son normales o levemente disminuidos y –además- comprobar si predicen la evolución posterior a la insuficiencia renal crónica. Uno de esos marcadores precoces utilizados actualmente en ensayos clínicos es el volumen renal. La problemática de cómo debe diseñarse un ensayo clínico en ADPKD puede esquematizarse en la Fig. 2.

Figura 2



Si se monitorea el crecimiento de los quistes durante una etapa de función renal normal, ¿será la evolución posterior de caída de la función renal como se ejemplifica en los óvalos superiores e inferiores? Es decir, a mayor crecimiento renal, ¿se comprobará luego mayor caída de la función renal? Esas preguntas han sido formuladas en el estudio CRISP<sup>(37)</sup>, donde fueron evaluados anualmente 241 pacientes y durante 3 años, con edad promedio de ~ 30 años y un clearance de yodo-talamato inicial de  $107 \pm 28$  ml/min. El volumen renal total basal fue de  $1076 \pm 670$  ml y aumentó con una curva exponencial durante los tres años de observación en un promedio de  $204 \pm 246$  ml. Si se compara la relación entre aumento de volumen renal y caída del filtrado glomerular en el grupo total, ambas variables se correlacionaban con volúmenes mayores a 1500 ml. Los datos, si bien contundentes, dejan dudas sobre si el monitoreo del volumen renal por resonancia magnética puede tomarse como un marcador de evolución posterior a insuficiencia renal crónica y justificar así el uso prolongado de alguna medicación costosa y con efectos secundarios. Seguimientos más prolongados seguramente traerán datos para aproximarse más a esta respuesta. De todos modos, este enfoque –como veremos- se está usando, al menos en

parte, en los ensayos clínicos actuales.

¿Qué ensayos clínicos específicos se han instrumentado o están en desarrollo en la actualidad?

En base a los dos grandes mecanismos expuestos –AMPc intracelular y activación de mTOR en células quísticas- se han iniciado ensayos clínicos que examinan la eficacia de distintas drogas que interfieren con algunas de las vías de señalización, como la rapamicina (sirolimus y everolimus), que inhibe la vía mTOR, de OPC-31260 que es un antagonista del receptor V2 de la vasopresina y el octeotride LAR, un análogo de la somatostatina. Todos ellos han disminuido la progresión de la enfermedad en modelos animales murinos de PKD, aunque hay que enfatizar que esos modelos no replican completamente la inactivación bialélica presente en PKD1 o PKD2 humanos. Los ensayos clínicos terminados y en marcha pueden consultarse en [www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov).

#### Inhibidores de mTOR

¿Cómo nace la idea de usar estos agentes para inhibir el crecimiento y la proliferación de las células quísticas? Hay que recordar que el origen de los tumores en general se basa en un proceso de múltiples pasos, donde las células “escapan” de las limitaciones que le imponen los mecanismos normales de regulación, por el nacimiento de mutaciones distintas y complementarias. Un proceso importante en el origen de los tumores es un aumento del tamaño celular que permite luego un aumento en el número de células. Por lo tanto, las células que proliferan deben mantener una coordinación fina entre crecimiento celular y progresión en el ciclo celular. mTOR regula ambos procesos a través de su capacidad para integrar señales intracelulares desde aminoácidos, energía y factores de crecimiento. Con estas propiedades, mTOR regula también la motilidad, la sobrevivencia, la síntesis proteica y la transcripción de ADN a una copia complementaria de ARN. Shillingford et al demostraron en el 2005 (38) que la “cola” citoplasmática de PC1 interactúa con la tuberina (Fig. 1), y que la vía mTOR está patológicamente activada en células quísticas de pacientes con poliquistosis renal y en modelos murinos; además, la rapamicina –inhibidor de mTOR- fue muy efectiva en reducir la cystogénesis renal en dos modelos murinos de PKD –el *orpk-rescue* que mimetiza el comienzo tardío de la enfermedad y el *bpk* que sirve como comienzo temprano<sup>(39)</sup>. También estos autores hicieron una observación preliminar en 7 pacientes trasplantados de riñón por insuficiencia

renal crónica debida a PKD y comprobaron que el grupo que recibió rapamicina como inmunosupresor mostró una disminución significativa del volumen renal de los riñones nativos, en contraste con los que no la recibieron. Estos resultados preliminares llevaron a usar inhibidores de mTOR en humanos y dos trabajos que usan everolimus y sirolimus han sido recientemente publicados. El primero, coordinado por Walz et al en la Universidad de Freiburg<sup>(40)</sup>, es un ensayo randomizado, doble ciego, controlado por placebo, de 2 años de duración, donde ~ 215 pacientes completaron el plan en cada rama. La dosis de everolimus fue de 2.5 mg dos veces por día, para alcanzar niveles plasmáticos (3 - 8 ng/ml) comparables a los usados en pacientes con trasplante renal. Los criterios clínicos de incorporación fueron diseñados teniendo en cuenta los resultados del estudio CRISP<sup>(37)</sup>, donde la correlación entre FG y volumen renal se manifestó a partir de volúmenes renales mayores de 1500 ml. Así, se incorporaron pacientes en estadios II o III de enfermedad renal crónica (i.e. FG estimado por MDRD entre 30 y 89 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>) o en estadio I (FG estimado 90 ml) con un volumen renal inicial de ~ 2000 ml. El resultado primario buscado fue el cambio en el volumen renal total, medido por resonancia magnética, y los resultados secundarios la variación del FG, creatinina plasmática, proteinuria y la incidencia de enfermedad de estadio final. Los resultados mostraron algo aparentemente contradictorio, especialmente durante el primer año, ya que aunque el tratamiento con everolimus disminuyó significativamente el aumento en el volumen renal total ( $p = 0.02$ ) como había sido descrito<sup>(41, 42)</sup>, este fenómeno se asoció a una mayor declinación del FG. Estos hallazgos indicarían que la disminución de la progresión del crecimiento de volumen no se acompaña necesariamente de mejoría de la función renal. Los autores ensayan algunas explicaciones para estos datos inesperados, como que –debido a que la cascada mTOR quinasa produce hipertrofia glomerular y mantiene el FG tras la pérdida de parénquima-, el everolimus podría inicialmente preservar la función renal, inhibiendo quizá el crecimiento de los quistes y luego revertir la hipertrofia glomerular y la hiperfiltración. La otra alternativa, sugerida por Grantham et al en una carta reciente, es que más de la mitad de los pacientes tratados con everolimus se encontraban en un estadio III o IV de enfermedad renal crónica y que quizá se había “pasado el punto de no retorno” en lo concerniente a mejoramiento de la función renal<sup>(43)</sup>. Por último, el uso de everolimus se asoció a una

elevada frecuencia de efectos secundarios, semejante a los observados en pacientes con trasplante renal. El segundo trabajo, coordinado por Serra et al en el Hospital Universitario de la Universidad de Zürich<sup>(44)</sup> es un ensayo randomizado, abierto, con 100 pacientes estudiados, de 18 meses de duración. La dosis de sirolimus fue de 2.0 mg/d. Los criterios clínicos de incorporación fueron también diseñados teniendo en cuenta los resultados del estudio CRISP. Es importante enfatizar, para compararlo con el estudio ya reseñado de Walz et al, que el 94% de los enrolados en el grupo experimental y el 98% de los enrolados en el grupo control mostraban un FG de 60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>. Se incorporaron pacientes entre 18 y 40 años con un clearance de creatinina estimado por la fórmula de Cockcroft-Gault > 70 ml/min. Se determinó el volumen renal al comienzo y 6 meses después y aquellos pacientes con un aumento de volumen mayor del 2% fueron asignados al azar a la medicación (con niveles entre 4 y 10 µg por litro) o al cuidado standard. Durante los 18 meses de observación, el volumen renal total aumentó en promedio 99 cm<sup>3</sup> en el grupo con sirolimus y 97 cm<sup>3</sup> en el grupo control. El FG no fue diferente en ambos grupos, pero la excreción urinaria de albúmina fue más elevada en el grupo con sirolimus.

La conclusión de que los inhibidores de mTOR no son benéficos en el tratamiento de ADPKD quizá sea todavía prematura. Como se dijo en la introducción de esta sección, los tiempos de seguimiento han sido demasiado cortos, con la sospecha –difícil de confirmar por los datos existentes- que el trabajo de Walz et al haya sido instrumentado “muy tarde” y el de Serra et al “muy temprano” en el curso de la enfermedad.

#### Inhibidores de vasopresina

Existen evidencias de que el bloqueo de vasopresina y la consiguiente disminución del AMPc intracelular retrasan la formación de quistes y el aumento del volumen renal y mejoran la función renal en cuatro modelos animales<sup>(31, 45, 46)</sup>. Actualmente se encuentra en desarrollo un estudio prospectivo (TEMPO Tolvaptan Efficacy and Safety in Management of Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease and Its Outcomes), multicéntrico, a doble ciego y controlado por placebo usando Tolvaptan, un antagonista selectivo del receptor V2 de vasopresina, que examinará a tres años en 1445 pacientes con ADPKD, enrolados entre Marzo 2007 y Enero 2009, la eficacia y la seguridad de este fármaco. La finalidad es disminuir el contenido intracelular de AMPc en túbulos distales del nefrón

que han sufrido transformación quística. Como es de esperar, el tratamiento disminuye la reabsorción de agua libre y causa una diabetes insípida nefrogénica parcial y aumento de la sed. Los volúmenes diarios de orina bajo Tolvaptan oscilaron entre 4 a 6 l, con diferentes dosis de 15/15, 30/0, 30/15 y 30/30 mg, según datos de un estudio preliminar de fase 2. TEMPO es el mayor ensayo en curso hasta la fecha en ADPKD. Los criterios de inclusión fueron de 50 años de edad, clearance de creatinina 60 ml/min y volumen renal total determinado por resonancia magnética 750 ml. El resultado primario a medir es el porcentaje de cambio del volumen renal total, en relación al volumen inicial, y los resultados secundarios son disminución de la función renal, control de la presión arterial, dolor renal y albuminuria. El volumen renal promedio de base fue de 1.46 litros y el clearance de creatinina de 105.34 ml por min. Los principales investigadores de este ensayo señalan también que esta población preseleccionada de ADPKD, con riesgos de progresión de la enfermedad puede no representar toda la población con la enfermedad y que si los resultados son positivos para el resultado primario será necesario medir los otros resultados secundarios para poder evaluar el beneficio final del fármaco. Es probable entonces, que en una enfermedad crónica y de larga duración como ADPKD, sea necesario un tiempo de observación más largo, ya que en el corto plazo la relación entre aumento de volumen y disminución de la función renal pueda no sea notoria<sup>(47)</sup>.

Otra estrategia alternativa razonable es –no inhibir la acción de la vasopresina– sino su secreción por una ingesta forzada de agua, mayor de la necesaria para calmar la sed. Se ha demostrado así que el aumento de la ingesta de agua en ratas PCK ejerce un efecto protector, probablemente por supresión de la secreción de vasopresina<sup>(32)</sup>, postulando la hipótesis atractiva de pensar al agua como agente terapéutico<sup>(48)</sup>. El modus operandi sería entonces calcular la ingesta de agua para garantizar una osmolalidad urinaria estable mínimamente por debajo de la plasmática e inhibir así totalmente la secreción de vasopresina<sup>(33, 49)</sup>. Esta hipótesis requiere experimentación futura.

#### Inhibidores de somatostatina.

La somatostatina actúa sobre un receptor de membrana y a través de su acción sobre la proteína Gi inhibe la producción de AMPc (Fig. 1). El octeotride es un análogo de la somatostatina y de acción prolongada que fue usado en un estudio de corta duración (6 meses) en pacientes con ADPKD, controlado por placebo

con entrecruzamiento de grupos y randomizado, fue administrado cada 28 días por vía intramuscular. El volumen renal aumentó menos en el grupo tratado (2.2% comparado con 5.9% del control), aunque el filtrado glomerular –medido por clearance de io-hexol– no fue diferente durante los dos períodos de tratamiento<sup>(50)</sup>. También se comprobaron resultados similares en un modelo murino de ARPKD, cuyas células quísticas contienen 2 veces más AMPc en comparación con los controles<sup>(51)</sup>. Además, 42 pacientes con poliquistosis hepática severa asociada o no a ADPKD participaron recientemente en un ensayo aleatorizado, doble ciego, controlado por placebo, que fueron tratados durante un año con octeotride de larga acción (hasta 40 mg cada 28 días). El fármaco fue bien tolerado, el volumen hepático disminuyó 5% en el grupo tratado y no cambió en el control. Entre los pacientes con ADPKD, el volumen renal permaneció sin cambios, mientras que en los controles aumentó 8%, sin efecto sobre el filtrado glomerular en ambos grupos<sup>(52)</sup>. Dos ensayos clínicos con octeotride se están realizando actualmente. Este fármaco tiene el atractivo de la aplicación intramuscular, el margen de menos efectos colaterales y la adherencia al tratamiento.

#### Inhibidores que inducen liberación de calcio

El triptolide es el diterpeno activo del Lei Gong Teng (Thunder God Vine), hierba de la medicina china tradicional. Ejemplo de los diterpenos es el taxadieno, precursor del taxol; los diterpenos también son la base de compuestos biológicamente importantes como el retinol, entre otros, que tienen propiedades antimicrobianas y anti-inflamatorias. Se ha demostrado en un modelo murino de ADPKD (Pkd1 flox/-;Ksp-Cre), que el triptolide disminuyó los niveles intracelulares de AMPc - a través de la estimulación de la fosfo-diesterasa e inhibición de la adenilato-ciclasa - por un mecanismo de liberación de Ca<sup>2+</sup> dependiente de PC2. También se ha comprobado disminución de la proliferación celular y de la formación de quistes mediante la restauración de la señalización de Ca<sup>2+</sup>. El tratamiento con triptolide mejoró significativamente la función renal al día 8 post-natal e inhibió las fases tempranas del crecimiento quístico<sup>(53, 54)</sup>. En este trabajo usaron un modelo de PKD1 “atenuado” (Pkd1 floxed inducible), donde la progresión del crecimiento de los quistes está disminuida. Además, aunque la delección de PKD1 en los días post-natales 10 y 11 llevó a la formación de numerosos quistes para el día 35, las inyecciones diarias de triptolide -comenzando en el día 16- redujeron significativamente el número

total de quistes por riñón. Por último, la función renal mejoró en los ratones tratados con triptolide<sup>(54)</sup>. No existen resultados de ensayos clínicos en humanos.

### Resumen y Conclusiones

Las ciliopatías —y entre ellas ADPKD— han resultado ser un problema biológico complejo, develado —y esto gracias al el gran servicio de la biología molecular— por las pistas que abrieron el descubrimiento de sus dos genes, PKD1 y PKD2. Los estudios en modelos animales han provisto evidencias muy convincentes de que el bloqueo de algunas de esas proteínas claves mejoran —a veces dramáticamente— la evolución de la enfermedad. Si bien esto se ha traducido en enfoques racionales de distintos ensayos clínicos, no se han obtenido resultados similares en humanos aún, probablemente por las dificultades en precisar la “etapa biológica” apropiada para su ensayo y por las consiguientes incertidumbres de cuándo comenzar y cómo evaluar las propuestas terapéuticas emergentes. Es importante continuar en esta etapa con el aporte de los nefrólogos, haciendo observaciones clínicas inesperadas en familias afectadas, diseñando con el paciente un control periódico y frecuente de su enfermedad, tratando todas las enfermedades crónicas intercurrentes con el mayor celo y evitando las situaciones nefrotóxicas. Todo este aporte de la comunidad médica será decisivo para imaginar nuevos tratamientos y aumentar la eficacia de los ensayos clínicos futuros, y disminuir así el ritmo de progresión de la enfermedad hasta niveles de función renal que eviten las terapias renales sustitutivas.

### Referencias

1. Qian F, Watnick TJ, Onuchic LF, et al. The molecular basis of focal cyst formation in human autosomal dominant polycystic kidney disease type 1. *Cell* 1996;87:979–987.
2. Pei Y, Watnick T, He N, et al. Somatic PKD2 mutations in individual kidney and liver cysts support a “two-hit” model of cystogenesis in type 2 autosomal dominant polycystic kidney disease. *J. Am. Soc. Nephrol* 1999;10:1524–1529.
3. Azurmendi P, Fraga A, Muchnik C et al. Progression of autosomal dominant polycystic kidney disease. Influence of endothelial NO synthase (eNOS) and renin angiotensin system gene polymorphisms. *Medicina (B Aires)* 2004; 64:139-142.
4. Lantinga-van Leeuwen IS, Leonhard WN, Van Der Wal A, et al. Kidney-specific inactivation of the Pkd1 gene induces rapid cyst formation in developing kidneys and a slow onset of disease in adult mice. *Hum. Mol. Genet* 2007;16:3188–3196.
5. Piontek K, Menezes LF, Garcia-Gonzalez MA, et al. A critical developmental switch defines the kinetics of kidney cyst formation after loss of Pkd1. *Nat. Med* 2007;13:1490–1495.
6. Iglesias DM, Martín RS, Fraga A et al. Iglesias D, Fraga AR, Arrizurieta E et al. Atrial myxoma in a woman with autosomal dominant polycystic kidney disease type 2. *Am J Kidney Dis* 1997;164-165.
7. Azurmendi PJ, Fraga AR, Galan FM et al. Early renal and vascular changes in ADPKD patients with low-grade albumin excretion and normal renal function. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24:2458-2463.
8. Manrique M, Arrizurieta EE, Kornblihtt AR et al. Autosomal dominant polycystic kidney disease: detection of a new mutation in the PKD1 gene. *Medicina (B Aires)* 1999;59:133-137.
9. Martín RS, Azurmendi PJ. Poliquistosis renal: todo ocurrió por un pelito. *Medicina (B Aires)* 2008; 68:390-392.
10. Nauli SM, Alenghat FJ, Luo Y, et al. Polycystins 1 and 2 mediate mechanosensation in the primary cilium of kidney cells. *Nat Genet* 2003;129–137.
11. Iglesias DM, Palmitano JA, Arrizurieta E et al. Isolated polycystic liver disease not linked to polycystic kidney disease 1 and 2. *Dig Dis Sci* 1999;385-388.
12. Davila S, Furu L, Gharavi AG et al. Mutations in SEC63 cause autosomal dominant polycystic liver disease. *Nat Genet* 2004; 36:575-577.
13. Torres VE, Harris PC, Pirson Y. Autosomal dominant polycystic kidney disease. *Lancet* 2007; 369:1287–1301.
14. Harris PC, Torres VE. Polycystic kidney disease. *Annu Rev Med.* 2009; 60:321-337.
15. Masoumi A, Reed-Gitomer B, Kelleher C, et al. Developments in the management of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Ther Clin Risk Manag* 2008;4:393–407.
16. Grantham JJ. Clinical practice. Autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 2008;359:1477–1485.
17. Torres VE, Harris PC. Autosomal dominant kidney disease: the last 3 years. *Kidney Int.* 2009; 76:149-168.
18. Chapin HC, Caplan MJ. The cell biology of polycystic kidney disease. *J Cell Biol.* 2010; 191: 701-710.
19. Pei Y. Practical genetics for autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nephron Clin Pract.* 2011;118:c19-30
20. Thivierge C, Kurbegovic A, Couillard M, et al. Overexpression of PKD1 causes polycystic kidney disease. *Mol Cell Biol* 2006; 26:1538–1548.
21. Park EY, Sung YH, Yang MH et al. Cyst formation in kidney via B-Raf signaling in the PKD2 transgenic mice. *J Biol Chem* 2009; 284:7214–7222.
22. Lu W, Peissel B, Babakhanlou H, et al. Perinatal lethality with kidney and pancreas defects in mice with a targeted Pkd1 mutation. *Nature Genet* 1997;17:179–181.
23. Lu W, Fan X, Basora N, et al. Late onset of renal and hepatic cysts in Pkd1-targeted heterozygotes. *Nature Genet* 1999;21:160–161.
24. Yamaguchi T, Pelling JC, Ramaswamy NT et al. cAMP stimulates the in vitro proliferation of renal cyst epithelial cells by activating the extracellular signal-regulated kinase pathway. *Kidney Int.* 2000;57:1460-1471
25. Sutters M, Yamaguchi T, Maser RL et al. Polycystin-1 transforms the cAMP growth-responsive phenotype of M-1 cells. *Kidney Int.* 2001; 60:484-494
26. Sullivan LP, Wallace DP, Gover T et al. Sulfonylurea-sensitive K(+) transport is involved in Cl(-) secretion and cyst growth by cultured ADPKD cells. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13:2619-2627.
27. Belibi FA, Wallace DP, Yamaguchi T et al. The effect of caffeine on renal epithelial cells from patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13:2723-2729.
28. Grantham JJ. Lillian Jean Kaplan International Prize for advancement in the understanding of polycystic kidney disease. Understanding polycystic kidney disease: a systems biology approach.



ach.

Kidney Int. 2003; 64:1157-1162.

29. Yamaguchi T, Wallace DP, Magenheimer BS, Hempson SJ, Grantham JJ, Calvet JP. Calcium restriction allows cAMP activation of the B-Raf/ERK pathway, switching cells to a cAMP-dependent growth-stimulated phenotype. *J Biol Chem.* 2004;279:40419-40430.

30. Yamaguchi T, Hempson SJ, Reif GA, Hedge AM, Wallace DP. Calcium restores a normal proliferation phenotype in human polycystic kidney disease epithelial cells. *J Am Soc Nephrol.* 2006;17:178-187.

31. Gattone VH, Maser RL, Tian C, Rosenberg JM, Branden MG: Developmental expression of urine concentration-associated genes and their altered expression in murine infantile-type polycystic kidney disease. *Develop Gen* 1999;24: 309–318.

32. Nagao S, Nishii K, Katsuyama M et al. Increased water intake decreases progression of polycystic kidney disease in the PCK rat. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 2220–2227.

33. Grantham JJ. Therapy for polycystic kidney disease? It's water, stupid. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19:1-7

34. Torres VE. Role of vasopressin antagonists. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2008;3:1212-1218.

35. Alberts, Bray, Hopkin et al. *Introducción a la Biología Celular.* 2da Edición, 2006, Editorial Médica Panamericana, Madrid

36. Julien L-A, Roux PP. mTOR, la cible fonctionnelle de la rapamycine. *Med Sci (Paris)* 2010 ; 26 : 1056–1060

37. Grantham JJ, Torres VE, Chapman AB et al. Volume progression in polycystic kidney disease. *New Eng J of Med* 2006; 354:2122-2130

38. Shillingford JM, Murcia NS, Larson CH, 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.* 2005; 103: 5466-5471.

39. Shillingford JM, Piontek KB, Germino GG, Weimbs T. Rapamycin ameliorates PKD resulting from conditional inactivation of Pkd1. *J Am Soc Nephrol.* 2010; 21:489-497.

40. Walz G, Budde K, Mannaa M et al. Everolimus in patients with autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 2010; 363:830-840.

41. Torres VE, Boletta A, Chapman A et al. Prospects for mTOR inhibitor use in patients with polycystic kidney disease and hamartomatous diseases. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010; 5:1312-1329.

42. Perico N, Antiga L, Caroli A, et al. Sirolimus therapy to halt the progression of ADPKD. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:1031-1040

43. Grantham JJ, Bennett WM, Perrone RD. mTOR Inhibitors and Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease. *N Engl J Med* 2011; 364:286-289.

44. Serra AL, Poster D, Kistler AD et al. Sirolimus and kidney growth in autosomal dominant polycystic kidney disease. *N Engl J Med.* 2010; 363:820-829.

45. Gattone VH, Wang X, Harris PC, Torres VE. Inhibition of renal cystic disease development and progression by a vasopressin V2 receptor antagonist. *Nature Med* 2003; 9: 1323–1326.

46. Torres VE, Wang X, Qian Q, et al. Effective treatment of an orthologous model of autosomal dominant polycystic kidney disease. *Nat Med* 2004;10:363–364.

47. Torres VE, Meijer E, Bae KT et al. Rationale and Design of the TEMPO (Tolvaptan Efficacy and Safety in Management of Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease and Its Outcomes) 3-4 Study.

*Am J Kidney Dis.* 2011 Feb 16. [Epub ahead of print]

48. Torres VE, Bankir L, Grantham JJ. A case for water in the treatment of polycystic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009; 4:1140-1150.

49. Wang CJ, Creed C, Winklhofer FT, Grantham JJ. Water prescription in autosomal dominant polycystic kidney disease: a pilot study. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2011;6:192-197.

50. Ruggenenti P, Remuzzi A, Ondei P, et al. Safety and efficacy of long-acting somatostatin treatment in autosomal-dominant polycystic kidney disease. *Kidney Int* 2005;68:206–216.

51. Masyuk TV, Masyuk AI, Torres VE, et al. Octreotide inhibits hepatic cystogenesis in a rodent model of polycystic liver disease by reducing cholangiocyte adenosine 3',5'-cyclic monophosphate. *Gastroenterology* 2007;132:1104–1116.

52. Hogan MC, Masyuk TV, Page LJ et al. Randomized clinical trial of long-acting somatostatin for autosomal dominant polycystic kidney and liver disease. *J Am Soc Nephrol.* 2010;21:1052-1061.

53. Leuenroth SJ, Bencivenga N, Igarashi P, et al. Triptolide reduces cystogenesis in a model of ADPKD. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:1659–1662.

54. Leuenroth SJ, Bencivenga N, Chahboune H, Hyder F, Crews CM. Triptolide reduces cyst formation in a neonatal to adult transition Pkd1 model of ADPKD. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25:2187-2194.

---

Recibido en forma original:14 de abril de 2011

En su forma corregido: 25 de abril de 2011

Aceptación Final: 03 de mayo de 2011

Dr. Rodolfo S. Martín

Servicio de Nefrología, Centro Académico de Salud, Universidad Austral. Sección de Riñón Experimental, Instituto de Investigaciones

Médicas Dr. Alfredo Lanari, UBA

e-mail martin@cas.austral.edu.ar