

EDITORIAL

Metabolismo de fosfolípidos y función renal

F. Navarro, F. Manzano y P. Esbrit

Laboratorio de la Unidad Metabólica. Fundación Jiménez Díaz.
Avda. Reyes Católicos, 2. 28040 Madrid.

Palabras clave: **Fosfolípidos. Fosfatidilinositol. Fostatidilcolina. Función renal. Transporte iónico.**

Introducción

Los fosfolípidos constituyen más de la mitad de los lípidos renales. Forman la barrera de permeabilidad celular y juegan un importante papel regulador de la actividad de enzimas ligadas a la membrana. En este trabajo queremos exponer los conocimientos actuales sobre la relación existente entre el metabolismo de fosfolípidos y la función renal.

Metabolismo del fosfatidilinositol

El fosfatidilinositol (PI) y sus derivados fosforilados, el fosfatidilinositol 4-fosfato (DPI) y el fosfatidilinositol 4,5-difosfato (TPI), son componentes minoritarios de los fosfolípidos constituyentes de las membranas celulares. El creciente interés en estos fosfolípidos radica en que un gran número de agonistas, entre los que se encuentran varias hormonas y neurotransmisores, estimulan su metabolismo en distintos tejidos (fig. 1). La acción de estos agonistas parece estar relacionada con la movilización del calcio, la activación de la proteína quinasa C, la liberación de ácido araquidónico y/o la estimulación de la guanilatociclasa¹⁻³. Sin embargo, el papel de los fosfoinosítidos en el mecanismo de acción agonista no está aún totalmente dilucidado.

Existen cuatro hipótesis sobre el mecanismo por el cual cambios en el metabolismo del PI pueden afectar a la distribución intracelular del calcio. La primera supone que alteraciones en la composición de los fosfolípidos de la membrana inducen un cambio conformacional en una proteína de transporte de calcio, alterando su actividad⁴⁻⁶. Otra hipótesis sugiere que el diacilglicerol producido por la acción de la fosfolipasa C sobre los fosfoinosítidos estimula una proteína quinasa tipo C capaz de fosforilar una proteína de membrana implicada en el transporte de calcio⁷. En la tercera hipótesis, el ácido fosfatídico (PA) procedente del PI tras la respuesta del agonista actúa como un ionóforo del calcio en la membrana^{8,9}. La última hipótesis establece que la hidrólisis de los polifosfo-

inosítidos genera algún producto con capacidad para movilizar el calcio². Por otra parte, se ha sugerido que el metabolismo de los fosfoinosítidos podría ser un mecanismo a través del cual se alterarían la fluidez y los componentes funcionales de la membrana^{4,10}.

Hasta ahora se han realizado pocos estudios sobre la acción de agonistas renales que impliquen a los fosfoinosítidos. Sin embargo, la observación de que su metabolismo es muy rápido en el riñón sugiere un papel funcional de los fosfoinosítidos en este órgano¹¹.

La reabsorción tubular renal está regulada en parte por diversas hormonas a través de cambios en la permeabilidad del túbulo. Es lógico suponer que alteraciones en el metabolismo fosfolipídico podrían mediar esos cambios. De hecho, se han caracterizado fosfolipasas específicas para el PI y para los polifosfoinosítidos en corteza renal de rata^{12,13}. Además, se ha encontrado actividad de proteína quinasa dependiente de AMPc en el citosol y en membranas procedentes de corteza renal de varias especies^{14,15}. Esta actividad enzimática parece modular el efecto fosfatúrico de la parathormona (PTH)^{16,17}.

Estudios realizados por Farese y cols.¹⁸ han demostrado que la ACTH, «in vivo» e «in vitro», estimula la síntesis de la glándula adrenal. La acción primaria de la hormona parece ser sobre la síntesis «de novo» del PA, por un mecanismo dependiente de calcio y de AMPc, sensible a cicloheximida^{19,20}. Otros agonistas adrenales que estimulan la síntesis de aldosterona, como la angiotensina II y el K⁺, también aumentan la síntesis «de novo» de estos fosfolípidos, a través de la movilización del calcio intracelular²¹. El efecto de estos agonistas sobre la síntesis de fosfolípidos parece estar relacionado con su acción esteroideogénica.

La PTH ejerce un efecto similar sobre la síntesis «de novo» de fosfolípidos en la corteza renal. Lo y cols.²² han mostrado un rápido aumento en la incorporación de ³²P en el PA y en el PI, al incubar fragmentos de corteza renal con esta hormona. Bidot-López y cols.²³ han encontrado un aumento de la

síntesis neta de PA y de los polifosfoinosítidos en corteza renal de conejo estimulada con PTH. Sin embargo, el papel del AMPc como mediador hormonal es controvertido en este sistema^{23, 24}. Experimentos recientes, utilizando membranas basolaterales aisladas de corteza renal canina, han mostrado que la PTH produce una rápida estimulación de la fosforilación del PA y de los derivados fosforilados del PI, independiente del calcio y del AMPc²⁵. La hormona tampoco parece afectar la actividad de la glicerol 3-fosfato aciltransferasa, enzima implicada en la síntesis «de novo» del PA²⁶. Por otra parte, la administración «in vivo» de PTH estimula la captación de calcio y la síntesis de fosfolípidos ácidos en vesículas de membranas de borde en cepillo aisladas de corteza renal²⁷. Estos resultados sugieren que los efectos de la PTH sobre el metabolismo de los fosfoinosítidos podrían constituir un mecanismo de modulación del transporte de calcio en el túbulo renal²⁸. Por otra parte, modificaciones en el metabolismo de fosfolípidos del ciclo del PI se han asociado con el transporte activo de Na⁺²⁹ y con la actividad nefrotóxica de ciertas drogas³⁰.

Todos estos hechos parecen indicar que el metabolismo de los fosfoinosítidos juega un papel regulador de la secreción y reabsorción tubular renales²⁵. Sin embargo, es necesario intensificar las investigaciones para ratificar algunas de las hipótesis aquí expuestas.

Metabolismo de la fosfatidilcolina

La fosfatidilcolina (PC), el fosfolípido más abundante en membranas renales, puede biosintetizarse por dos vías diferentes: la ruta de Kennedy o de la transcolinación y la ruta de Bremen o de la transmetilación (fig. 1). La ruta de Kennedy, a partir de colina, es la principal vía de síntesis de PC. En el tejido renal, la colina del plasma se transporta activamente hacia el interior de la célula, donde entra en la ruta de Kennedy para su incorporación en fosfolípidos o sufre un proceso de oxidación en la mitocondria. La colina destinada a fosfolípidos es fosforilada por la enzima citosólica, colina quinasa, a expensas de ATP. El producto de esta reacción, la fosforilcolina, reacciona con CTP para dar CDP-colina, en presencia de la fosfocolina citidiltransferasa, una enzima fundamentalmente citosólica. Finalmente, el resto de fosfato de colina de la CDP-colina es transferido al 1,2-diacilglicerol, en una reacción catalizada por la CDP-colina: 1,2-diacilglicerol fosfocolinatransferasa, en la superficie citosólica del retículo endoplásmico³¹.

La otra vía de síntesis de PC consiste en la adición secuencial de tres grupos metilo procedentes de la S-adenosil-L-metionina al resto amino de la fosfatidi-

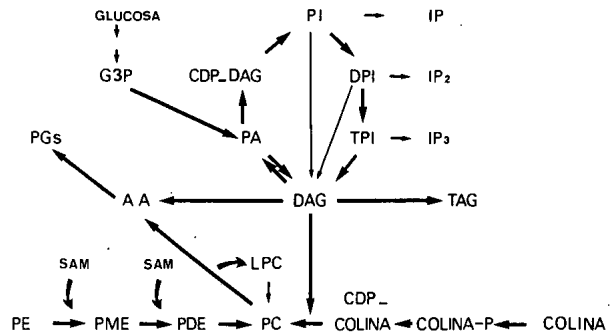


Fig. 1.—Metabolismo de fosfolípidos. G3P, glicerol 3-fosfato; PA, ácido fosfatídico; CDP-DAG, citidinadifosfato-diacilglicerol; PI, fosfatidilinositol; DPI, fosfatidilinositol 4-monofosfato; TPI, fosfatidilinositol 4,5-difosfato; IP, inositol monofosfato; IP₂, inositol difosfato; IP₃, inositol trifosfato; DAG, 1,2-diacilglicerol; TAG, triacilglicerol; PE, fosfatidiletanolamina; PME, fosfatidil-N-monometiletanolamina; PDE, fosfatidil-N,N-dimetiletanolamina; PC, fosfatidilcolina; LPC, lisofosfatidilcolina; CDP-COLINA, citidinadifosfocolina; COLINA-P, fosfocolina; AA, ácido araquidónico; PGs, prostaglandinas; SAM, S-adenosil-L-metionina.

letanolamina. La enzima que cataliza esta reacción es la fosfolípido N-metiltransferasa, localizada principalmente en la fracción microsomal^{32, 33}. La fosfatidil-N-monometiletanolamina y la fosfatidil-N,N-dimetiletanolamina son productos intermedios de esta reacción. En el hígado, donde esta ruta contribuye con más de 20 % a la PC total sintetizada, la transmetilación está regulada por una gran variedad de agonistas^{32, 33}. En riñón, donde la transmetilación parece ser cuantitativamente poco importante, esta vía podría jugar un papel en la regulación de los procesos de transporte iónico tubular a través de un mecanismo independiente de hormonas peptídicas³⁴⁻³⁶. De cualquier modo, la PC recién sintetizada en el retículo endoplásmico es rápidamente incorporada a membranas³¹.

La PC puede ser deacilada a lisofosfatidilcolina (LPC) por la acción de las fosfolipasas A₁ y A₂, que actúan sobre la unión éster de los ácidos grasos a los átomos 1 y 2 del glicerol, respectivamente. La acción fosfolipásica sobre la PC y la rápida reacilación de su producto, la LPC, por acción de la acil-CoA: lisofosfatidil aciltransferasa, determina una elevada velocidad de recambio de restos ácidos grasos de la PC^{37, 38}. Uno de estos ácidos grasos, el ácido araquidónico, es un precursor de prostaglandinas y tromboxanos³⁹. Se ha descrito que la inhibición de la fosfolipasa A₂ bloquea el transporte transepitelial de Na⁺⁴⁰. Recientemente se ha sugerido que la actividad fosfolipásica en la médula renal podría estar regulada por un mecanismo que implica la transferencia de grupos metilo de la S-adenosil-L-metionina⁴¹.

Los mecanismos que regulan el metabolismo renal de la PC se han estudiado en diversas situaciones en

que se estimula el crecimiento de las células renales³¹. Se conoce que la reducción de la masa renal funcionante tanto en el hombre como en animales conduce inmediatamente a una serie de mecanismos de adaptación que tienen como objeto restaurar la función renal en un breve período de tiempo. Las alteraciones inducidas por estos mecanismos de adaptación se traducen en cambios metabólicos, morfológicos y funcionales en el tejido renal remanente^{42, 43}. Existe evidencia de que el desencadenante de estas alteraciones secundarias a una disminución de masa renal es un (o varios) factor(es) de tipo humoral aún sin identificar⁴⁴.

Diversos estudios han mostrado que el aumento de síntesis de PC es una de las respuestas más precoces a un estímulo del crecimiento celular renal, que precede incluso a la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos³¹. En experimentos «in vitro», utilizando corteza renal de ratón, se ha observado un aumento de incorporación de (¹⁴C-metil)colina en PC, LPC y esfingomielina, detectable a los cinco minutos y mantenido durante varios días después de una nefrectomía unilateral (uN)⁴⁵. Algo similar ocurre en la rata.

Nosotros, utilizando túbulos aislados de corteza renal canina, hemos observado un aumento en la síntesis de PC por la ruta de Kennedy, a partir de dos horas y máxima a las veinticuatro horas tras la uNX. Sin embargo, no hemos detectado variaciones significativas en la transmetilación hasta dos semanas tras la uNX⁴⁶. Nuestros resultados sugieren que la transmetilación no juega un papel regulador de la síntesis de PC en la hipertrofia renal compensadora. Por otra parte, otros fosfolípidos podrían también estar implicados en los mecanismos de proliferación celular renal, como ocurre en otros sistemas⁴⁷⁻⁴⁹.

En conclusión, estos estudios sugieren que los fosfolípidos pueden actuar como reguladores del crecimiento y función renales. El futuro de la investigación en este campo debería, pues, orientarse hacia la clarificación de los mecanismos por los que estas moléculas ejercen su acción reguladora. Este conocimiento ayudaría a comprender la patofisiología de diversas situaciones clínicas manifiestas por una disminución de la función renal.

Bibliografía

1. Michell RH: Inositol phospholipids and cell surface receptor function. *Biochim Biophys Acta* 415:81-147, 1975.
2. Berridge MJ: Inositol trisphosphate and diacylglycerol as second messengers. *Biochem J* 220:345-360, 1984.
3. Farese RV: Phospholipids as intermediates in hormone action. *Mol Cell Endocrinol* 35:1-14, 1984.
4. Michell RH: Inositol phospholipids in membrane function. *Trends Biochem Sci* 4:128-131, 1979.
5. Choquette D, Hakim G, Filoteo AG, Plishker GA, Bostwick JR y Penniston JT: Regulation of plasma membrane Ca²⁺-ATPases by lipids of the phosphatidylinositol cycle. *Biochim Biophys Res Commun* 125:908-915, 1984.
6. Montecucco C, Bisson R, Dabbeni-Sala F, Pitotti A y Gutwagner H: Interaction of the mitochondrial ATPase complex with phospholipids. *J Biol Chem* 255:10040-10043, 1980.
7. Nishizuka Y: Phospholipid degradation and signal translation for protein phosphorylation. *Trends Biochem Sci* 8:713-716, 1983.
8. Putney JW Jr, Weiss SJ, Van de Walle CM y Haddas RA: Is phosphatidic acid a calcium ionophore under neurohormonal control? *Nature* 284:345-347, 1980.
9. Somermeyer MG, Knauss TC, Weinberg JM y Humes HD: Characterization of Ca²⁺ transport in rat renal brush-border membranes and its modulation by phosphatidic acid. *Biochem J* 214:37-46, 1983.
10. Hawthorne JN: Is phosphatidylinositol now out of the calcium gate? *Nature* 295:281-282, 1982.
11. Wirthensohn G, Lefrank S y Guder WG: Phospholipid metabolism in rat kidney cortical tubules. *Biochim Biophys Acta* 795:392-410, 1984.
12. Schwertz DW, Kreiberg JJ y Venkatachalam MA: Characterization of rat kidney proximal tubule brush border membrane-associated phosphatidylinositol phosphodiesterase. *Arch Chim Biophys* 227:91-97, 1983.
13. Tou JS, Hurst MW, Baricos WH y Huggins CG: The hydrolysis of triphosphoinositide by a phosphodiesterase in rat kidney cortex. *Arch Biochim Biophys* 154:593-600, 1973.
14. George ER, Balakir RA, Filburn ChR y Sacktor B: Cyclic adenosine monophosphate-dependent and -independent protein kinase activity of renal brush border membranes. *Arch Biochim Biophys* 180:429-443, 1977.
15. Noland TA Jr y Henry HL: Protein phosphorylation in chick kidney. *J Biol Chem* 258:538-546, 1983.
16. Hammerman MR y Hruska KA: Cyclic AMP-dependent protein phosphorylation in canine renal brush-border membrane vesicles is associated with decreased phosphate transport. *J Biol Chem* 257:992-999, 1982.
17. Hammerman MR, Cohn DE, Tamayo J y Martin KJ: Effect of parathyroid hormone on Na⁺-dependent phosphate transport and cAMP-dependent ³²P phosphorylation in brush border vesicles from isolated perfused canine kidneys. *Arch Biochim Biophys* 227:91-97, 1983.
18. Farese RV, Sabir MA y Larson RE: On the mechanism whereby ACTH and cyclic AMP increase adrenal polyphosphoinositides. *J Biol Chem* 255:7232-7237, 1980.
19. Farese RV, Sabir MA y Larson RE: Comparison of changes in inositide and noninositide phospholipids during acute and prolonged adrenocorticotrophic hormone treatment in vivo. *Biochemistry* 21:3318-3321, 1982.
20. Farese RV, Sabir MA y Larson RE: Adrenocorticotropin and adenosine 3', 5'-monophosphate stimulate «de novo» synthesis of adrenal phosphatidic acid by a cycloheximide-sensitive, Ca²⁺-dependent mechanism. *Endocrinology* 109:1895-1901, 1981.
21. Farese RV, Larson RE, Sabir MA y Gómez-Sánchez CE: Effects of angiotensin II, K⁺, adrenocorticotropin, serotonin, adenosine 3', 5'-monophosphate, guanosine 3', 5'-monophosphate, A23187, and EGTA on aldosterone synthesis and phospholipid metabolism in the rat adrenal glomerulosa. *Endocrinology* 113:1377-1386, 1983.
22. Lo H, Lehotay DC, Katz D y Levey GS: Parathyroid hormone-mediated incorporation of ³²P-orthophosphate into phosphatidic acid and phosphatidylinositol in renal cortical slices. *Endocr Res Commun* 3:377-385, 1976.
23. Bidot-López P, Farese RV y Sabir MA: Parathyroid hormone and adenosine-3', 5'-monophosphate acutely increase phospholipids of the phosphatidate-polyphosphoinositide pathway in rabbit kidney cortex tubules «in vitro» by a cy-

- cloheximide-sensitive process. *Endocrinology* 108:2078-2081, 1981.
24. Melter V, Weinreb S, Bellorin-Font E y Hruska KA: Parathyroid hormone stimulation of renal phosphoinositide metabolism is a cyclic nucleotide independent effect. *Biochim Biophys Acta* 712:258-267, 1982.
 25. Esbrit P y Hruska KA: Parathyroid hormone stimulates phospholipid phosphorylation and turnover in basolateral membranes of renal tubular cells in vitro. *Kidney Int* 23:98A, 1983.
 26. Navarro F y Esbrit P: Effects of parathormone on «de novo» synthesis of renal phospholipids. Comunicación personal al 13 Congreso Internacional de Bioquímica. Amsterdam, agosto 1985.
 27. Khalifa S, Mills S y Hruska KA: Stimulation of calcium uptake by parathyroid hormone in renal brush-border membrane vesicles. *J Biol Chem* 258:14400-14406, 1983.
 28. Klahr S y Hruska KA: Effects of parathyroid hormone on the renal reabsorption of phosphorus and divalent cations. En WA Peck Ed. *Bone and mineral research, annual 2*. Elsevier Science Publishers BV, pp. 65-124, Amsterdam 1984.
 29. Akhtar RA y Abdel-Latif AA: Effects by Na⁺, Ca²⁺ and acetylcholine on phosphoinositide- and ATP-phosphate turnover in ³²P-labeled rabbit iris smooth muscle. *J Neurochem* 39:1374-1380, 1982.
 30. Knauss TC, Weinberg JM y Humes HD: Alterations in renal cortical phospholipid content induced by gentamicin: time course, specificity and subcellular localization. *Am J Physiol* 244:F535-F546, 1983.
 31. Toback FG: Phosphatidylcholine metabolism during renal growth and regeneration. *Am J Physiol* 246:F249-F259, 1984.
 32. Mato JM y Alemany S: What is the function of phospholipid N-methylation? *Biochem J* 213:1-10, 1983.
 33. Audubert F y Vance DE: Pitfalls and problems in studies on the methylation of phosphatidylethanolamine. *J Biol Chem* 258:10695-10701, 1983.
 34. Wirthensohn G y Guder WG: Renal lipid metabolism. *Mineral Electrolyte Metab* 9:203-211, 1983.
 35. Manzano F, Esbrit P, López-Arrabe C, Tejedor A y López-Novoa JM: Caracterización de líquido metiltransferasa(s) en túbulos de corteza renal. *Nefrología* (en prensa).
 36. Chauhan VPS y Kalra VK: Effect of phospholipid methylation on calcium transport and (Ca²⁺+Mg²⁺)-ATPase activity in kidney cortex basolateral membranes. *Biochim Biophys Acta* 727:185-195, 1983.
 37. Irvine RF: How is the level of arachidonic acid controlled in mammalian cells? *Biochem J* 204:3-16, 1982.
 38. Daniel LW, King K y Waite M: Source of arachidonic acid for prostaglandin synthesis in Madin-Darby canine kidney cells. *J Biol Chem* 256:12830-12835, 1981.
 39. Dunn MJ y Hood VL: Prostaglandins and the kidney. *Am J Physiol* 233:F169-F184, 1977.
 40. Yorio T y Bentley PJ: Phospholipase A and the mechanism of action of aldosterone. *Nature* 271:79-81, 1978.
 41. Craven PA y Derubertis FR: Phospholipid methylation in the calcium-dependent release of archidonate for prostaglandin synthesis in renal medulla. *J Lab Clin Med* 104:480-493, 1984.
 42. Fleck Ch y Braunlich H: Kidney function after unilateral nephrectomy. *Exp Path* 25:3-18, 1984.
 43. López-Novoa JM, Ramos B, Martín-Oar JE y Hernando L: Functional compensatory changes after unilateral nephrectomy in rats. *Renal Physiol* 5:76-84, 1982.
 44. Austin H III, Goldin H y Preuss HG: Humoral regulation of renal growth. *Nephron* 27:163-170, 1981.
 45. Toback FG, Smith PD y Lowenstein LM: Phospholipid metabolism in the initiation of renal compensatory growth after acute reduction of renal mass. *J Clin Invest* 54:91-97, 1974.
 46. Manzano P, Esbrit P, Castilla C y Rapado A: Metabolismo de la fosfatidilcolina en túbulos aislados de corteza renal canina durante la hipertrofia renal compensadora. Comunicación a la XVII Reunión Nacional de la Soc Esp de Nefrología. Las Palmas de Gran Canaria, octubre 1985.
 47. Michell RH: Inositol lipid metabolism in dividing cells. *Cell Calcium* 3:429-440, 1982.
 48. Brown KD, Blay J, Irvine RF, Heslop JP y Berridge MJ: Reduction of epidermal growth factor receptor affinity by heterologous ligands: evidence for a mechanism involving the breakdown of phosphoinositides and the activation of protein kinase C. *Biochim Biophys Res Commun* 123:377-384, 1984.
 49. Crews FT y Heiman AS: Interaction of phospholipid methylation and phosphatidylinositol metabolism in stimulation of secretion. En: LA Horrocks y cols (ed): *Phospholipids in the nervous system, vol. 2: Physiological roles*, pp. 87-98. Raven-Press. New York 1985.