

## Linfangioleiomiomatosis y medicina traslacional

Una mujer que padecía una rara enfermedad, la linfangioleiomiomatosis, fue tratada con sirolimus (rapamicina), mejoró y aun desaparecieron algunas lesiones<sup>1</sup>. ¿Por qué el tratamiento con esta droga inmuno-supresora? ¿Cuál la causa del “éxito”? La linfangioleiomiomatosis se caracteriza por la proliferación, policlonal, de células musculares lisas de vasos linfáticos, y afecta los pulmones, conducto torácico, ganglios linfáticos axiales de tórax, abdomen y retroperitoneo, a veces con linfangiomas de tejidos blandos y angiomiolipomas renales<sup>2</sup>. En principio cuesta entender la racionalidad y el porqué del tratamiento. En esta nota nos limitaremos a considerar los caracteres de estas células que indujeron los tratamientos para controlar su proliferación. Los lectores pueden consultar revisiones recientes para consideraciones generales sobre la enfermedad<sup>3, 4</sup>.

Las células que proliferan en la linfangioleiomiomatosis (*LAM cells*) se consideraron primero, células musculares lisas benignas. La microscopía electrónica demostró que eran similares a las que forman las lesiones de la esclerosis tuberosa. Luego se encontró, estimando la concentración en los tejidos, que tenían receptores para los esteroides sexuales, la inmunohistoquímica mostró los receptores y que tenían la  $\alpha$ -actina del músculo liso. Después, que había dos tipos de células, uno fusiforme del tipo miofibroblastos y otro de células más grandes y poligonales, de aspecto epiteliode que se marcaban con el anticuerpo HMB45, el cual se une a la glicoproteína gp100-cl, que se expresa en las células de los melanomas y los melanocitos inmaduros. La marcación es variable, pero positiva en las células epitelioides y negativa en las fusiformes. Inversa es la expresión de PCNA (*Proliferating Cell Nuclei Antigen*), marcador de proliferación celular activa: positiva en las células fusiformes y negativa en las epitelioides; se duda si esta discrepancia se debe a diferentes estadios de diferenciación o a que son dos fenotipos<sup>2-5</sup>. Los logros de la inmunohistoquímica siguen: en diez muestras de las lesiones todas las células fueron positivas para PDGFR- $\alpha$  (*Platelet Derived Growth Factor Receptor- $\alpha$* ) y para VEGF-A (*Vascular Endothelial Growth Factor-A*), siete para EGFR (*Epidermal Growth Factor Receptor*) y seis para c-KIT/CD117<sup>6</sup>. Todos posibles blancos terapéuticos.

El análisis genético encontró en la esclerosis tuberosa mutaciones de las células germinativas en dos genes: el gen TSC2 (*Tumor Suppressor Complex 2*), en el cromosoma 16p 13, en 1993, y el gen TSC1 (*Tumor Suppressor Complex 1*) en el cromosoma 9q34, en 1997. Los nombres de las proteínas que codifican derivan de las características fenotípicas de los pacientes con esclerosis tuberosa: hamartina (de hamartoma) producto del TCS1, y tuberina (de tuberosa) la proteína producto del gen TCS2. La tuberina es una proteína de 200 kDa, de expresión ubicua, conservada en la evolución, hay genes homólogos en ratas, ratones, y moscas. En las mujeres con linfangioleiomiomatosis, enfermedad esporádica, las dos mutaciones del gen TSC2 son de las células somáticas, mientras que en la esclerosis tuberosa con linfangioleiomiomatosis tienen una mutación de las células germinativas y una adquirida en las células somáticas en el gen TSC2; esto explica por qué es frecuente encontrar la combinación de lesiones<sup>7</sup>.

El principal papel del complejo hamartina-tuberina en las células normales es inhibir mTOR (*mammalian Target Of Rapamycin*), el blanco de la rapamicina en los mamíferos: una quinasa que fosforila y activa S6K (*S6 Kinase*), quinasa que fosforila la proteína ribosomal S6 (proteína de 6 unidades Svedberg de coeficiente de sedimentación) e inicia el ensamble de sus productos; también mTOR fosforila a la proteína 4E-BP1, (*4E-Binding Protein 1*) la que se une al factor eucariótico de traslación e iniciación eIF4E (*eukaryotic Initiation Factor 4E*), lo libera del estado de inhibición y permite iniciar la síntesis de proteínas en los ribosomas, el crecimiento y la proliferación celular.

El efecto de la rapamicina ocurre cuando se une con la inmunofilina, proteína que se une a los inmuno-supresores, conocida como FKBP12 (*FK Binding Protein 12*, FK por FK506, el tacrolimus); el complejo de rapamicina-FKBP12 inhibe a mTOR y así impide la fosforilación de S6K, por cualquier estímulo. En el tratamiento para evitar el rechazo de los trasplantes se usa la rapamicina (o el tacrolimus) justamente por su efecto inhibitorio sobre la activación de los linfocitos<sup>7</sup>.

Las funciones de las proteínas hamartina y tuberina que señalamos se han estudiado en cultivos de células disociadas de nódulos resecados de cinco enfermas con linfangioleiomiomatosis. En todos, la tuberina defectuosa, mutada, no inhibió S6K1, hiperfosforiló la proteína ribosómica S6, activó Erk, una proteína quinasa, y aumentó la síntesis de ADN, comparada con los cultivos de células normales de los mismos enfermos. Los efectos aumentaron con la estimulación con PDGF. La actividad de Akt/PKB (*Protein Kinase B*), involucrada en el metabolismo de la glucosa, proliferación, apoptosis, supervivencia, transcripción y migración celular, no cambió. En las células de los nódulos la rapamicina abolió el crecimiento de las células anormales<sup>7</sup>.

En suma, en la linfangioleiomiomatosis y la esclerosis tuberosa el complejo hamartina-tuberina, que inhibe el crecimiento celular, perdió su función por una mutación en los genes. La rapamicina tiene parecido efecto al complejo hamartina-tuberina normal, inhibe mTOR que favorece la síntesis proteica y el crecimiento celular. Por lo tanto, se puede probar la rapamicina para ordenar el desorden.

Más aún, el complejo hamartina-tuberina parece regular la actina del citoesqueleto y la migración celular, función mediada por la interacción de la hamartina con miembros de la familia de GTPasas Rho (*Rho Guanosin 5'-Triphosphate-ases*), que tienen un papel importante en la regulación y remodelación del citoesqueleto de actina. Las células fusiformes de la linfangioleiomiomatosis expresan metaloproteinasas (MMPs) que degradan las proteínas de la matriz extracelular y favorecen la migración celular y aun podrían aumentar su crecimiento por otros complicados caminos. La doxiciclina, antibiótico de la clase de las tetraciclinas, inhibe las metaloproteinasas, y se ha usado para tratar la hemangiomas capilar pulmonar, en la que la angiogénesis depende de la actividad de ellas y también en un caso de linfangioleiomiomatosis, con buenos resultados después de seis meses de tratamiento, a juzgar por los síntomas y la función pulmonar<sup>8</sup>.

Para complicar la cuestión, y hacerla más interesante, un artículo advierte que las células histológicamente benignas de la linfangioleiomiomatosis pueden migrar, invadir y dar metástasis *in vivo* en un pulmón trasplantado<sup>9</sup>.

Habrá que probar el nuevo tratamiento, y esperar. La ooforectomía, los anti-estrógenos dieron algún resultado "exitoso", pero una golondrina no hace verano, y fueron abandonados. Es difícil juzgar el "éxito" de los tratamientos en esta particular enfermedad que puede tener una larga evolución, y los publicistas rara vez esperan, apenas vislumbran un beneficio y no hay efectos colaterales graves, publican. Para estas enfermedades raras el ritual prescribe ensayos clínicos aleatorizados, multicéntricos y la creación de registros. Son fructíferos para médicos y pacientes. En eso están<sup>4, 10</sup>.

Aplicar las técnicas de la biología molecular a la linfangioleiomiomatosis es un ejemplo de lo que se ha dado en llamar medicina traslacional o investigación traslacional: integración de la investigación básica y el conocimiento clínico. Ni la disciplina ni la actitud nada tienen de nuevo, excepto el nombre, y es, en última instancia, investigación clínica<sup>11</sup>. Otro ejemplo fue la aplicación del imatinib en el tratamiento de los tumores del estroma gastrointestinal (GIST) que, por la apariencia celular, son proliferaciones neoplásicas del músculo liso<sup>12</sup>. En la esclerosis tuberosa, la proliferación difusa de músculo liso del pulmón<sup>13, 14</sup>, y leiomiomas metastasiantes benignos<sup>15</sup>, las células proliferantes parecen iguales con las técnicas de la histología tradicional y la microscopía electrónica. Tienen algún grado de parentesco, pero son tan distintas cuando se averigua la expresión de sus genes.

Juan Antonio Barcat

e-mail: jabarcat@yahoo.com.ar

1. Taillé C; Debray M-P, Crestani B. Sirolimus treatment for pulmonary lymphangioliomyomatosis (Letter). *Ann Int Med* 2007; 146: 687-8.
2. Finlay G. The LAM cell: what is it, where does it come from, and why does it grow? *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 286: L690-L693.
3. Sullivan EJ. Lymphangioliomyomatosis. A Review. *Chest* 1998; 114: 1689-703.
4. Ryu JH, Moss J, Beck GJ, et al. (NHLBI LAM Registry Group). The NHLBI lymphangioliomyomatosis registry: characteristics of 230 patients at enrollment. *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;173:105-11. Comment in: *Am J Respir Crit Care Med*. 2006;173: 2-4.
5. Juvet SC, McCormack FX, Kwiatkowski DJ, Downey GP. Molecular pathogenesis of lymphangioliomyomatosis. Lessons learned from orphans. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2007; 36: 398-408.
6. Watz H, Engels K, Loeschke S, Amthor M, Kirsten D, Magnussen H. Lymphangioliomyomatosis-presence of receptor tyrosine kinases and the angiogenesis factor VEGF-A as potential therapeutic targets. *Thorax*. 2007; 62: 559.
7. Goncharova EA, Goncharov DA, Spaits M, et al. Abnormal growth of smooth muscle-like cells in lymphangioliomyomatosis. Role for tumor suppressor TSC2. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2006; 34: 561-72.
8. Moses MA, Harper J, Folkman J. Quantitative analysis of the level of MMPs in the urine of a patient treated with doxycycline shows a substantial reduction in urinary MMP activity. *New Eng J Med* 2006; 354: 2621-2.
9. Karbowniczek M, Astrinidis A, Balsara BR, et al. Recurrent lymphangiomyomatosis after transplantation. Genetic analyses reveal a metastatic mechanism. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 167: 976-82.
10. Tattersfield AE, Glassberg MK. Lymphangioliomyomatosis. A National Registry for a Rare Disease (Editorial). *Am J Respir Crit Care Med* 2006; 173: 1-2105-111
11. Weissmann G. Roadmaps, translational research, and childish curiosity. *FASEB J* 2005; 19: 1762.
12. Barcat JA. Sobre los tumores del estroma gastrointestinal. *Medicina (Buenos Aires)* 2002; 62: 291-4.
13. Wagener OE, Roncoroni AJ, Barcat JA. Severe pulmonary hypertension with diffuse smooth muscle proliferation of the lungs. Pulmonary tuberous sclerosis? *Chest* 1989; 95: 234-7.
14. Kay JM, Kahana LM, Rihal C. Diffuse smooth muscle proliferation of the lungs with severe pulmonary hypertension. *Hum Pathol* 1996; 27: 969-74.
15. Roncoroni AJ, Barcat JA, Berizzo EA, Croxatto JO. Leiomiomatosis nodular pulmonar (leiomioma metastático benigno). *Medicina (Buenos Aires)* 1988; 48: 179-85.

-----

*Todos los elementos indispensables para la vida global –oxígeno, nitrógeno, fósforo, azufre, carbono– regresan a una forma química utilizable por intervención de los microbios... La ecología se basa en la descomposición restauradora que microbios y hongos llevan a cabo sobre plantas y animales tras la muerte de éstos, a fin de devolver sus valiosos nutrientes químicos al sistema global de la vida sobre la tierra.*

D. Sagan y L. Margulis

En: *Garden of Microbial Delights*, New York: Harcourt Brace Jovanovich, 1988. Citado en: Stephen Jay Gould. *La grandeza de la vida. La expansión de la excelencia de Platón a Darwin* (traducción castellana de Oriol Canals de Full House. *The Spread of Excellence from Plato to Darwin*, New York: Harmony Books Crown, 1996).

Barcelona: Grijalbo Mondadori, 1997, p 199