

# Evolución de la amiloidosis $\beta$ 2-microglobulina después del trasplante renal

A. Argilés<sup>1,3</sup> y G. Mourad<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Centre de Recherche en Biochimie Macromoléculaire (CRBM). CNRS LP 9008-INSERM Unit 249. University of Montpellier I.

<sup>2</sup>Department of Nephrology. University Hospital Lapeyronie. <sup>3</sup>Association pour l'Installation à Domicile des Epurations Rénales (AIDER).

## INTRODUCCION

Desde las primeras descripciones clínicas de la amiloidosis  $\beta$ 2-microglobulina, se sabe que tiene una predilección por tendones, articulaciones y huesos<sup>1</sup>. Por ello, la amiloidosis  $\beta$ 2-microglobulina, aunque no afecte exclusivamente al hueso y tenga incluso una distribución sistémica reconocida<sup>2</sup>, se puede incluir de pleno derecho entre las formas de patología ósea observadas en el paciente trasplantado renal. El estudio de la amiloidosis  $\beta$ 2-microglobulina en el paciente trasplantado tiene además un doble interés. Por un lado el interés clínico del análisis de la evolución del paciente y su morbilidad. Pero al menos tan importante como el interés clínico, la amiloidosis  $\beta$ 2-microglobulina en el paciente trasplantado renal representa un modelo fisiopatológico de excepción para el estudio de dicha enfermedad. Si se considera la insuficiencia renal como la causa de la amiloidosis  $\beta$ 2-microglobulina, la existencia de un trasplante renal funcionando lleva consigo la erradicación de los factores determinantes de la aparición de la enfermedad. En caso de prolongarse el trasplante renal, la evolución clínica y biológica de la amiloidosis  $\beta$ 2-microglobulina nos puede informar sobre su etiopatogenia y las características fisicoquímicas de su lesión anatomopatológica, y más concretamente sobre su posible regresión.

En lo que respecta a la amiloidosis en general, se ha creído durante largo tiempo que los depósitos amiloides no son resorbibles<sup>3</sup>. Sin embargo, existen algunos casos clínicos que sugieren que en caso de desaparición del estímulo responsable de la enfermedad, podría haber una disolución de los depósitos<sup>4-8</sup>. Recientemente, el grupo de Pepys en el Hammersmith Hospital ha publicado un trabajo en el que se sugiere la existencia de la redisolución de los depósitos amiloides en la amiloidosis  $\beta$ 2-microglobu-

lina después del trasplante renal<sup>9</sup>. Los resultados publicados por este grupo no han sido confirmados por otros investigadores, y por tanto existe una controversia en cuanto a la resorción de los depósitos amiloides en la amiloidosis  $\beta$ 2-microglobulina en los pacientes trasplantados<sup>10</sup>. Varios grupos han observado la persistencia de los mismos muchos años después de la obtención de una función renal correcta sugiriendo que la resorción de existir, debe ser muy, muy lenta<sup>11</sup>.

En el presente resumen vamos a comentar tres trabajos cuyo objetivo fue analizar la posible disolución de los depósitos amiloides. El análisis incluye tres niveles: clínico (con el estudio de la evolución de la amiloidosis  $\beta$ 2-microglobulina durante el trasplante renal)<sup>12</sup> bioquímico (con los experimentos de disolución de fibrillas amiloides purificadas *in vitro*)<sup>13</sup> y celular (con el estudio ultraestructural y marcaje celular y proteico)<sup>14,15</sup>.

## PACIENTES I METODOS

### 1. Estudio de la evolución clínica de la amiloidosis $\beta$ 2-microglobulina durante el trasplante renal

Se estudiaron 17 pacientes con diagnóstico histológico de amiloidosis  $\beta$ 2-microglobulina, que fueron posteriormente trasplantados y que disfrutaron de una buena función renal del trasplante con una creatinina < 200 mmol/l antes de los dos meses y un período sin diálisis superior a un año (tabla I).

Los pacientes se dividieron en dos grupos según que el trasplante funcionara (grupo I, N = 10) o no (grupo II, N = 7) en el momento del estudio. Las va-

**Tabla I.** Características de los pacientes

Número y distribución de sexos	17 total	14H/3M
Edad en diálisis	44,9	(29-61)
Edad en el momento del trasplante	58,8	(45-70)
Síntomas de amiloidosis $\beta$ 2-microglobulina		
Canal carpiano	15	
Quistes óseos	17	
Dolor en el hombro	12	

Correspondencia: Dr. A. Argilés

Centre de Recherche en Biochimie Macromoléculaire (CRBM). CNRS LP 9008-INSERM Unit 249. University of Montpellier I. Association pour l'Installation à Domicile des Epurations Rénales (AIDER).

riables analizadas fueron: la necesidad de cirugía (síndrome del canal carpiano o quiste óseo), número y talla de los quistes óseos a la radiografía del carpo, húmero y caderas, así como el dolor de la articulación escápulo-humeral (gradación de 0 a 4: ausencia de dolor, dolor soportable sin tratamiento, dolor necesitando analgésicos esporádicamente, tratamiento con anti-inflamatorios no esteroideos, dolor induciendo insomnio o depresión).

## 2. Estudios *in vitro* de la resorción de las fibrillas amiloides

Las fibrillas amiloides se prepararon siguiendo las técnicas publicadas anteriormente, sea con una precipitación con ácido tricloroactético (TCA)<sup>16</sup> o por solubilización diferencial en tampón fosfato<sup>17</sup>. Los depósitos así preparados se sometieron a la acción de las proteasas tal y como se ha descrito precedentemente<sup>13</sup>.

También se estudió la acción de protección de la a-2 macroglobulina sobre la degradación de las proteínas inducida por la tripsina tal y como se ha publicado anteriormente<sup>14</sup>.

## RESULTADOS

Los resultados clínicos se resumen en las figuras 1 a 3. En primer lugar, se observó una clara mejoría clínica. En la figura 1 se ilustra la rigidez del hombro. Se puede observar como después del trasplante existe una mejoría clara en los dos grupos estudiados, y además se puede ver que en el grupo que tuvo que ser tratado de nuevo con diálisis, la sintomatología reapareció con la misma intensidad que antes del trasplante.

En segundo lugar, la radiología no ilustró ningún cambio ni mejoría durante el período de trasplante. Una tendencia a empeorar se puso de manifiesto en el grupo II cuando se trató de nuevo a los pacientes con diálisis; tendencia que no fue significativa (fig. 2).

El estudio del período libre sin manifestaciones evidentes de amiloidosis  $\beta$ 2-microglobulina muestra un hecho interesante. La probabilidad de tener una manifestación de amiloidosis  $\beta$ 2-microglobulina durante el primer período, fue similar para los dos grupos. Siendo de 50 % entre 130 y 140 meses. En cambio, en el grupo II que tuvo que ser tratado con diálisis después de un período medio de trasplante de > 40 meses, la probabilidad 50% se observó antes de los 10 meses (fig. 3).

Los estudios *in vitro* nos permitieron observar que las fibrillas amiloides se pueden resorber por la ac-

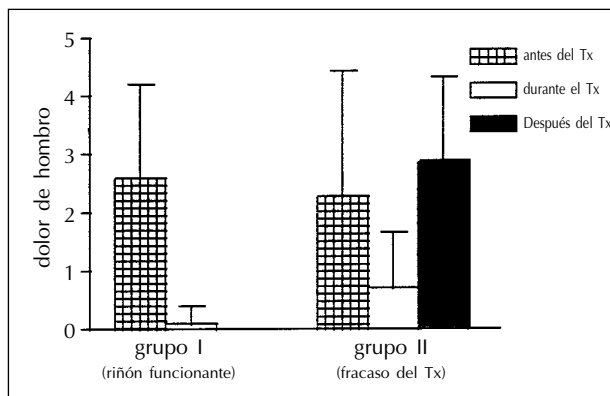


Fig. 1.

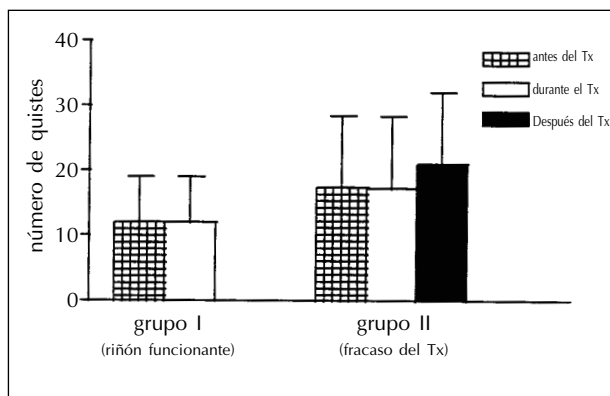


Fig. 2.

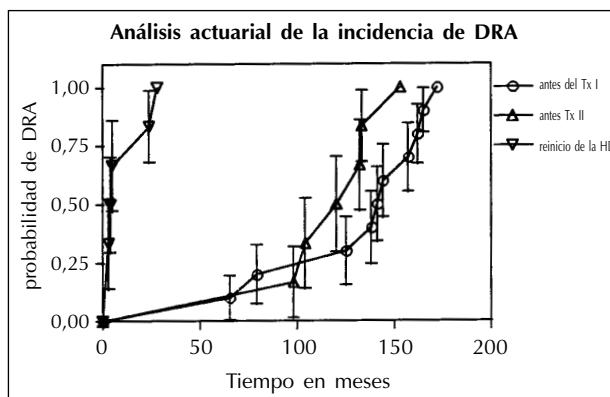


Fig. 3.

ción de las proteasas, cuando no existe células funcionantes o otras condiciones de la situación *in vivo*. Así en el sobrenadante se pudieron recuperar los distintos componentes proteicos de las fibrillas

amiloides: cadenas ligeras de inmunoglobulinas,  $\alpha$ -2 macroglobulina, y también  $\beta$ 2-microglobulina en forma monomérica y dimérica. Finalmente, la preincubación con  $\alpha$ -2 macroglobulina inhibió la resorción de algunas de las proteínas constituyentes de los depósitos amiloides parcialmente.

## DISCUSION

Los resultados presentados en este artículo muestran una discrepancia entre las situaciones *in vivo* e *in vitro*. No observamos evidencia alguna de resorción de los depósitos *in vivo* en los pacientes estudiados, y sí vimos en cambio que la tripsina u otras proteasas son capaces de degradar las proteínas de los depósitos amiloides. El primer aspecto clínico, se basa en la falta de modificaciones radiológicas y en la confirmación histológica de amiloide en un paciente operado años después de ser trasplantado, sin manifestaciones clínicas de amiloidosis. Ambos aspectos han sido confirmados por varios grupos y en especial por el grupo de VanYpersele de Strihou<sup>18-22</sup>.

El aspecto más innovador de nuestro trabajo fue el estudio del grupo que tuvo que ser tratado con diálisis después de un largo período de trasplante. Suponiendo que los depósitos amiloides se hubieran resorbido, cabría esperar que las manifestaciones clínicas de amiloidosis  $\beta$ 2-microglobulina aparecieran en dicho grupo, después de un período libre equivalente al observado en la primera fase de diálisis previa al trasplante renal (sin manifestaciones clínicas). Sin embargo, los pacientes del grupo II necesitaron más de 100 meses para que la mitad de ellos tuviera que ser operado por un problema ligado a la amiloidosis  $\beta$ 2-microglobulina antes de ser trasplantados y menos de 10 meses en requerir una nueva intervención después del abandono del trasplante y el inicio de la diálisis de nuevo. Este análisis muestra claramente que el trasplante y la corrección prolongada de la función renal no conllevan la curación de las lesiones amiloides.

Los trabajos de Tan y cols.<sup>9</sup> del grupo de Pepys sugiriendo la existencia de una resorción de los depósitos amiloides se basan en determinaciones gammagráficas después de la inyección de sustancia P radiomarcada. Aunque estos autores pretenden que una disminución de marcaje corresponde a una regresión de los depósitos amiloides, esta extrapolación podría resultar ser falsa. Puesto que la señal en la gammagrafía es proporcional a la cantidad de marcador incorporado, una disminución de dicha señal implica una disminución en la cantidad de sustancia P incorporada, pero no necesariamente una

disminución de la talla de la lesión. Puede haber un depósito amiloide inactivo, que no progrese (no incorpora nuevo marcador) y que no sea resorbido. Este análisis podría ayudar a explicar las conclusiones diferentes a las que llega dicho grupo.

La situación *in vitro* es radicalmente distinta. Hemos podido observar que cuando se purifican las fibrillas amiloides y se las somete a la acción de las proteasas, las proteínas presentes en estas fibrillas amiloides pueden recuperarse en el sobrenadante<sup>13</sup>. Existe pues una resolubilización *in vitro* de las proteínas amiloideas que esta modulada por la presencia de antiproteasas en el medio<sup>14</sup>. Estos resultados aparentemente opuestos entre el modelo *in vitro* e *in vivo*, únicamente pueden explicarse por la presencia de algún factor presente en el *milieu intérieur* del organismo vivo que no puede actuar en la situación *in vitro*. La resorción *in vitro* se observa en ausencia de células funcionantes. La participación celular en el mantenimiento de los depósitos amiloides puede ser uno de los puntos a explorar para explicar estas diferencias, pero ciertamente no el único. Los estudios ultraestructurales con doble marcaje en microscopía electrónica muestran un déficit del catabolismo del  $\beta$ 2-microglobulina por parte de los macrófagos que se encuentran alrededor de las fibrillas amiloides<sup>15</sup>. De ser así, *in vivo*, las células encargadas de la disolución del depósito amiloide, podrían actuar en realidad como una barrera para su degradación.

Otro aspecto que merece comentario es el de la discrepancia observada entre la mejoría clínica y la persistencia de la lesión. Cabría esperar que la mejoría clínica fuera una consecuencia de una regresión de los depósitos amiloides causantes de la enfermedad. Puesto que este no parece ser el caso, debemos buscar la explicación de la mejoría clínica en otros aspectos inherentes al trasplante. El primero de ellos es la administración de inmunosupresores y más concretamente de corticoides. Los corticoides, en pequeñas dosis y a largo plazo, han sido utilizados con éxito en el tratamiento sintomático de la amiloidosis  $\beta$ 2-microglobulina<sup>23</sup>. Nosotros hemos tenido un caso en el que el paciente, programado para una intervención de canal carpiano, recibió una dosis de corticoide en per-operatorio durante un trasplante que no llegó a realizarse por imposibilidad técnica de implantación. La sintomatología de canal carpiano mejoró de forma evidente y prolongada después de este gesto terapéutico (caso no publicado).

Pero no solo los corticoides pueden influir en la buena evolución de la amiloidosis  $\beta$ 2-microglobulina durante el trasplante renal. Campistol y cols. observaron una mejoría clínica durante el trasplante

utilizando la ciclosporina en monoterapia, sin corticoides asociados<sup>24</sup>.

En conclusión, los trabajos comentados en este artículo nos llevan a la constatación de una incongruencia clínico-patológica. Confirmaron la mejoría clínica de las manifestaciones osteoarticulares de la amiloidosis  $\beta$ 2-microglobulina, a la vez que demostraron la persistencia de la lesión causal, sugiriendo que otros factores (la corticoterapia entre ellos) deben participar en la mejoría clínica observada. En fin, también demuestran, a diferencia de la situación *in vivo*, que la resorción de las fibrillas amiloides *in vitro* es posible. Nuestros trabajos ultraestructurales sugieren que una mala catabolización de la  $\beta$ 2-microglobulina contenida en las fibrillas, por los macrófagos colindantes de los depósitos amiloides podría participar o ser la causa de este déficit de resorción *in vivo*.

## BIBLIOGRAFIA

1. Assenat H, Calemard E, Charra B, Laurent G, Terrat JC y cols.: Hémodialyse, syndrome du carpal carpien et substance amyloïde. *Nouv Press Med* 24: 1715, 1980.
2. Campistol JM, Cases A, Torras A, Soler M, Muñoz-Gómez J, Montolíu J, López-Pedret J, Revert L: Visceral involvement of dialysis amyloidosis. *Am J Nephrol* 7: 390-393, 1987.
3. Glener GG: Amyloid Deposits and amyloidosis. *N Engl J Med* 302: 1283-1292, 1980.
4. Dikman S, Kahn T, Gribetz D, Churg J: Resolution of Renal Amyloidosis. *Am J Med* 63: 430-433, 1977.
5. Mandelstam P, Simmons D, Mitchell B: Regression of amyloid in Chron's disease after bowel resection. *J Clin Gastroenterol* 11: 324-326, 1989.
6. Crowley S, Feinfeld D, Janis R: Resolution of Nephrotic syndrome and lack of progression of heroin-associated renal amyloidosis. *Am J Kidney Dis* 13: 333-335, 1989.
7. Maezawa A, Hiromura K, Mitsuhashi H, Tsukada Y, Kanai H, Yano S, Naruse T: Combined treatment with cyclophosphamide and prednisolone can induce remission of nephrotic syndrome in a patient with renal amyloidosis, associated with rheumatoid arthritis. *Clin Nephrol* 42: 30-32, 1994.
8. Holmgren G, Ericzon BG, Groth CG, Steen L, Suhr O, Andersen O, Wallin BG, Seymour A, Richardson S, Hawkins PN: Clinical improvement and amyloid regression after liver transplantation in hereditary transthyretin amyloidosis. *Lancet* 341: 1113-1116, 1993.
9. Tan SY, Irish A, Winearls CG y cols.: Long term effect of renal transplantation on dialysis related amyloid deposits and symptomatology. *Kidney Int* 50: 282-289, 1996.
10. Jadoul M, Drüeke T, Zingraff J, vanYpersele de Strihou C: Does dialysis-related amyloidosis regress after transplantation? *Nephrol Dial Transpl* 12: 655-657, 1997.
11. Jadoul M, Noel H, Malghem J, Galant C, vanYpersele de Strihou C: Histological b2-microglobulin amyloidosis 10 years after a successful renal transplantation. *Am J Kidney Dis* 27: 888-890, 1996.
12. Mourad G, Argilés A: Renal transplantation relieves de symptoms but does not reverse b2-microglobulin amyloidosis. *J Am Soc Nephrol* 7: 798-804, 1996.
13. García-García M, Gouin-Charnet A, Mourad G, Argilés A: Monomeric and dimeric b2-microglobulin may be extracted from amyloid fibrils «*In vitro*». *Nephrol Dial Transpl* 6: 1192-1198, 1997.
14. Gouin-Charnet A, Mourad G, Argilés A: a2-macroglobulin protects some of the protein constituents of dialysis associated amyloidosis from protease degradation. *Biochem Biophys Res Commun* 231: 48-51, 1997.
15. García-García M, García-Valero J, Gouin-Charnet A, Mourad G, Chammas M, Durfort M, Argilés A: Impaired lysosomal processing of b2-microglobulin by infiltrating macrophages in dialysis amyloidosis. *J Am Soc Nephrol* 7: 1479, 1996.
16. Argilés A, Mourad G, Axelrud-Cavadore C, Cavadore JC, Mion C: Analyse immunochimique des dépôts amyloïdes secondaire à l'hémodialyse de suppléance au long-cours. *Néphrologie* 8: 51-54, 1987.
17. Argilés A, Mourad G, Axelrud-Cavadore C, Watrin A, Mion C, Cavadore JC: High molecular weight proteins in haemodialysis associated amyloidosis. *Clin. Science* 76: 547-552, 1989.
18. Jadoul M, Maldague B, Pirson Y, vanYpersele de Strihou C: Renal transplantation for dialysis arthropathy. *Lancet* 2: 849, 1988.
19. Jadoul M, Malghem J, Pirson Y, Maldague B, VanYpersele de Strihou C: Effect of renal transplantation on the radiological signs of dialysis amyloid osteoarthropathy. *Clin Nephrol* 8: 1104-1109, 1993.
20. Lebail-Darné JL, Bardin T, Zingraff J, Laredo JD, Voisin MC, Kreiss H, Kuntz D: The effect of renal transplantation on dialysis associated arthropathy. *Rev Rhum [Engl Ed]* 61: 89S-92S, 1994.
21. Kessler M, Netter P, Gaucher A: Outcome of dialysis-associated arthropathy and dialysis related b2-microglobulin amyloidosis after renal transplantation. *Rev Rhum [Engl Ed]* 61: 93S-96S, 1994.
22. Bardin T, Lebail-Darné JL, Zingraff J, Laredo JD, Voisin MC, Kreiss H, Kuntz D: Dialysis arthropathy: outcome after renal transplantation. *Am J Med* 99: 243-248, 1995.
23. Bardin T: Low-dose prednisone in dialysis-related amyloid arthropathy. *Rev Rhum [Engl Ed]* 61: 97S-100S, 1994.
24. Campistol JM, Ponz E, Muñoz-Gómez J, Oppenheimer F, Ricard MJ, Andreu J: Renal transplantation for dialysis amyloidosis. *Transpl Proc* 24: 118-9, 1992.