

1 ANTECEDENTES. ENFERMEDAD RENAL PROGRESIVA.

1.1 El glomérulo renal.

La unidad morfofuncional del riñón es la nefrona. En un hombre adulto existen de 1,5 a 2 millones de nefronas repartidas por toda la corteza renal, y en ellas se pueden distinguir dos componentes estructurales principales: el glomérulo y el sistema tubular córtico-medular.

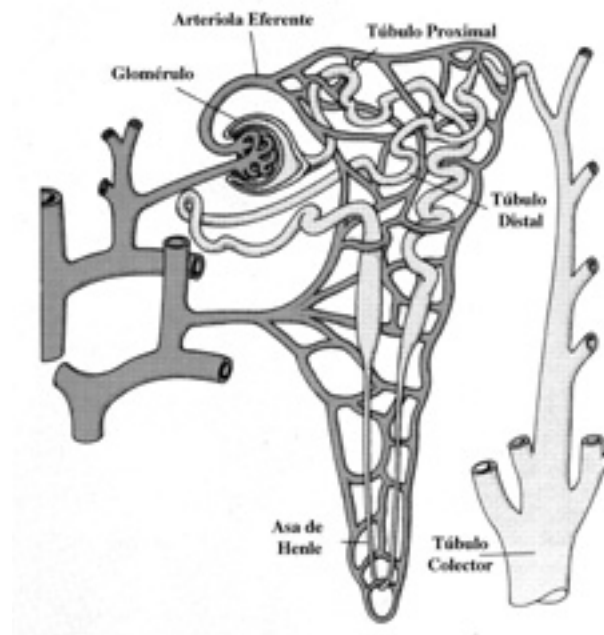


Figura 1. Esquema de la nefrona.

Las nefronas se encuentran en la corteza renal siguiendo un patrón establecido que se repite periódicamente y que se denomina lobulillo renal. Este lobulillo está constituido por una subunidad de la corteza comprendida entre dos arterias interlobulillares contiguas, y está centrado por un rayo medular que, a modo de eje, aparece surcado por un conducto colector principal que desciende verticalmente hacia las pirámides, recibiendo la orina concentrada en las nefronas situadas a ambos lados del rayo medular. Se reconocen cuatro subdivisiones en la porción tubular de la nefrona: el túbulo proximal, el túbulo intermedio (porción delgada del asa de Henle), el túbulo distal y el sistema colector (figura 1).

El extremo ciego de la porción proximal del sistema tubular aparece dilatado e invaginado, formando una estructura hueca, de finas paredes epiteliales, denominada cápsula de Bowman. La concavidad de esta cápsula está ocupada por un ovillo de capilares contorneados que se conoce como glomérulo. El glomérulo y su cápsula epitelial de doble pared constituyen juntos el corpúsculo renal estructura que, junto al sistema tubular, completan la nefrona¹.

INTRODUCCIÓN

El corpúsculo renal posee una forma esférica de un diámetro de 100-150 μm . Éste está formado por el glomérulo y la cápsula de bowman, la cual se encuentra revestida interiormente por un epitelio aplanado y posee dos aberturas; el polo vascular, por donde penetra la arteriola aferente y sale la eferente y el polo urinario que se comunica con el túbulo renal.

El glomérulo procede de la ramificación de la arteria aferente, la cual se subdivide a partir del polo vascular formando unas redes de capilares independientes denominadas lóbulos glomerulares. Cada lóbulo está formado por varios capilares dispuestos alrededor de una región de soporte llamada mesangio glomerular. Este está constituido por células mesangiales y algún monocito/macrófago infiltrado, incluidas en un material de estructura fibrilar llamado matriz mesangial.

La pared de los capilares glomerulares está formada por la membrana basal glomerular (MBG), revestida interiormente por el endotelio fenestrado y externamente por las células epiteliales llamadas podocitos. La MBG no rodea por completo la pared de los capilares glomerulares, sino que después de un recorrido más o menos circular, se refleja sobre sí misma pasando a formar parte del capilar adyacente.

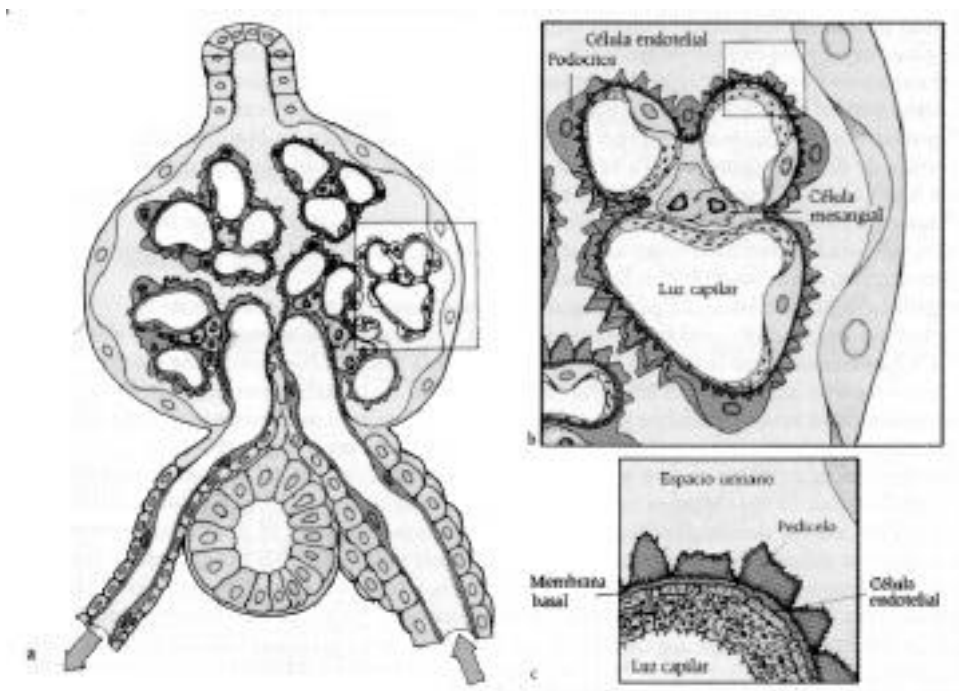


Figura 2. A) Esquema microscópico de un glomérulo; b) porción de tres capilares glomerulares; c) estructura de la membrana basal glomerular, pedicelos y células mesangiales

Es esta disposición la que contribuye a delimitar un espacio central ocupado por el mesangio glomerular, donde las células mesangiales están separadas de la luz capilar únicamente por el endotelio fenestrado y del espacio urinario por la MBG. Esta disposición hace que el mesangio esté constantemente perfundido de macromoléculas y partículas procedentes de la circulación que pueden modificar la función glomerular. (Figura 2b).

En el polo vascular del glomérulo se encuentra el aparato yuxtaglomerular, concretamente en el área de contacto entre la arteriola aferente, la eferente y la mácula densa (una porción del túbulo distal con células diferenciadas). El aparato yuxtaglomerular es rico en terminaciones adrenérgicas y juega un papel muy importante en la conservación del sodio, el control de la presión arterial mediante la secreción de renina y la regulación del filtrado glomerular (retroalimentación túbulo-glomerular).²

Las células que recubren los capilares se denominan podocitos. Éstos tienen varias prolongaciones primarias radiales que se disponen paralelas a los capilares subyacentes y dan lugar a numerosas ramificaciones secundarias denominadas pedicelos. Estos pedicelos se interdigitan con los pedicelos de los podocitos adyacentes dejando una separación entre ellos de unos 25nm de anchura, que permiten la salida del filtrado plasmático de los capilares glomerulares y su entrada en el espacio capsular.

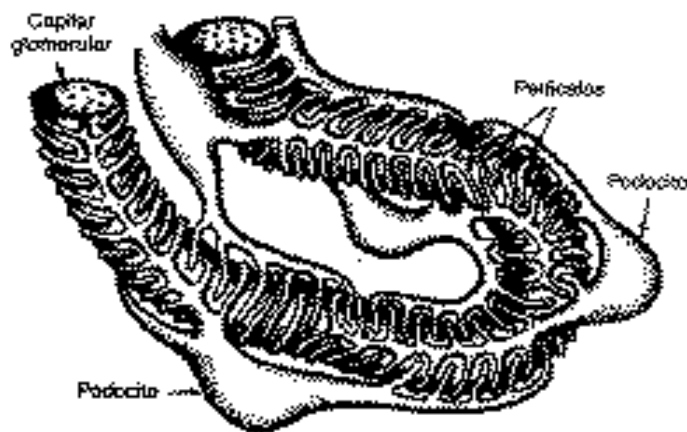


Figura 3. Representación esquemática del patrón interdigitado de las prolongaciones secundarias (pedicelos) de los podocitos, en la superficie externa de un asa capilar glomerular

INTRODUCCIÓN

Estos espacios reciben el nombre de Hendiduras de Filtración. Aunque las prolongaciones secundarias de los podocitos están íntimamente unidas a la MBG del capilar subyacente, el cuerpo celular suele estar separado del capilar de 1 a 3 μm . Esto permite que casi toda la superficie del asa capilar esté tapizada por pedicelos densamente interdigitados. Esta disposición maximiza la superficie total de las hendiduras intercelulares disponibles facilitando el paso del filtrado glomerular (Figura 3).

Si observamos la ultraestructura de la MBG se distinguen tres capas: la lámina rara interna (adyacente al endotelio), la lámina densa intermedia, y la lámina rara externa (adyacente a los podocitos). La lamina densa está formada por una malla de fibrillas de colágeno tipo IV y V y glicoproteínas como laminina. Las láminas raras son ricas en el proteoglicano sulfato de heparán y fibronectina. Estos compuestos actúan como anclaje del endotelio y de los podocitos. La lámina basal glomerular y el diafragma de la hendidura de filtración forman una barrera física selectiva que excluye del filtrado a las moléculas con un diámetro superior a los 10 nm. Los radicales sulfato de heparán, cargados negativamente son los responsables de la barrera electrostática del filtro glomerular. Se ha constatado en diferentes nefropatías, entre ellas la Nefropatía Diabética, un engrosamiento de la membrana basal glomerular, además de una disminución del contenido de sulfato de heparán, hechos que llevan a una alteración en la selectividad del filtro (Figura 4).³

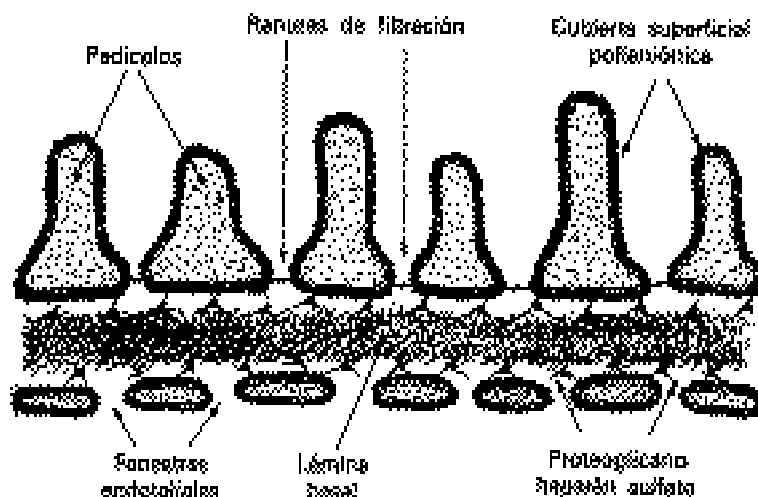


Figura 4. Representación esquemática de la barrera de filtración glomerular.

Fisiológicamente, la ultrafiltración del plasma sanguíneo en los glomerulos renales tiene una gran importancia en el control del volumen del líquido extracelular, del volumen plasmático, del volumen minuto cardíaco y de la presión arterial sistémica. Los componentes estructurales de la barrera de filtración situados entre la sangre que atraviesa los capilares glomerulares y el espacio corpuscular son: (1) el endotelio fenestrado, (2) la MBG y (3) las fisuras de filtración entre las

interdigitaciones de los pedicelos. Se trata de una barrera de filtración selectiva por tamaño y carga eléctrica, de manera que cualquier cambio que modifique la estructura o función de estos tres componentes altera la función renal.

A continuación se detallan las características principales de los tres tipos celulares que conforman el glomérulo y su implicación en la lesión glomerular: las células epiteliales (podocitos), las endoteliales y las mesangiales (incluidas en una matriz extracelular).

1.1.1 Las células epiteliales

Estructura básica de los podocitos

Los podocitos son células únicas con una organización celular compleja. Presentan una arquitectura celular dividida en tres segmentos: cuerpo celular, prolongaciones primarias y prolongaciones secundarias (pedicelos). En general el cuerpo celular y las prolongaciones primarias no están directamente conectadas con la MBG sino que se hallan flotando libremente en el espacio urinario. Así, el podocito se halla fijado a los capilares subyacentes únicamente mediante los pedicelos. Como consecuencia hay un espacio entre el cuerpo celular y los pedicelos. Las prolongaciones primarias nacen en el cuerpo celular, el cual directamente, o después de bifurcarse, se divide en los pedicelos. Éstos cubren la cara externa de la MBG y establecen un patrón típico de interdigitaciones con los pedicelos de los podocitos vecinos, dejando entre ellos unos espacios denominados hendiduras de filtración. En estas hendiduras de filtración se encuentra el diafragma de la hendidura, el cual describiremos posteriormente. Reseñar que los pedicelos de un mismo podocitos no se encuentran en posiciones contiguas, sino que siempre se disponen de manera alternada con los pedicelos de otros podocitos.

Los podocitos están organizados de una manera polarizada mostrando unos dominios apical y basolateral. El dominio basolateral incluye a los pedicelos que están en contacto con la MBG. Éstos presentan numerosas vesículas que reflejan la alta tasa de endocitosis que caracteriza a estas células. La superficie del dominio de la membrana apical, que se encuentra por encima del diafragma de la hendidura, contiene una capa muy desarrollada de glicoproteínas cargadas negativamente, a modo de glicocalix. Esta carga negativa causa una repulsión a las proteínas cargadas negativamente que atraviesan el capilar glomerular reduciendo la tasa de filtración glomerular. El glicocalix confiere principalmente la carga negativa a la barrera de filtración glomerular y es esencial para el mantenimiento de la estructura de los pedicelos. La carga global negativa es debida principalmente al ácido siálico y a los residuos sulfato de heparán que contienen las proteínas localizadas en la MBG y los podocitos.

INTRODUCCIÓN

Este glicocalix está compuesto por podocandina y varias sialoglicoproteínas entre ellas la podocalixina (principal glicoproteína), la GLEPP-1 (situada en los pedicelos, interactúa directamente con podocalixina), la SGP-115/107 y otras. Esta superficie contribuye a conferir una carga negativa a la barrera de filtración, además de tener una importancia crítica en la formación y preservación de la arquitectura de los podocitos, previniendo también la unión de éstos al epitelio parietal de la cápsula de Bowman.

Estructura básica del diafragma de la hendidura

En 1970, Rodewald y Karnosky⁴ postularon como estructura del diafragma de la hendidura un modelo semejante al de unas varillas conectadas perpendicularmente a una barra central, formando un patrón en forma de cremallera. Los poros rectangulares resultantes de este modelo tenían un tamaño aproximado al de la molécula de albúmina. Además, amparados en la presencia de la proteína zonula occludens (ZO-1) y en la asociación de esta proteína con el tipo de unión celular *tight junction*, asumieron que el diafragma de la hendidura representaba una modificación de este tipo de unión celular. Sin embargo, un estudio reciente de Reiser y colaboradores⁵ demuestra que otras proteínas características de la unión celular *tight junction* como la simplequina y la ocludina no se encuentran en los podocitos. Además, la ZO-1, que inicialmente se creyó específica de las *tight junctions*, se ha visto en otros tipos de uniones como la *adherens junction*. Ellos han detectado la expresión de las moléculas P-cadenina y cateninas. También, han observado que el diafragma de la hendidura presenta algunas características morfológicas típicas del tipo de unión *adherens junction* (amplio hueco intercelular y la presencia de una línea densa central). Y proponen el siguiente modelo de organización molecular:

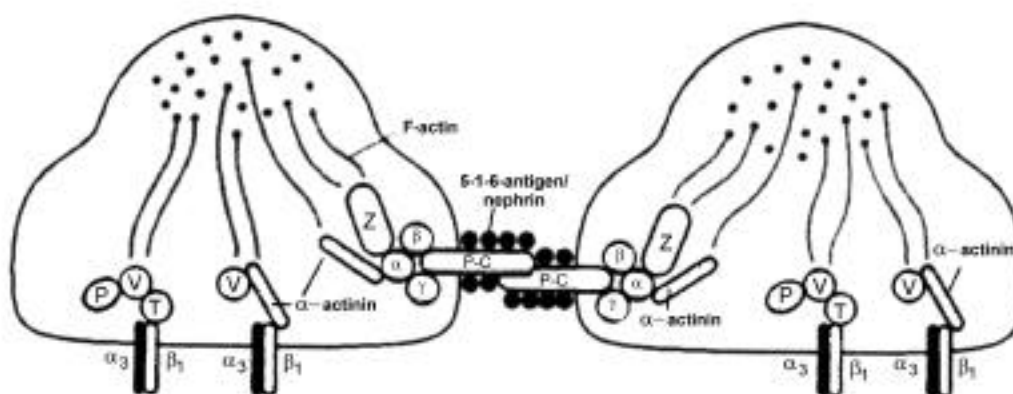


Figura 5. Organización molecular del diafragma de la hendidura

P-C: P-cadenina, **α:** α-catenina, **β:** β-catenina, **γ:** γ-catenina, **Z:** ZO-1, **α₃:** α₃-integrina, **β₁:** β₁-integrina, **V:** vinculina, **T:** talina, **P:** paxilina.

La P-cadenina representa el núcleo de la proteína con su dominio extracelular formando el diafragma de la hendidura. Los dominios intracelulares están conectados a la β -catenina y/o la placoglobina (β catenina). La unión de este complejo al citoesqueleto de β -actina está mediado por la β -catenina, una proteína homóloga a la vinculina. Alternativamente, la unión a la β -actina se logra a través de la interacción de la β -catenina con la ZO-1. La molécula nefrina, antígeno 5-1-6, parece estar asociada también al complejo del diafragma de la hendidura. Estos autores especulan que la P-cadenina actúa como andamio básico del diafragma de la hendidura, mientras que otras propiedades específicas como la permeoselectividad son conferidas por otras moléculas (nefrina, antígeno 5-1-6). Creencia basada en el hecho de que la inyección del anticuerpo contra el antígeno 5-1-6 induce proteinuria masiva sin detectarse alteraciones en la membrana de la hendidura (Figura 5).

Organización del citoesqueleto de los podocitos:

Además de las células mesangiales, los podocitos son cruciales para el soporte del ovillo glomerular. La segmentación de los podocitos en el cuerpo celular, prolongaciones primarias y pedicelos puede observarse al nivel de citoesqueleto. Los filamentos intermedios vimentina y desmina (cuya presencia es variable en función de la especie y cepa animal), típicos de las células mesenquimatosas, se encuentran principalmente en el cuerpo celular. En las prolongaciones primarias el citoesqueleto está compuesto principalmente por microtúbulos los cuales se entretrejen con los filamentos intermedios. Han sido descritas en asociación con estos microtúbulos, proteínas tales como MAP-3 y MAP-4. En contraste con la proteínas del citoesqueleto del cuerpo celular y de las prolongaciones primarias, los pedicelos presentan una estructura contráctil compuesta por actina, miosina II, α -actinina, talina y vinculina. Esta maquinaria está anclada a la membrana basal mediante el complejo β 1-integrina. Además de estas proteínas se ha encontrado sinaptopodina (PP44) asociada a los filamentos actina en los pedicelos. El sistema de microfilamentos de los está conectado directamente a los microtúbulos de las prolongaciones primarias mediante la proteína tau, unida a la tubulina y la actina.⁶

Respuesta de los podocitos a la lesión:

Los podocitos se dañan en muchas enfermedades glomerulares sea el origen de la lesión inmunitario (nefropatía membranosa), metabólico (diabetes) y/o hemodinámico (hipertensión glomerular). Con excepción de la nefropatía asociada al virus de inmunodeficiencia adquirida y de la glomerulosclerosis colapsada idiopática focal y segmentaria, los cambios ocasionados son secundarios a la lesión podocitaria.⁷

INTRODUCCIÓN

La lesión principal consiste en una alteración de la configuración del diafragma de la hendidura y de los pedicelos, dando como resultado la fusión de la MBG con las células parietales de la cápsula de Bowman y el inicio de la proteinuria, que está acompañada de una reorganización del citoesqueleto de actina. Estos cambios iniciales son totalmente reversibles. Sin embargo, si la agresión no cesa, la lesión glomerular progresa. Esto implica la vacuolización de los podocitos, la formación de pseudocistos y el desprendimiento de los podocitos de la MBG. Esto culmina con la sinequia mediante la fusión de las células epiteliales parietales de la cápsula de Bowman y las áreas desnudas de la MBG.

¿Por qué los podocitos se desenganchan de la MBG? :

Existe una serie de posibilidades entre las cuales se incluyen la pérdida de las proteínas de unión, el aumento de muerte celular (apoptosis), la alteración de la membrana podocitaria o el aumento de la presión hidrostática. Se ha visto que si se induce la agregación de cadena α_1 de las integrinas mediante un anticuerpo específico se produce la fusión de los pedicelos y la proteinuria. A nivel génico, la fusión de los pedicelos puede ser estimulada por la inactivación del gen de la cadena α_3 de las integrinas o por la inactivación del gen de la s-laminina/laminina- α_2 .

Resiser y colaboradores ⁸ han publicado recientemente, que la unión de los podocitos a la matriz extracelular está regulada por tirosin fosfatasas. Estos autores observaron cambios estructurales como la reorganización del citoesqueleto de actina y algunos contactos focales estaban acompañados por un aumento de la fosforilación de la tirosina. Añadiendo el polication protamina sulfato (PS) o el aminonucleósido puromicina (PA) se provocaron alteraciones morfológicas, llegando al desprendimiento de los podocitos de la matriz extracelular. Los mismos efectos se conseguían si se añadía vanadato, un inhibidor de las tirosinas fosfatasas (PTPs), sugiriendo que las PTPs regulan la estructura de los podocitos. Utilizando técnicas de RT-PCR demostraron la expresión de cuatro PTPs en el citoplasma de los podocitos: SHP-2, PTP-PEST, PTP-1B y PTP-36. Sería necesario, por tanto, identificar las dianas de los enzimas PTPs para la comprensión molecular del desprendimiento de las células epiteliales a causa de cambios en la fosforilación. Como potenciales candidatos proponen a la paxilina y a la p130^{CAS}.

La consecuencia del desprendimiento de los podocitos es el desarrollo de la glomerulosclerosis, especialmente en ciertas enfermedades de podocitos. En concreto en las formas secundarias de FSGS.

1.1.2 La célula endotelial

Los capilares glomerulares están formados por un endotelio muy fino, de 40nm, compuesto por células planas que presentan aberturas o fenestraciones de 40 a 100nm en su pared. A diferencia de otros endotelios fenestrados, éste no presenta diafragma que lo aisle del exterior. Los núcleos endoteliales presentan una protusión hacia la luz vascular y el citoplasma posee pocas organelas⁹.

Estudios in vitro han puesto de manifiesto que las células endoteliales no proliferan en presencia de otras células glomerulares, ya sean endoteliales o epiteliales. Posiblemente, estas células sintetizan determinados polipéptidos que inhiben el crecimiento endotelial.

La situación intermedia entre la sangre y los tejidos es un reflejo de muchas de las funciones del endotelio vascular entre las que hallamos:

1. Construcción de la barrera de filtración glomerular.
2. Regulación del tono vasomotor a través de la secreción de la endotelina y del factor derivado de las plaquetas, los cuales estimulan la contracción de las células musculares lisas a través del óxido nítrico y prostaciclina, que favorecen la relajación de las mismas.
3. Mantenimiento de la fluidez sanguínea, mediante secreción de la proteína S, expresión de anticoagulantes (ej heparán sulfato), activación del plasminógeno a plasmina y secreción de prostaciclina¹⁰.
4. Iniciación de focos inflamatorios a través de la secreción de sustancias vasoactivas que modifican la hemodinámica vascular y el reclutamiento de leucocitos. Las moléculas que facilitan la adhesión de los leucocitos al endotelio son selectinas, integrinas e inmunoglobulinas.
5. Activación de la respuesta inmunitaria. Dirigen la recirculación de los linfocitos y pueden actuar como células presentadoras de antígenos.
6. Participan en la neoformación de vasos sanguíneos.

Las diversas funciones de las células endoteliales sugieren que éstas pueden afectar, (o a su vez ser afectadas por ellas) a algunos procesos patológicos contribuyendo al desarrollo de la lesión glomerular. Éstos incluyen estados de hiperfiltración, la hipercoagulación dentro del capilar glomerular, y el aumento de interacciones con los leucocitos.

INTRODUCCIÓN

1. Efectos de las citocinas y sustancias procoagulantes en el endotelio endotelial.

Se ha observado en modelos de nefrectomía subtotal que la lesión de las células endoteliales es paralela a la adhesión y agregación plaquetaria. Estos focos de trombosis podrían participar en la oclusión capilar y en la glomerulosclerosis. Actualmente, sabemos que el endotelio lesionado en presencia de citocinas como la IL-1, el TNF y la linfotoxina, puede expresar un gran número de sustancias procoagulantes como el factor V, el inhibidor del plasminógeno y el factor de Willebran y disminuir la trombosmodulina y otros factores no-trombogénicos. Todos estos factores favorecen la deposición de fibrina y la coagulación intravascular, hechos característicos de las lesiones glomerulares avanzadas.

2. Daño endotelial mediado por linfocitos.

La presencia de leucocitos dentro del glomérulo en algunas enfermedades inflamatorias o inmunes aumenta la susceptibilidad de la células endoteliales a ser activadas por citocinas u otros mediadores inflamatorios expresando en la membrana moléculas de adhesión tales como la ICAM-1, la VCAM-1 y la ELAM-1, que facilitan la interacción de leucocitos, neutrófilos y macrófagos en el endotelio glomerular.

3. Daño endotelial mediado por neutrófilos

Los neutrófilos normalmente son activados en condiciones de isquemia, estimulando la secreción de radicales libres de oxígeno, enzimas proteolíticos y productos derivados de la vía de la fosfolipasa que contribuyen a la lesión glomerular.

4. Daño endotelial mediado por macrófagos

Los macrófagos participan activamente en la lesión glomerular, concretamente dañan el endotelio mediante la liberación de radicales libres de oxígeno, secretando citocinas y sustancias vasoactivas que activan a las células endoteliales y sustancias quimiotácticas que facilitan una infiltración continua de moléculas en el glomérulo.

5. Daño endotelial mediado por anticuerpos.

Así mismo, se ha observado en numerosas enfermedades de origen inmunológico (lupus sistémico, esclerodermia y vasculitis) que el daño endotelial glomerular es mediado a través de la activación del complemento por las cadenas constantes de las inmunoglobulinas (Fc) o por anticuerpos anti-células endoteliales.

1.1.3 El mesangio glomerular

El mesangio glomerular ocupa una posición intracapilar en el glomérulo. Está compuesto por células mesangiales y por un material fibrilar amorfo, la matriz mesangial, situado en el espacio existente entre las células que forman los canales mesangiales (Figura 6). Anatómicamente, el mesangio está separado del lumen capilar únicamente por el endotelio y no por la MBG. Debido al contacto directo del endotelio fenestrado entre la luz del capilar glomerular y el mesangio, éste se encuentra constantemente perfundido por macromoléculas y residuos de filtración que se acumulan en el mesangio¹¹. Este hecho es de gran importancia cuando se trata de complejos inmunológicos, citocinas y factores de crecimiento, ya que estas sustancias son capaces de modificar las respuestas fisiológicas y la biología de las propias células glomerulares¹².

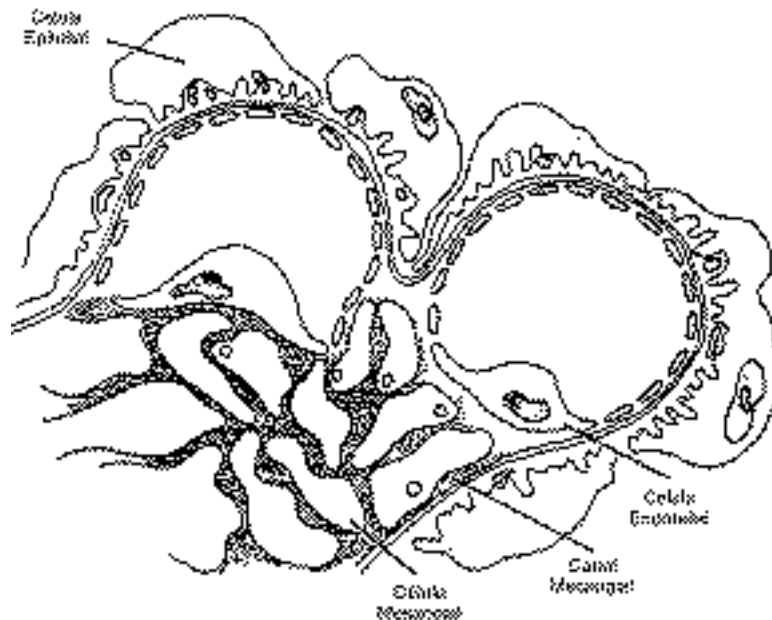


Figura 6. Esquema del mesangio glomerular.

Composición de la matriz mesangial

La matriz mesangial (ECM) está principalmente compuesta por colágeno de tipos IV y V. También está formada por glicoproteínas como la laminina, la fibronectina y los proteoglicanos, especialmente sulfato de heparán (perlecan) y sulfatos de coidritin/dermatan (versican, decorina y biglicanos). Estos componentes de la matriz son sintetizados y secretados por las propias células glomerulares, especialmente por las células mesangiales. Además, estas células segregan proteasas e inhibidores de las mismas regulando de esta manera el recambio de la matriz y en último término, la cantidad de material depositado en la misma (Tabla 1).

INTRODUCCIÓN

La cantidad y composición de la matriz extracelular son determinantes para las propiedades funcionales y estructurales del glomérulo. La Tabla 1 resume el perfil sintético de las células mesangiales enfatizando las moléculas de la matriz extracelular en cultivo y en modelos de enfermedades glomerulares. Necesariamente los componentes de la ECM se sintetizan continuamente por un proceso sometido a una regulación muy precisa. La pérdida de esta regulación tan coordinada aumenta la deposición de la ECM, situación que ocurre en el envejecimiento glomerular y en el desarrollo de la glomerulosclerosis. Eng E y col¹³ revisaron numerosas enfermedades renales demostrando que la expansión de la ECM y el consiguiente desarrollo de la glomerulosclerosis era un hallazgo destacado. Además, se ha visto que la alteración de la ECM influye en el fenotipo de las células mesangiales especialmente en la replicación celular y en la síntesis anormal de ECM, perpetuando, de esta manera, la enfermedad glomerular¹⁴.

	In vivo/ normal	In vivo / enfermo	In vitro
COLAGENOS			
I	-	Thy1.1, PAN, nefrectomía, transferencia de TGB- glom.	FCS - GH
III	-	PAN, transferencia de TGB- glom.	FCS
IV	+	Thy1.1, PAN, nefrectomía, transgénicos GH, CSS, transferencia de TGB- glom.	TGF- β , TXA2, GH PGE2
V	+		
VI	+	mGvHD	GH
VIII	+		+
GLICOPROTEINAS			
Fibronectina	+	Thy1.1, PAN, nefrectomía, transgénicos GH, CSS, transferencia de TGB- glom., mGvHD, nódulos diabéticos	TGF- β , GH, TXA2, Ang II, AVP, LDL
Nidógeno/entactina	+	Thy1.1, nefrectomía	
Laminina	+	Thy1.1, PAN, nefrectomía, transgénicos GH, mGvHD	GH, FCS, TXA2
Tenascina	+	en la mayoría de GN humanas, cuando hay expansión de la matriz extracelular	+
Trombospodina	+		+
PROTEOGLICANOS			
Sulfato de Heparán	+	Thy1.1, PAN, nefrectomía, transgénicos GH, nódulos diabéticos	- GH
Condroitín/dermatán sulfatos (versican, decorina, biglicano)	+	Thy1.1, ratas diabéticas (STZ)	- GH TGF- β , IL-1, TNF-

Abreviaturas: Thy1.1, nefritis anti-Thy1.1; PAN, nefrosis aminonucleosis; CSS, enfermedad del suero crónica; mGvHD, enfermedad murina injerto contra huésped; GH, hormona del crecimiento;

FCS, suero bobino fetal; TXA2, tromboxano A2; HG, medio rico en glucosa; TGF- β , factor transformante del crecimiento; Ang II, angiotensina II; AVP, arginina-vasopresina; LDL, lipoproteína de baja densidad; IL-1, interleucina 1; TNF- α , factor de necrosis tumoral alfa; STZ: estreptozotocina.

Tabla 1. Moléculas de la matriz extracelular, sintetizadas por las células mesangiales in vivo e in vitro.

Células mesangiales

Las células mesangiales forman parte del componente vascular del glomérulo. Son células de naturaleza mioepitelial, lo cual queda demostrado por el hecho de que a nivel del polo vascular glomerular se continúan con las células musculares lisas de la arteriola aferente y además por la presencia en el citoplasma de filamentos de actina-miosina arreladas a su membrana. Generalmente, estas células se caracterizan por un citoesqueleto intracelular de fibrillas de actina, miosina (propio de células contráctiles), desmina y vimentina.

Al exámen mediante el microscopio electrónico, las células mesangiales presentan una forma irregular con numerosos pseudópodos de diferentes longitudes. Es frecuente el hallazgo en el interior de estas células de vacuolas fagocíticas dilatadas por el material ingerido, sugiriendo propiedades fagocíticas. En el citoplasma, los orgánulos implicados en la síntesis y secreción de proteínas (ribosomas, retículo endoplasmático y aparato de Golgi) son relativamente escasos. También se ha encontrado una pequeña población de células residentes del tipo macrófagos /monocitos¹⁵.

Algunas de las atribuciones del mesangio en la función glomerular son¹⁶:

- ✓ Soporte estructural del glomérulo, especialmente de sus capilares
- ✓ Generación y recambio de la matriz mesangial, mediante la secreción de tromboxano (aumento de producción de matriz) y prostaglandinas (disminución de la ECM).
- ✓ Diana de diferentes agentes vasoactivos: (a) vasoconstrictores, como la angiotensina II, endotelina, vasopresina, y norepinefrina; (b) vasodilatadores, como la atriopentina, óxido nítrico, prostaglandinas PGE₂ y PGI₂ y dopamina.
- ✓ Diana de mediadores inflamatorios, factores de crecimiento, y citocinas con efectos en la hemodinámica local, proliferación celular, recambio de la matriz y otros.
- ✓ Producción de mediadores vasoactivos y agentes de crecimiento como las prostaglandinas, tromboxanos, productos lipoxigenados, factor activante plaquetario (PAF), óxido nítrico, etc.
- ✓ Lugar de producción de factores de crecimiento y citocinas tales como PDGF, IL-1, TGF- β , etc.
- ✓ Generador de los activadores e inhibidores del plasminógeno.

INTRODUCCIÓN

- ✓ Junto con los macrófagos glomerulares, las células mesangiales eliminan macromoléculas e inmunocomplejos del glomérulo debido a su actividad fagocítica. En concreto, se ha encontrado que las células mesangiales tanto en humanos como en ratas expresan el receptor clásico para el LDL, mientras que sólo las ratas poseen el receptor scavenger. La exposición de estas células al LDL inicia un pequeño incremento en la proliferación.

Muchos estudios que sostienen la hipótesis de que la proliferación glomerular precede, y continúa incluso, durante la acumulación de la ECM y el desarrollo de la glomerulosclerosis. En esta línea, Floege y col¹⁷ estudiaron la cronología de la acumulación de los componentes de la matriz extracelular en un modelo de nefrectomía de 5/6 partes de riñón. Los resultados que obtuvieron son los siguientes: (1) La proliferación celular glomerular precedía al acúmulo de producción de matriz, (2) el área glomerular no aumentaba en los primeros días de la nefrectomía a pesar de la presencia de proliferación celular glomerular. Sin embargo, en periodos más tardíos la área glomerular aumentaba progresivamente (3) La entrada de monocitos y macrófagos en el glomérulo presentaba una correlación significativa respecto al índice de esclerosis glomerular. También parecía existir una correlación entre el área glomerular y el índice de esclerosis, aunque no llegaba a ser estadísticamente significativa. En esta misma línea, se han estudiado otros modelos como la glomerulonefritis mesagio-proliferativa¹⁸ inducida con anti-Thy-1 en rata, donde se ha visto un aumento de producción y acumulación de ECM, observándose que cuando se inyecta un anticuerpo anti-PDGF no sólo se disminuía la proliferación mesangial sino que también se reducía la acumulación de numerosas proteínas de ECM. Lo mismo sucedía, en este mismo modelo, cuando se dirigían anticuerpos anti-TGF- (potente inductor de la acumulación de ECM). Todos estos datos sugieren que la inducción de proliferación celular in vivo por PDGF o por hormonas de crecimiento conducen a un aumento de la producción de la matriz, la cual comporta la glomerulosclerosis. Por otro lado, también se ha asociado la merma en réplica de las células mesangiales a una marcada reducción de la matriz extracelular mesangial y a una menor deposición del colágeno IV, de la laminina y de la fibronectina.¹⁹

Control molecular de la progresión del ciclo celular en las células mesangiales:

En una población celular, la replicación y división de una célula en dos células hijas genéticamente idénticas depende de dos fases funcionales (S y M) y dos fases preparatorias (G1 y G2).

La fase G1 es previa a la síntesis o replicación del ADN. La célula dobla normalmente su tamaño y su masa, debido a que activa toda la maquinaria que será necesaria para llevar a cabo la replicación. Hay células que pueden parar su progresión hacia la división en este estadio tardío y permanecer durante días, meses o años en estado de reposo en lo que se denomina fase G0. Durante la fase G1,

existe también un punto de control de restricción R en que la célula comprueba que toda la maquinaria esté a punto para continuar la división e incluso que las condiciones ambientales (nutrientes, sales minerales, temperatura, factores de crecimiento actuando sobre los receptores de membrana,...) sean las adecuadas²⁰.

La fase S (de síntesis de ADN) corresponde al periodo durante el cual se replica el material genético o ADN. Cada cromosoma pasa a tener dos cromátidas, es decir, dos moléculas de ADN de cadena doble. Se dice, por tanto, que una célula diploide con dos juegos de cromosomas, al terminar la fase S, presenta cuatro copias idénticas del material genético (tetraploide), destinadas a segregarse durante la mitosis a las dos células hijas para mantener así su estado de diploidía²⁰.

La fase G2 comprende el período entre la finalización de la replicación del ADN y el inicio de la división. En este momento existe otro punto de control, en el que la célula debe cumplir dos condiciones: que ya se ha duplicado la masa, de modo que puede dar lugar a dos células hijas, y que se ha completado con éxito y fidelidad la duplicación del ADN²⁰.

Finalmente, las células entran en la fase M o de mitosis, donde se produce el proceso físico de división. La fase de mitosis se subdivide en cuatro etapas: profase, metafase, anafase y telofase.

Se sabe que en situaciones de hipertrofia, las células mesangiales quedan retenidas en fase G₁, activando consiguientemente la inducción de la muerte celular programada (apoptosis)²¹(Figura 7).

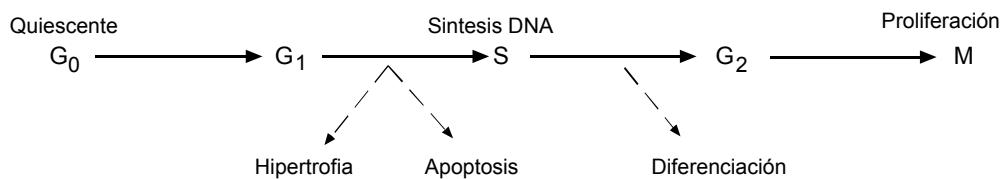


Figura 7: Fases del ciclo celular

Cada una de estas fases del ciclo celular en las células eucariotas está controlada es ejercida por unas enzimas denominadas quinasas dependientes de ciclinas (CDK) que son capaces de fosforilar otras proteínas mediante la transferencia de grupos fosfato a aminoácidos específicos. La actividad de las CDK depende de la formación de complejos con otras proteínas específicas del ciclo, como son las ciclinas, y habitualmente otras proteínas inhibidoras, denominadas CDKi. La activación de las CDK por su unión a ciclinas genera, por tanto, una cascada de señales por fosforilación/desfosforilación que en último término perminten la transcripción y traducción de

INTRODUCCIÓN

aquellos genes involucrados en la progresión del ciclo celular. Cuando una señal mitogénica estimula a la célula, ésta se prepara para entrar en el ciclo y completar su división. Las señales mitogénicas rescatan a la célula de su quiescencia, a través de la activación de las ciclinas de tipo D (D1, D2, D3). Estas ciclinas forman complejos de activación con la CDK 4 y CDK 6, que así ensamblados pueden actuar fosforilando a la proteína retinoblastoma (Rb, proteína codificada por un gen supresor tumoral que retiene a la célula en G1 delante de la falta de un estímulo mitogénico). Rb en su estado nativo no está fosforilado y permanece unido al factor de transcripción E2F, responsable de la activación de muchos genes de proliferación. La unión de Rb-E2F provoca la represión de la activación. Ante la llegada de un estímulo mitogénico, el complejo activado de ciclina D / CDK 4 o CDK 6 es capaz de fosforilar Rb, lo que a su vez permite la liberación del factor E2F, debido al cambio conformacional de la proteína. Una vez E2F se ha liberado actúa sobre los genes que codifican las proteínas necesarias para entrar en fase S y replicar el ADN²⁰.

Además de este complejo debe formarse también el complejo CDK 2 / ciclina E, que asegura el estado de fosforilación de Rb y probablemente actúe sobre otros sustratos requeridos para la transición.

Otro nivel de regulación de las CDK durante el tránsito de G1 lo ejercen las CDKi. Una primera familia de CDKi la constituyen los inhibidores P21^{waf-1}, p-27^{kip1} y p57^{kip2}, todos los productos de estos genes supresores tumorales, actúan anulando la actividad quinasa de los complejos descritos. Un ejemplo de esta regulación negativa es el que aparece después de la inducción del daño sobre el ADN de las células (por ejemplo a través de la irradiación UV), que provoca el detenimiento en G1. El daño sobre el ADN provoca el incremento de p53, que actúa activando la transcripción de P21^{waf-1}, la cual inhibe el complejo CDK 2 / ciclina E y secuestra el factor PCNA (factor indispensable para que se inicie y se desarrolle la replicación).

Una segunda familia de proteínas inhibidoras CDKi la constituyen P15^{ink-4B}, P16^{ink-4}, P19^{ink-4D}. Todas estas proteínas inhibidoras actúan sobre los complejos CDK 4 o 6 / ciclina D, y provocan igualmente una retención de la célula en fase G1 debido a la inactivación que ejercen. Un ejemplo de esta inactivación lo proporciona la señal inhibitoria del TGF- β , que directamente actúa incrementando los niveles de p15, por tanto asegura el efecto inhibidor del ciclo celular²⁰.

En el modelo de glomerulonefritis por anti-Thy1 se produce una proliferación de las células mesangiales asociado a un aumento de la ciclina A, la cual se une a CDK 2. En la nefropatía diabética, a diferencia de lo que sucede en numerosas enfermedades glomerulares donde se da una proliferación marcada, ocurre la hipertrofia de las células mesangiales. Ésta se define como el

aumento patofisiológico de la relación proteína-ADN. En esta situación la célula queda retenida en fase G1, incrementando los niveles proteicos en ausencia de síntesis de ADN. Tal y como demuestran muchos estudios in vitro como los modelos experimentales de diabetes, se ha observado que este aumento proteico está asociado a un incremento de los niveles de p21 y p27 y no a la elevación de los niveles de ciclinas E y A o de la CDK2²¹

Los factores de crecimiento actúan regulando la progresión del ciclo celular. Así, encontramos reguladores positivos como el PDGF que promueve la progresión de la fase G1 y reguladores negativos como el TGF- que bloquea el ciclo celular. Uno de los mecanismos utilizados por el TGF- para detener a la célula de esta fase es la liberación de la proteína p27. Esta CDKi actúa inhibiendo la formación de los complejos ciclina E / cdk2 en presencia de mitógenos²². Existen numerosas evidencias que demuestran que el TGF- causa la hipertrofia de las células renales incluyendo a las células mesangiales. Así Wolf y col²³ vieron que la glucosa induce la expresión de p27 causando la hipertrofia de las células mesangiales. Esta inducción de p27 involucra a parte de la autoinducción del TGF- en dichas células.

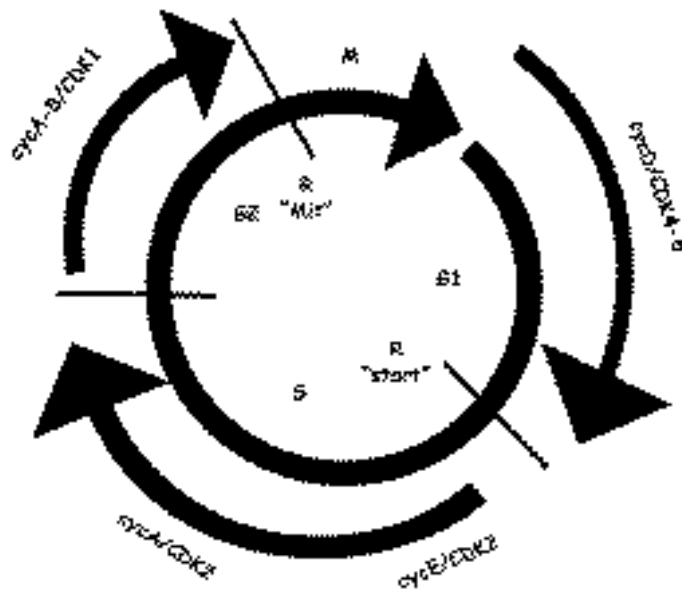


Figura 8. Regulación del ciclo celular

1.2 Enfermedad renal progresiva.

La Enfermedad Renal Progresiva (ERP) es la disminución paulatina del filtrado glomerular (FG) debido a una reducción progresiva del número de nefronas funcionales. Para su diagnóstico se requiere que el deterioro de la función renal sea persistente (>3 meses) y que se descarten factores reversibles del mismo. La ERP es un síndrome que puede estar causado por múltiples enfermedades. La rapidez en la evolución de la ERP está en función de la enfermedad base y del tratamiento aplicados, teniendo en cuenta que el insulto inicial puede ser suficiente como detonante de la ERP a pesar de haber cesado el agente etiológico causante²⁴.

En la ERP, el riñón adopta ante la pérdida de nefronas funcionales una serie de mecanismos compensadores para conservar sus funciones vitales. Las nefronas sanas incrementan su función, lo que da como resultado un aumento del flujo que acaba produciendo una hiperfiltración por cada unidad de nefrona. En fases iniciales, este mecanismo de adaptación de las nefronas permite soslayar los efectos de la insuficiencia renal. Así se produce un aumento de la excreción fraccional de sodio y potasio y una intensificación de la reabsorción de bicarbonato para compensar la tendencia a la acidosis metabólica. La primera función alterada será la capacidad de concentración de la orina que conlleva a la aparición de nicturia, poliuria y polidipsia. En fases más avanzadas se detecta una acumulación de toxinas urémicas, materializado en urea, creatinina y un aumento de la retención del fósforo plasmático, entre otros metabolitos derivados del metabolismo proteico. Finalmente, los mecanismos de compensación renal no son efectivos detectándose además, acidosis metabólica e hiperpotasemia²⁴.

Independientemente de la causa etiológica que determine el daño renal inicial y a medida que disminuye la masa renal se dan adaptaciones estructurales y funcionales que son capaces por sí mismas de producir lesión glomerular y perpetuar la progresión de la insuficiencia glomerular. Además, estas adaptaciones aparecen independientemente de la causa que originó la nefropatía y son más acentuadas cuanto menor es el número de nefronas residuales. Por ejemplo, la extirpación de un riñón en donadores sanos para un trasplante renal, produce hipertrofia e incremento de la función renal hasta el 70% en el riñón no extirpado. En estudios experimentales de micropuntura en los que se ha analizado la respuesta de nefronas individuales a la reducción experimental de la masa renal, se ha observado una elevación marcada de la filtración glomerular por el aumento del flujo plasmático glomerular y de la presión intracapilar glomerular. Paralelamente a los aumentos de flujo y filtración glomerular hay hipertrofia del glomérulo y en menor grado de los segmentos tubulares. La magnitud de estos cambios es proporcional a la masa renal perdida. En términos generales estas adaptaciones son útiles pues permiten suplir parcialmente la función que se ha perdido. Sin embargo, cuando la masa renal se ha reducido más allá de un nivel crítico alrededor

del 70-80%, estas adaptaciones son capaces por sí mismas de producir daño renal progresivo. Esta hipótesis propuesta por Hostteter y col²⁵ se basa en estudios en los que se produjo una disminución de más del 75% de la masa renal en ratas, observándose que nefronas previamente sanas al ser expuestas súbitamente a un aumento de presión y flujo glomerular desarrollaban lesiones glomerulares focales que derivaron en esclerosis paralelamente a la aparición de uremia en las ratas. Cuando se previno la elevación de la presión y flujo glomerular, administrando a un grupo de ratas dieta hipoproteica, se previno también la lesión glomerular demostrando la participación predominante de los cambios hemodinámicos en el desarrollo de los cambios estructurales. Esta asociación entre hiperfunción glomerular y lesión renal se ha confirmado posteriormente en otros modelos experimentales como la hipertensión experimental con extirpación parcial de la masa renal y en la diabetes mellitus experimental.

La ERP se caracteriza por una especial relevancia de los fenómenos de fibrosis y esclerosis en el parénquima renal. Estas alteraciones se localizan preferentemente en dos niveles: las estructuras glomerulares y el intersticio renal. La esclerosis glomerular ha sido considerada, durante muchos años, como uno de los mecanismos fundamentales de la ERP. En sus fases iniciales se caracteriza por la aparición de lesiones escleróticas, acelulares, con distribución focal. Posteriormente, la esclerosis afecta a todo el ovillo glomerular, desapareciendo progresivamente las estructuras celulares y las asas capilares. En este contexto de desaparición continua de la superficie de filtración aparecería la disminución lenta de la filtración glomerular²⁶.

Los mecanismos responsables de la progresión de las nefropatías aún no han sido identificados completamente, sin embargo se acepta que la hipertensión glomerular y la hipertensión arterial sistémica participan significativamente en la evolución de la lesión renal a la glomerulosclerosis. Las nefropatías primarias y la pérdida de masa renal se acompañan de hipertensión sistémica e hipertensión glomerular. Otros factores como edad, ingesta proteica y diabetes mellitus pueden inducir hipertensión por aumento de flujo en el capilar glomerular, sin elevación de la presión arterial. Una vez establecida, la hipertensión glomerular ejerce efectos nocivos para todas las células renales. La hipertrofia glomerular, a través de la dilatación de asas capilares, amplifica el efecto de la hipertensión glomerular en el endotelio, produciéndose una liberación de sustancias vasoactivas y trombosis intracapilar. La liberación de factores de crecimiento promueve la proliferación celular y el aumento de matriz mesangial. Se da una sinergia entre la hiperlipidemia y la hipertensión glomerular que facilita el depósito de lípidos en el endotelio, acentúa la proliferación mesangial y produce efectos tóxicos en células mesangiales, además de neutralizar la electronegatividad de los proteoglicanos de la pared capilar. La lesión de las células epiteliales comporta proteinuria y la pérdida de su efecto inhibitorio sobre el crecimiento de células mesangiales, además de acentuar la proliferación, el aumento de la matriz mesangial y la pérdida

de carga negativa. La combinación de los factores anteriores eventualmente conduce a la proteinuria y a la glomerulosclerosis que a su vez intensifican la hipertensión glomerular y la hipertensión sistémica²⁶.

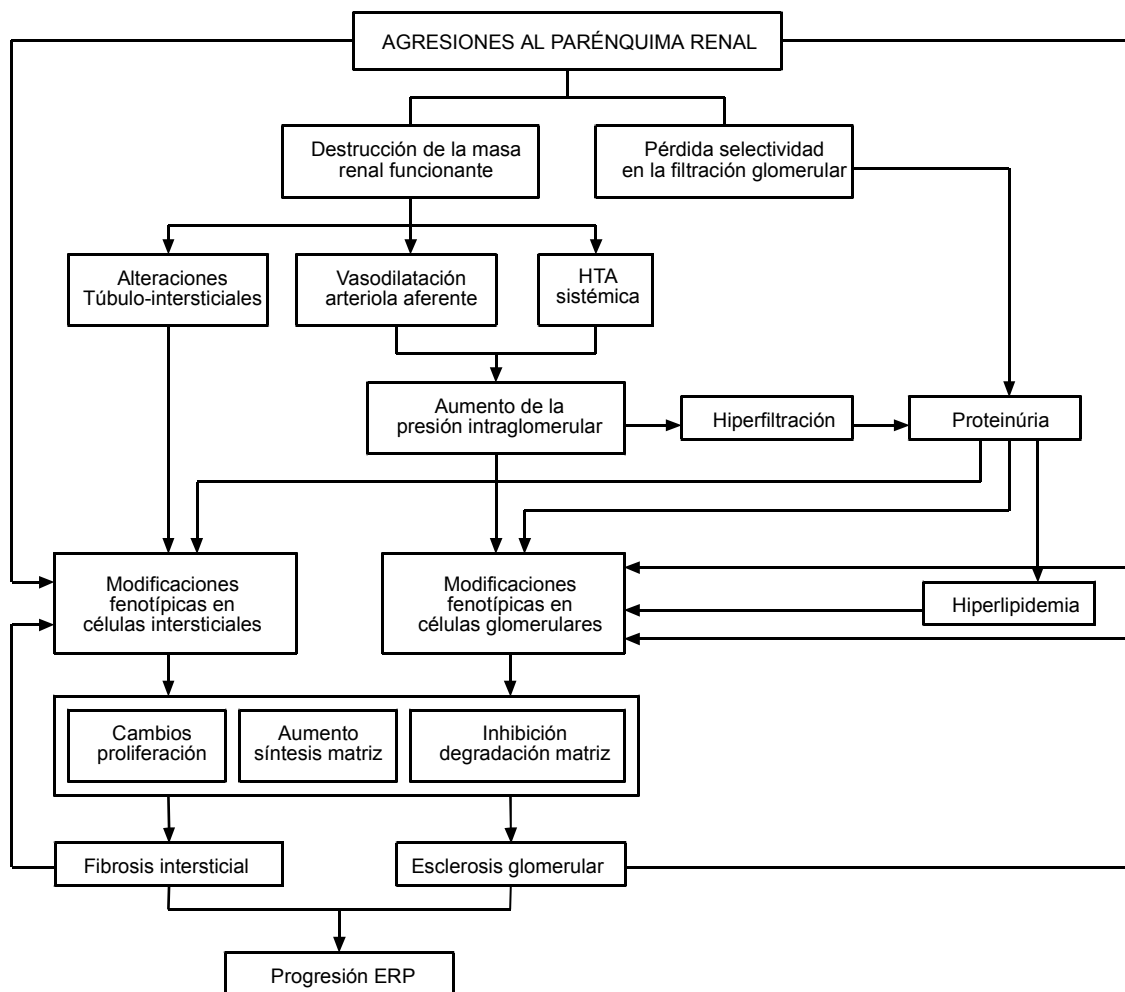


Figura 9. Esquema general de los mecanismos de progresión de la Enfermedad Renal Progresiva (ERP)

La Asociación Europea de Diálisis y Transplante ha recogido las principales causas de ERP terminal: glomerulonefritis (30%), Nefropatías túbulo-intersticiales crónicas (20%), diabetes (11%), nefroangiosclerosis (10%), nefropatías auto-inmunes (3 %), disproteinemias (3%.

1.2.1 Glomerulosclerosis primaria focal y segmentaria

Definición

El término glomerulosclerosis designa a la enfermedad glomerular clínica asociada al síndrome nefrótico (presencia de proteínas en orina en concentración mayor a 3g/24h) con lesiones morfológicas focales y segmentarias sin complejos inmunes o alguna causa de origen identificable. Se la denomina focal porque inicialmente solo afecta a algunos glomérulos y segmentaria porque la lesión se encuentra en una porción del glomérulo y no en su totalidad (lesión difusa global). Es una enfermedad no proliferativa ya que no acarrea un incremento de células²⁴.

Se ha detectado que el aumento del tamaño del glomérulo antecede a la glomerulosclerosis, debido a un incremento de factores de crecimiento que están asociados con el aumento de la matriz extracelular, piedra angular de la esclerosis. En el desarrollo de la glomerulosclerosis contribuyen las células glomerulares y las infiltradas, las cuales son estimuladas por los ambientes local y sistémico constituidos por factores de crecimiento, radicales libres de oxígeno y factores hemodinámicos y metabólicos. La interacción de todos estos factores junto con el balance de proliferación en relación con la muerte celular y de la acumulación de matriz respecto a su degradación condiciona el desarrollo futuro de la lesión²⁷.

En el avance de la glomerulosclerosis se produce una lesión glomerular que está asociado a la expresión de proteínas del citoesqueleto. Así, las células mesangiales expresan α -actina y las células epiteliales vimentina y desmina en respuesta al daño celular, confiriendo un cambio fenotípico a estas células. La explicación completa de estos cambios y de su contribución en el desarrollo de la glomerulosclerosis queda aún por dilucidar.

Las células tubulares modulan el comportamiento de los fibroblastos intersticiales quiescentes. La activación de éstos conlleva la adquisición de las características miofibroblásticas, incluyendo la expresión de α -actina y de las proteínas del citoesqueleto. La capa adventicia vascular es otra fuente de fibroblastos activados, llegándose a demostrar en algunos modelos experimentales de fibrosis que estas células producen colágeno intersticial, difundándose desde los vasos renales al intersticio²⁷.

Microscopía óptica y electrónica

Durante los primeros estadios de la FSGS, la patología afecta a los glomérulos yuxtamedulares. La observación de los glomérulos al microscopio óptico muestra esclerosis mesangial segmentaria con colapso de los capilares, obliteración del lumen de los vasos e hiperplasia de las células epiteliales

viscerales. En los segmentos esclerosados se puede ver un espacio entre las membranas basales de los capilares glomerulares y las células epiteliales viscerales. A menudo se produce sinequia, adhesión del segmento esclerosado a la cápsula de Bowman. Con la progresión de la enfermedad, un mayor número de glomérulos se van esclerosando, incluidos los del córtex interior y exterior. Los segmentos escleróticos contienen células espumosas cargadas de lípidos y lóbulos eosinofílicos que son positivos al ácido de Schiff (hialinosis) y que aparecen teñidos de rojo con la tinción de Masson Tricrome. También se encuentra atrofia tubular, fibrosis intersticial e infiltrado intersticial crónico de células inflamatorias mononucleares. Las arterias y arteriolas muestran depósitos hialinos subendoteliales similares a los depósitos glomerulares²⁸.

Al microscopio electrónico, los segmentos esclerosados muestran un aumento de la matriz mesangial y colapso de los capilares. En estas áreas, las células mesangiales desaparecen dejando espacios escleróticos hipocelulares. Se encuentran depósitos que corresponden a la hialinosis y células espumosas con lisosomas repletos de lípidos, ya observados al microscopio óptico. Se encuentran fusiones podocitarias de las células epiteliales viscerales en todos los glomérulos²⁸.

Papel de los podocitos en la degeneración del glomérulo renal

La FSGS presenta un patrón estereotipado de la degeneración del glomérulo común en una gran variedad de glomerulopatías. Lo más notable es la pérdida progresiva de nefronas seguida de una disminución de la función renal que conduce hacia el fallo renal. La secuencia de estos cambios estructurales desemboca en una esclerosis segmentaria. Así, el desarrollo de la FSGS sigue aparentemente un patrón muy uniforme basado en la lesión severa podocitaria y en la destrucción de la arquitectura glomerular, ambas independiente de la naturaleza del insulto inicial. Todo esto es debido a la naturaleza no replicativa de los podocitos. Si en el curso de la enfermedad renal un podocito se muere, la única vía para compensar la función que estaba realizando es mediante la hipertrofia del podocito lateral, aumentando la vulnerabilidad de éstos en futuras agresiones. Este hecho inicia un círculo vicioso que será el responsable del carácter progresivo de la degeneración glomerular así como del fallo renal²⁹.

En situación normal, los capilares glomerulares están constantemente expuestos a una alta presión hidrostática de aproximadamente 80mm Hg. Tal gradiente de presión ejerce una fuerza de expansión en la pared capilar, que obliga a que el glomérulo tenga un sistema de sostén que le confiere estabilidad. La MBG y el mesangio representan el sistema básico generador de la tensión interna en la pared de la MBG. Así, las células mesangiales extienden puentes contráctiles hasta los lados opuestos de la MBG. Este sistema es capaz de desarrollar tensión en la pared facilitando la adaptación del glomérulo a los cambios de magnitud de cualquier fuerza mecánica²⁹. Por otro lado,

los podocitos son la segunda estructura estabilizadora superpuesta al sistema célula mesangial-MBG. Los dos mecanismos a través de los que actúan son: (1) los podocitos estabilizan a los capilares glomerulares fijando los puntos de inflexión de la MBG situados entre capilares vecinos. En concreto, estos espacios están ocupados por prolongaciones primarias y pedicelos que contienen una gran proporción de elementos del citoesqueleto. (2) Los podocitos contribuyen en la estabilidad estructural de los capilares glomerulares a través de un mecanismo similar al desarrollado por los pedicitos (células aplanadas que rodean a las células endoteliales con función contractil). Así, los podocitos unidos a la cara externa de la MBG por los pedicelos actúan como una estructura elástica que subyace al capilar glomerular amortiguando los gradientes de presión externos ejercidos a través de la pared del capilar²⁹.

Desde este punto de vista, el sistema contráctil de los podocitos consiste en numerosas fuerzas pequeñas y estabilizadoras, fijadas a varios ángulos de la superficie basal de la MBG. Cada fuerza es capaz de contrarrestar localmente la distensión de pequeñas áreas de la MBG. Todo esto, junto con el tono contráctil que caracteriza a los podocitos se compensa la expansión elástica pericapilar de la MBG²⁹.

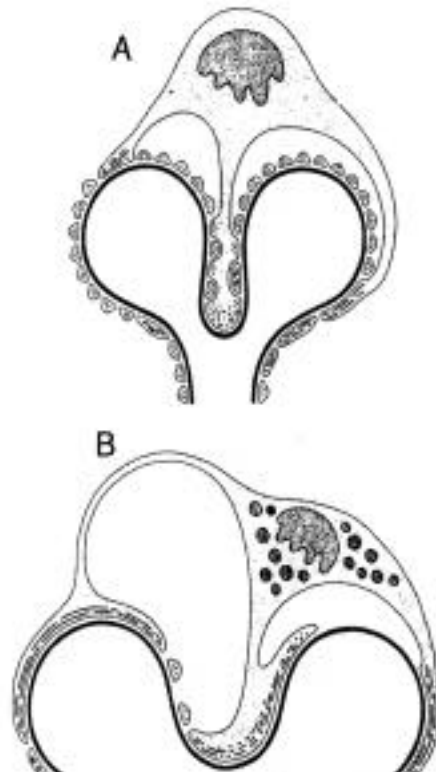


Figura 10. Dibujo esquemático de la lesión podocitaria. A) Podocito sano. B) Podocito dañado con fusión podocitaria, atenuación del cuerpo celular y formación de seudocistos, y desunión de la membrana basal glomerular

INTRODUCCIÓN

Cuando se produce un insulto renal de cualquier naturaleza, los podocitos son incapaces de mantener su fenotipo diferenciado normal, cambiando su apariencia de una manera más o menos estereotipada. Estos cambios incluyen hipertrofia, sinequia, atenuación del cuerpo celular, formación de pseudocistos, absorción de gotas lipídicas y finalmente, se desenganchan de la MBG. La adhesión/sinequia de los podocitos a la MBG ha sido interpretada como un cambio adaptativo de la célula que incluye la hipertrofia del sistema contráctil del podocito, reforzando su papel de mantenimiento de la estabilidad del glomérulo. La atenuación del cuerpo celular y la formación de pseudocistos son consecuencia del incremento de la extensión mecánica. El resto de cambios fenotípicos podrían ser debidos a una hiperfiltración (hipertrofia), absorción de gotas (lisosomas) y degradación de las proteínas filtradas (proteinuria). Cuando disminuye el número de podocitos, la sustitución de éstos, solo es posible mediante la hipertrofia de otros podocitos intactos. Obviamente, este mecanismo está limitado especialmente en la enfermedad glomerular cuando todos los podocitos están más o menos afectados (Figura 9).

Las siguientes figuras nos muestran el posible papel de los podocitos en la degeneración del glomérulo renal (figura 10) y un esquema del desarrollo de la adhesión del capilar glomerular a la cápsula de Bowman (figura 11).

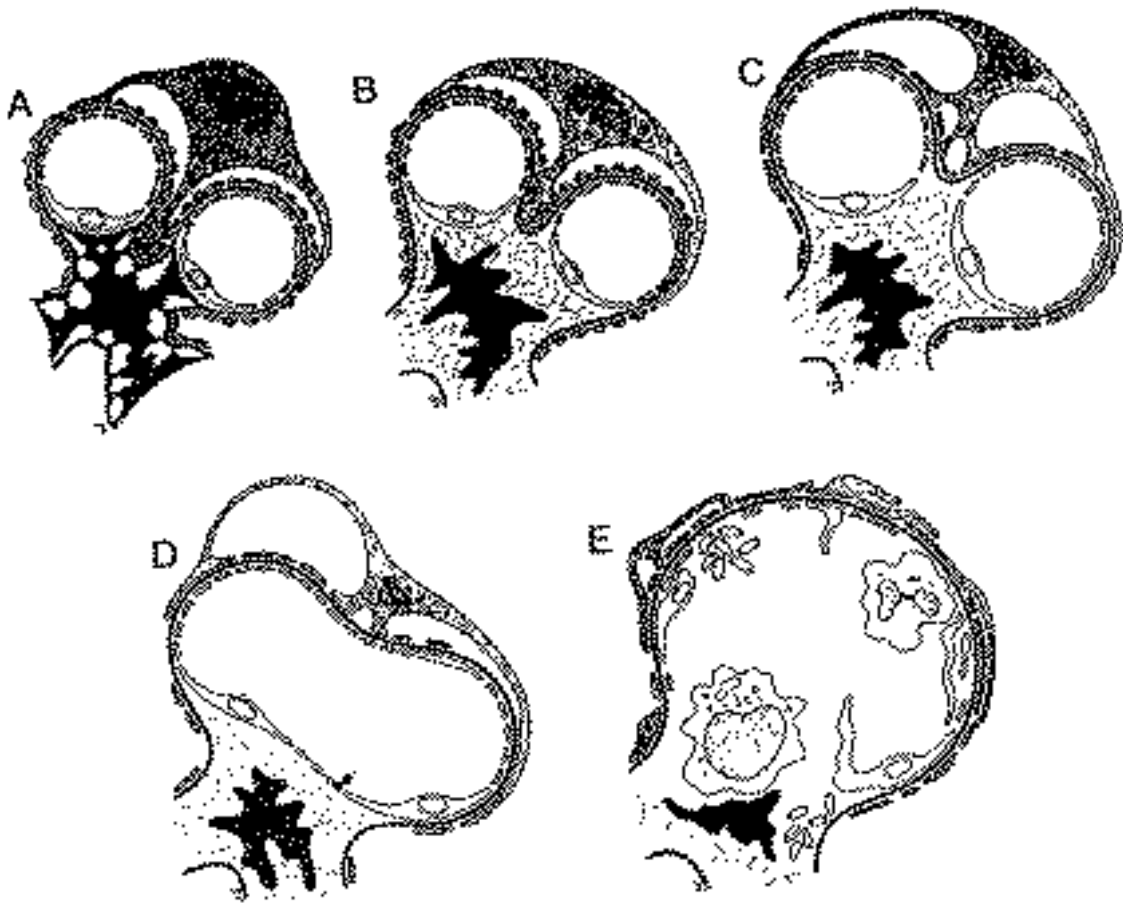


Figura 11. Papel de los podocitos en la degeneración del glomérulo renal

A, Arquitectura normal del glomérulo. B, expansión mesangial (mesangiólisis). Pérdida del soporte mecánico del mesangio (separando las uniones célula-MBG mediante la muerte celular o la lisis de la matriz mesangial). C, *capillar ballooning*. Desestabilización del soporte mecánico podocitario como consecuencia de la expansión del lumen capilar. La mesangiólisis llega a lograr que los capilares se distancien entre sí. D, Desplegamiento de los capilares. La falta de soporte por parte de las células mesangiales y los podocitos hace que el patrón normal de los capilares se pierda afectando por completo a la porción lobulillar. Las lesiones de la arquitectura glomerular conducen a una mayor destrucción de podocitos. Este suele ser un punto frecuente de partida para el desarrollo de la esclerosis. E, microaneurisma. La extensión del mesangio y la disrupción endotelial (posiblemente en conjunción con la elevada presión glomerular) lleva a un despliegamiento de la MBG de todo el lóbulo asociado con la pérdida de todo el sistema capilar, procediendo a la degeneración glomerular mediante la trombosis del mismo.

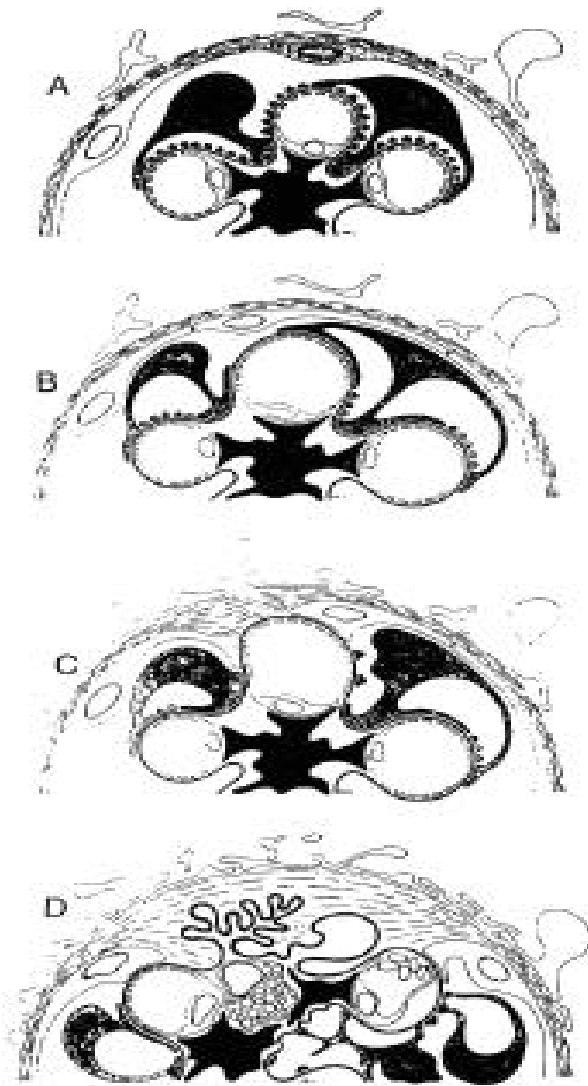


Figura 12. Esquema del desarrollo de la adhesión del capilar glomerular a la cápsula de Bowman.

A. Situación normal. Los capilares periféricos y el epitelio parietal están separados por el espacio de Bowman. **B.** Aposición. Los capilares dilatados y en parte libres de células podocitarias, se doblan hacia la cápsula de Bowman y se yuxtaponen al epitelio parietal. **C.** Adhesión. Las células parietales se disuelven unas con otras uniéndose a los lados de los capilares desprovistos de cubrimiento podocitario. Así un vacío en el epitelio parietal puede representar una ruta hacia el intersticio cortical. **D.** Crecimiento de la adhesión. Los podocitos situados en los flancos de la adhesión sufren cambios degenerativos, y finalmente mueren. La adhesión crece invadiendo a las células parietales a lo largo de la MBG hacia los capilares vecinos. La membrana basal parietal se dilata, estableciendo un espacio voluminoso que está separado del intersticio cortical por una capa de fibroblastos corticales, y del espacio urinario por un epitelio parietal adherido a los costados de la adhesión. Los podocitos desaparecen. Los capilares se colapsan o se obstruyen por hialinosis o por microtrombosis. Los macrófagos invaden los capilares y las áreas mesangiales.

¿Cómo conduce a la lesión tubular y consecuentemente a glomerulosclerosis la lesión podocitaria?

La lesión podocitaria severa incluye el desprendimiento de los podocitos de la MBG llevando a la adhesión del capilar glomerular a la cápsula de Bowman. Los capilares adheridos liberan su filtrado al intersticio no muy lejos de la cápsula de Bowman. En respuesta, los fibroblastos intersticiales crean una cubierta celular alrededor del nuevo foco de filtración intentando prevenir la entrada de filtrado en el intersticio. Esto resulta en la formación de un espacio paraglomerular repleto de fluido incrementando la lesión glomerular segmentaria. La extensión de este espacio por el

glomérulo entero lleva a la esclerosis global y la extensión por el espacio urinario hacia el túbulo correspondiente lleva a la degeneración del túbulo. Resumiendo, el fallo de la filtración glomerular y el aumento del filtrado es el mecanismo principal en la progresión de la lesión en la glomerulosclerosis focal y segmentaria clásica. La característica estructural más importante de la FSGS es la unión del ovillo glomerular al intersticio, materializada más tarde en la sinequia con la cápsula de Bowman (Figura 12).



Figura 13. Degeneración de una nefrona. Filtración incorrecta del glomérulo y expansión del filtrado glomerular

¿Cómo causan glomerulosclerosis los miofibroblastos intersticiales? Puede actuar por vía directa e indirecta; directamente, ocupando el espacio de Bowman, al que los fibroblastos son atraídos mediante factores de crecimiento o componentes quimiotácticos de la ECM tales como la fibronectina. Indirectamente, los miofibroblastos intersticiales pueden acelerar la glomerulosclerosis estrechando las arteriolas renales³⁰

La posibilidad más plausible es que la glomerulosclerosis sea el resultado final de interacciones muy complejas entre el glomérulo, los túbulos renales, el intersticio y los vasos.

1.2.2 Nefropatía diabética

La nefropatía diabética es una enfermedad glomerular secundaria a la diabetes mellitus. El principal síntoma clínico de la glomerulosclerosis diabética es la proteinuria. Al principio es intermitente, pero acaba siendo constante y cuantitativamente muy abundante, llegando a alcanzar niveles nefróticos. La proteinuria esta frecuentemente acompañada de hematuria microscópica y de hipertensión moderada. Generalmente desemboca en una enfermedad progresiva renal que acaba en fallo renal³³.

Esta enfermedad abarca una multitud de alteraciones estructurales caracterizadas por una hipertrofia temprana tanto del glomérulo como de los túbulos, un engrosamiento de la Membrana Basal Glomerular (MBG) y de la Membrana Basal Tubular (MBT), y una progresiva acumulación de los principales componentes de la matriz extracelular (ECM) en el mesangio glomerular. Estas lesiones glomerulares son las responsables de los trastornos funcionales que caracterizan a la nefropatía diabética, como son la proteinuria, la hipertensión, y el fallo renal. Se ha establecido una alta correlación entre la expansión de la matriz mesangial y el declive de la superficie de filtración. Por consiguiente, la aparición de glomerulosclerosis difusa (o nodular) en estadios avanzados de la nefropatía diabética se cree debida al progresivo declive de la tasa de filtración glomerular³¹.

La fase temprana de la nefropatía se acompaña de una hipertrofia glomerular y tubuloepitelial en la que se produce un aumento de la área o el volumen glomerular sin engrosar la MBG, como consecuencia de la estimulación de la tasa de síntesis de los constituyentes de la membrana. En una fase tardía de la enfermedad se puede observar un engrosamiento progresivo de la MBG y la MBT³¹. Este engrosamiento es un marcador muy sensible del estado de la nefropatía, el cual está altamente correlacionado con la aparición de microalbuminuria y con la expansión de la matriz mesangial. Otros estudios realizados en glomérulos aislados de ratas diabéticas se observaron un aumento significativo de los niveles de mRNA de la cadena alfa-1 del colágeno tipo IV, laminina B1 y B2, y colágenos intersticiales del tipo I y III que producían un aumento del grosor de la MBG y la MBT³².

Junto con el aumento del grosor de la MBG tiene lugar la hialinosis exudativa que provoca un daño isquémico y, como consecuencia, obliteración de las arteriolas de pequeño y medio tamaño. El grado de obstrucción de los vasos se correlaciona directamente con la severidad de la glomerulosclerosis y la fibrosis es inversa al grado de la función renal. Además, se sabe que la diabetes mellitus cursa funcionalmente con hiperfiltración, aumento del flujo plasmático renal y nefromegalia³³.

Morgensen y col. han estratificado la progresión de la ND de la DMID en cinco estadios, que probablemente son extrapolables a la DMNID ^{34,35}:

Estadio 1. Hipertrofia renal e hiperfunción en ausencia de lesiones morfológicas

No se observan anomalías morfológicas significativas en el tejido renal de esos pacientes. Sin embargo, el tamaño renal y el filtrado glomerular (FG) aumentan prácticamente en todos los pacientes ya en el momento del diagnóstico. Histológicamente se detecta un aumento del volumen glomerular de la superficie de los capilares glomerulares, cambios reversibles con un control estricto de la glucemia mediante el inicio del tratamiento insulínico. La hiperfiltración glomerular se correlaciona con el aumento de la superficie capilar. El incremento de la presión intracapilar parece ser un factor fundamental en el inicio de la progresión de la nefropatía. Esta fase suele tener una duración de unos cinco años.

Estadio 2. Lesiones glomerulares incipientes en ausencia de microalbuminuria

Durante esta fase, también denominada “fase silenciosa” y que se puede extender hasta 15 años aproximadamente, las alteraciones funcionales detectadas en la etapa 1 persisten, aunque un control metabólico más riguroso puede reducir la filtración glomerular y el filtro plasmático renal a valores próximos al normal. La excreción urinaria de albúmina aparece en general dentro de los límites normales. Es posible, sin embargo, observar en esta fase la excreción de cantidades anormalmente elevadas de albúmina después de la realización de ejercicio físico. En general, esa albuminuria que sigue al ejercicio no es detectable por métodos clínicos corrientes, exigiendo la utilización de técnicas más sensibles para su determinación. Por esta razón, este fenómeno se denomina, “microalbuminuria”, tanto si aparece espontáneo como provocado por el ejercicio. Se han descrito en esta fase lesiones glomerulares incipientes, que consisten básicamente en un engrosamiento de la membrana basal y en un aumento del volumen mesangial, con depósito de proteínas, albúmina, IgG, fibrina y productos de degradación plaquetaria.

No es frecuente la observación de hipertensión arterial franca durante esta fase, aunque la presión arterial puede estar ligeramente elevada en estos individuos. Esta hipertensión incipiente podría influir teóricamente, mediante una sobrecarga hemodinámica, en el desarrollo ulterior de la nefropatía diabética.

Estadio 3. Nefropatía incipiente

Esta etapa se caracteriza principalmente por la aparición, en el 40% aproximadamente de los pacientes con diabetes mellitus tipo I, de microalbuminuria persistente, cuya magnitud es muy variable (30-300 mg/24h). No obstante, la mayoría de los investigadores considera como anómalos

INTRODUCCIÓN

los niveles de 20mg/día. La presencia de microalbuminuria puede estar asociada a la aparición de otras anomalías, tales como una discreta hipertensión arterial e incluso una caída del ritmo de filtración glomerular, especialmente en aquellos pacientes cuya excreción urinaria de albúmina ya excede de 100mg/24h.

El aumento de la excreción urinaria de albúmina (EUA) parece estar relacionado con la pérdida del proteoglicano heparán sulfato de la membrana basal glomerular con la consiguiente alteración de las características eléctricas de la membrana, permitiendo el paso de la albúmina y otras macromoléculas electronegativas. Los componentes estructurales de la barrera de filtración situada entre la sangre que pasa por los capilares glomerulares y el espacio corpuscular son: endotelio fenestrado, la Membrana Basal Glomerular y las fisuras de filtración entre las interdigitaciones de los pedicelos. Se trata de una barrera selectiva por tamaño y por carga eléctrica de tal manera que cualquier cambio que modifique la estructura o función de estos tres componentes puede favorecer la aparición de proteinuria.

Según Wang y col ³⁶ mediante la proteinuria las moléculas filtradas pueden activar las células tubulares induciéndolas a secretar quimioquinas que atraerían a los macrófagos al intersticio peritubular y actuarían sobre los miofibroblastos aumentando la síntesis intersticial de colágenos y fibronectina, produciéndose fibrosis renal intersticial.

Estadio 4. Nefropatía diabética establecida

Después de 10 o 15 años desde el inicio de la diabetes, el 40 % aproximadamente de los pacientes diabéticos del tipo I desarrollan proteinuria progresiva, en niveles superiores a 500mg /día, fácilmente detectable por métodos clínicos rutinarios. El ritmo de filtración glomerular, que se encuentra principalmente en niveles próximos al normal, disminuye continuamente a una tasa aproximadamente de 1ml /min /mes. Un 75 % de los pacientes desarrollará en los próximos 10 años insuficiencia renal terminal. Esta progresión quizá sea inferior en el paciente con DMNID, aunque la proteinuria persistente es un factor potente de predicción de insuficiencia renal crónica terminal (IRCT).

La presencia de retinopatía diabética es un hecho universal en los pacientes con nefropatía diabética establecida. En los pacientes diabéticos tipo I con proteinuria sin retinopatía se debe destacar la existencia de otra nefropatía no relacionada con la diabetes. El riesgo de afectación coronaria y de mortalidad por esta causa es más elevado.

Estudio 5. Insuficiencia renal terminal

Tras un periodo que se extiende típicamente por 10 años desde la aparición de la proteinuria clínicamente detectable, los pacientes diabéticos con nefropatía llegan a la etapa de la enfermedad renal terminal. La proteinuria se incrementa, llegando a rango nefrótico. La existencia de proteinuria nefrótica no siempre se acompaña de síndrome nefrótico completo, clínico y biológico. Es frecuente constatar una proteinuria superior a 3g /día, pero manteniendo la cifra de albuminuria superior a 30g /l, incluso hasta el momento del deterioro final de la función renal. La presencia de proteinuria de rango nefrótico condiciona un rápido descenso del filtrado glomerular. El pronóstico de estos pacientes una vez alcanzada esta etapa es pesimista, incluso cuando se instituyen terapéuticas de sustitución tales como la diálisis y el trasplante renal.

1.2.3 Hiperlipidemia y la progresión de la ERP

Datos experimentales sugieren la idea de que los niveles altos de lípidos pueden provocar daño renal^{37,38}. Este daño se acentúa cuando se da la presencia de otros factores como la hipertensión³⁹, la reducción en el número de nefronas⁴⁰ o la existencia de un daño glomerular previo⁴¹. Por otro lado, los de agentes hipolipemiantes retardan y previenen el desarrollo de la glomerulosclerosis^{42,43}. Los mecanismos por los cuales los lípidos inducen glomerulosclerosis no están del todo dilucidados, aunque algunos estudios experimentales apuntan a la infiltración de macrófagos⁴⁴, a la alteración de la biología de las células mesangiales⁴⁵ y a la modificación de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) entre otras causas⁴⁶.

1.2.3.1 Hiperlipidemia en el síndrome nefrótico

La mayor asociación de las anormalidades lipídicas en la enfermedad renal se encuentra en el síndrome nefrótico, donde se dan niveles elevados de colesterol en el plasma y en menor proporción, de triglicéridos y lipoproteína (a). El síndrome nefrótico muestra unos niveles de colesterol HDL reducidos y una disminución de la fracción de HDL-2. Estudios en la literatura apuntan a un incremento de las proteínas que transfieren ésteres de colesterol que contribuyen como lanzaderas de los ésteres de colesterol (HDL2) a lipoproteínas de baja densidad⁴⁷.

En el síndrome nefrótico, la concentración en plasma de apolipoproteínas generalmente refleja el metabolismo de las lipoproteínas. Así, se dan niveles elevados de apo B, C-II, y E, las cuales están asociadas a las VLDL y las LDL. Por otro lado, los niveles principales de lipoproteínas asociadas a las HDL, las apo A-I y A-II son usualmente normales.

Los dos trastornos lipídicos más frecuentes en el síndrome nefrótico son la hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia.

Hipercolesterolemia: En un estudio de 100 pacientes con síndrome nefrótico se encontraron niveles de colesterol en plasma que excedían en 200mg/ dl en 87% de los pacientes; 300 mg/ dl en el 53% y 400mg/ dl en el 25%⁴⁸. Se ha visto que la respuesta hipercolesterolémica es desencadenada en parte por la reducción de la presión oncótica y la severidad de ésta es inversamente proporcional a dicha presión⁴⁹. Además, se ha visto que si se aumenta la presión oncótica del plasma con albúmina o dextrano, se revierten los cambios produciéndose una rápida reducción de los lípidos en los pacientes con síndrome nefrótico⁵⁰.

Por otro lado, estudios in vitro han mostrado que una baja presión oncótica estimula directamente la transcripción génica de la apoproteína B hepática⁴⁹. La razón por la que la presión oncótica estimula la producción hepática de lipoproteínas se desconoce todavía. Nuevas técnicas sugieren que el principal responsable de la hipercolesterolemia en pacientes con síndrome nefrótico es un catabolismo disminuido, en detrimento de una intensificación de la síntesis hepática de lipoproteínas.⁵¹

Hipertrigliceridemia: El defecto en el catabolismo de los triglicéridos está íntimamente relacionado con el aclaramiento de la albúmina renal, y no con la presión oncótica del plasma⁵². Estos hallazgos sugieren un papel principal en la pérdida por la orina de algún regulador del metabolismo de los lípidos. Se ha visto que los niveles de triglicéridos plasmáticos son más altos en las ratas con síndrome nefrótico que en ratas con albuminemia a pesar de tener tasas de producción de triglicéridos y presiones oncóticas similares⁵³. Así, un catabolismo reducido de los triglicéridos debería jugar un papel importante en la hipertrigliceridemia, efecto que no puede ser explicado con la disminución de la presión oncótica⁵⁴.

1.2.3.2 Lípidos y diabetes mellitus

La diabetes mellitus se asocia a un incremento de los lípidos plasmáticos (principalmente de triglicéridos) en pacientes no tratados o con un control metabólico pobre. Al producirse un déficit agudo de insulina se movilizan los ácidos grasos libres (AGL) desde el tejido adiposo al hígado, lo que comporta un aumento en la secreción hepática de lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Al mismo tiempo disminuye la actividad de la LPL, produciéndose un déficit en el aclaramiento plasmático de las VLDL y de los quilomicrones.

En pacientes con la DMID, con un control metabólico pobre, se dan modificaciones en la cantidad de lipoproteínas además de tener alterada su composición: Las VLDL contienen un relativo exceso

de apolipoproteínas C y E mientras que las LDL son partículas más pequeñas y densas enriquecidas en triglicéridos pero deplecionadas en ésteres de colesterol.

El aumento de la concentración de las VLDL en la DMID está estrechamente relacionado con el control glicémico y es secundario tanto a una alteración en su catabolismo (disfunción de la actividad de la LPL) como a un incremento de su síntesis (los hepatocitos tienen una mayor disponibilidad de sustrato glucídico y de AGL). Los mecanismos postulados como responsables del incremento de las LDL en plasma son independientes del déficit de actividad de las LPL y están más relacionados con las alteraciones en la composición que experimentan las lipoproteínas. Así, las VLDL sintetizadas durante una situación de descompensación cetoacidótica son más ricas en colesterol libre y esterificado, dando lugar a unas LDL más pequeñas y densas que al no ser reconocidas por el receptor apoB-E no pueden ser eliminadas del plasma. Además, durante su larga permanencia en el plasma y debido a la hiperglucemia la apoB de las LDL puede sufrir una glucosilación no enzimática hecho que impide su interacción con el receptor. Por otra parte, el déficit de insulina disminuye la actividad del receptor apoB-E, dificultando aún más la unión de las LDL con su receptor específico.

La insulina interfiere en el metabolismo lipídico en diferentes puntos, siendo fundamental en la regulación del metabolismo postprandial. Inhibe la movilización de los AGL del tejido adiposo, sobretudo en períodos postprandiales, y aumenta la reesterificación de los ácidos grasos dentro del tejido adiposo, acciones mediadas por la inhibición de la LPL intracelular. Al no llegar los AGL al hígado se produce una disminución de la síntesis hepática de las VLDL. Por otra parte, la insulina estimula la LPL endotelial, dando lugar a la cascada lipolítica de las lipopartículas ricas en triglicéridos, con el consiguiente intercambio de lípidos que se produce entre estas lipoproteínas y las HDL mediante la acción transferidora de ésteres de colesterol (CETP).

Las alteraciones más frecuentes que se producen en el metabolismo lipídico de los pacientes con la DMNID consisten en un incremento de las concentraciones plasmáticas de triglicéridos y las VLDL y una disminución de las HDL. El aumento de colesterol total, aunque menos constante que la hipertrigliceridemia merece una especial atención, ya que una importante proporción depende de la acumulación de partículas de densidad intermedia (IDL), de alto poder aterogénico. Como sucedía con la DMID, en la DMNID también se aprecian modificaciones de las lipoproteínas. Las VLDL e IDL son más ricas en colesterol no esterificado y apo B y E, mientras que las LDL son más ricas en colesterol, pequeñas y densas.

En la DMNID la fisiopatología del aumento de las VLDL deriva de la presencia de obesidad y de la resistencia a la insulina concomitantes en ese tipo de diabetes y son conocidos como síndrome X.

INTRODUCCIÓN

Reaven⁵⁵ definió más concretamente las características de este síndrome, llamado también síndrome plurimetabólico, que consiste en hiperinsulinismo, resistencia a la insulina, obesidad central, hipertensión arterial, elevaciones de las concentraciones plasmáticas de triglicéridos y descenso del colesterol-HDL e intolerancia hidrocarbonada o DMNID.

En el síndrome de resistencia insulínica está acelerado el proceso de movilización de los AGL desde el tejido adiposo al hígado y aumentada la síntesis hepática de la VLDL. También está disminuida la actividad de la LPL endotelial, por lo que las lipoproteínas ricas en triglicéridos no pueden ser catabolizadas, permaneciendo en el plasma y contribuyendo así al aumento de triglicéridos que se produce en este proceso durante los períodos postprandiales.

En la DMNID, el incremento de la síntesis hepática de las VLDL condiciona un aumento de las LDL plasmáticas, más aterogénicas que las LDL de los individuos normales, ya que pueden sufrir modificaciones en su composición. Al no poder ser reconocidas por los receptores específicos tienen que ser eliminadas del torrente circulatorio por la vía del receptor “scavenger” de los macrófagos, dando lugar a la formación de células espumosas. Igualmente, las HDL pueden sufrir una glicación, y aunque no se modifica su composición lipídica pierden eficacia en su función de productora de aflujo del colesterol celular y participación en el transporte reverso del colesterol. Por otra parte, el descenso de la actividad de la LPL está relacionado con una disminución irregular de las concentraciones plasmáticas de estas partículas.

1.3 Modelos experimentales de Enfermedad renal progresiva

1.3.1 Modelos animales asociados a diabetes tipo II

En el presente capítulo, se va a enumerar los modelos animales actuales disponibles de diabetes tipo II. Muchos de estos modelos, la progresión de hiperinsulinemia al de insulinopenia ofrece una difícil interpretación. Algunas cepas, tales como los ratones NON o las ratas diabéticas Cohen o OLEFT, presentan, en términos de mecanismos patogénicos, una combinación de diabetes tipo I y II. También se observan otros problemas. En particular, en los ratones, la información de la presión sanguínea generalmente no está disponible y esto hace que el análisis de los mecanismos patogénicos sea más arduo. En muchos modelos de roedores tipo II, en particular en aquellos que muestran síntomas de síndrome metabólico, la hiperlipidemia se encuentra combinada con hiperinsulinemia y/o diabetes. Únicamente, como se discutirá en detalle para la rata Zucker Obese, la hiperlipidemia representa un mecanismo importante de daño renal independiente de la diabetes. Además, el perfil lipídico de los roedores no es comparable con el del hombre, lo cual impone restricciones a la hora de extrapolar la diabetes II asociada a la hiperlipidemia. En conclusión, los mecanismos patogénicos de los cambios renales en muchos de estos modelos son difíciles de identificar y separar unos de otros. Por lo tanto, la utilidad de estos modelos animales para el estudio de la implicación de la DMNID en la lesión renal es comprometida.

1.3.1.1 Ratón Kuo Kondo (KK)

El ratón KK fue una de las diferentes cepas que establecieron Kondo y col⁵⁶ en 1957. Debido a la herencia poligénica del fenotipo diabético no existe un control apropiado de este ratón. La cepa se caracteriza metabólicamente por una hiperglicemia moderada con niveles de glucosa máximos a los cinco meses de edad, así como hiperinsulinemia y una mala tolerancia de la glucosa a partir de dos meses. El ratón KK es moderadamente obeso. Las bases moleculares de esta obesidad no están claras, pero parece que no se debe a ninguna mutación en el gen *ob*. La proteinuria incrementa con la edad. Histológicamente se observa proliferación mesangial y un incremento continuo de glomerulosclerosis focal y nodular. Sin embargo, estos nódulos son diferentes a los que se producen en la nefropatía diabética humana, los cuales se localizan cerca del hilo y son menos prominentes y extensos. Inmunohistológicamente, hallamos deposiciones de inmunoglobulina y del complemento en el mesangio y a lo largo de la pared del capilar glomerular. Muestra una lesión exudativa llamada cápsula fibrinoide.

1.3.1.2 Ratón KK^{Ay}

Ratón KK que expresa el gen *Ay*, y desarrolla obesidad, hiperfagia, resistencia a insulina, y una hiperlipidemia severa. El modelo se caracteriza por un inicio temprano y prolongado de niveles severos de hiperinsulinemia e hiperglicemia. El ratón KK^{Ay} desarrolla rápidamente un engrosamiento de la membrana basal glomerular visible a los tres meses de edad. También, se observan un aumento de tamaño glomerular y una dilatación de los capilares glomerulares. El ratón KK^{Ay} desarrolla un aumento de la matriz extracelular mesangial. La hidronefrosis mostrada por la mayoría de estos ratones entre los 6 y 7 meses de edad limita la viabilidad de este modelo. Este desorden causa una distensión en la vejiga y una alta tasa de mortalidad a los 7 meses de edad debido al fallo renal⁵⁷.

1.3.1.3 Ratón obeso New Zealand (NZO)

Modelo animal de enfermedad autoinmune que desarrolla anemia hemolítica de Coomb y glomérulonefritis. El ratón NZO desarrolla hiperfagia, obesidad, hiperglicemia moderada, intolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia y resistencia a la insulina⁵⁸. La obesidad es debida a la resistencia a la leptina. Los cambios renales incluyen proliferación glomerular severa, engrosamiento de la membrana basal glomerular, glomerulosclerosis, nódulos eosinofílicos en algunos glomérulos, hialinización ocasional de algunas arteriolas.

1.3.1.4 Ratón ob/ob

El ratón ob/ob tiene una mutación en el gen *ob* que comporta una deficiencia en el gen de la leptina. Este ratón fue descubierto inicialmente como una mutación espontánea somática recesiva que desarrollaba obesidad e hiperglicemia. La cepa del ratón ob/ob C57BL/K^{sj} desarrolla diabetes severa. Exhibe una hiperinsulinemia inicial seguida de un rápido desarrollo de la insulinopenia a causa de la atrofia de las células- β , así como una hiperglicemia severa, provocando la muerte temprana del animal. La nefropatía no se desarrolla en todos los ratones ob/ob⁵⁹, mientras que se ha descrito una susceptibilidad particular de estos ratones a la nefrotoxicidad inducida por metales pesados⁶⁰.

1.3.1.5 Ratón diabético db/db

Ratón con una mutación del gen recesivo *db*, que codifica para el receptor de la leptina, dando como resultado una obesidad marcada y diabetes tipo II. El síndrome diabético se caracteriza por una hiperinsulinemia temprana, hiperfagia, obesidad e hiperglicemia progresiva⁶¹. La hiperinsulinemia aparece a los 10 días de edad, alcanzando su pico máximo a los tres meses de edad, a partir del cual va disminuyendo hasta registrar niveles normales. Después de varios meses

el ratón deja de ganar peso, y desarrolla una atrofia de las células- paralelamente a una disminución de los niveles de insulina, muriendo antes de llegar a los 10 meses de edad.

1.3.1.6 Rata diabética Cohen

La rata diabética Cohen fue desarrollada mediante selección genética de ratas albinas a partir de una cepa de la Universidad de Hebrew ya que desarrollaban síndrome diabético cuando eran alimentadas con concentrados de sucrosa pobres en cobre⁶². La cepa presenta hiperglicemia, glucosuria, hiperinsulinemia con un desarrollo de hipoinsulinemia y resistencia a la insulina. La dieta rica en sucrosa y pobre en cobre es prerequisite para el desarrollo de la diabetes y sus posteriores complicaciones.

1.3.1.7 Rata hipertensa diabética Cohen-Rosenthal

Esta cepa se desarrolló con el cruce de ratas diabéticas Cohen y ratas espontáneamente hipertensas. El emparejamiento fue llevado a cabo entre animales con mayores niveles de glucosa en sangre y con mayor presión sanguínea, creando así una cepa con DMNID e hipertensión genética. Como en la rata diabética Cohen, se requiere una dieta rica en sucrosa y pobre en cobre para inducir el síndrome diabético en esta cepa. Además de una glomerulosclerosis severa se han encontrado cambios en las arterias y arteriolas que no aparecían en la rata diabética Cohen, consistentes en necrosis fibrinoides y en una hiperplasia de las células musculares lisas⁶³.

1.3.1.8 Rata Otsuka Long-Evans Tokushima fatty (OLEFT)

Rata espontáneamente diabética con poliuria, polidipsia y obesidad moderada que fue descubierta en 1984 en una colonia no consanguínea (outbred) de ratas Long-Evans. Las ratas macho OLEFT se caracterizan por una obesidad moderada y una mala tolerancia a la glucosa a partir de las 8 semanas de edad. También se observan hipertrigliceridemia y una leve hipercolesterolemia a las 8 semanas de edad. A las 24 semanas, desarrollan hiperinsulinemia. Recientemente, se ha visto que desarrollan hipertensión a partir de las 10 semanas de edad⁶⁴.

Los machos muestran una albuminuria elevada a las 6 semanas de edad con anterioridad a la diabetes. Se observa un incremento del tamaño del riñón. La nefropatía en las ratas OLEFT se caracteriza por la presencia de glomerulosclerosis y lesiones nodulares.

1.3.1.9 Rata hipertensa espontáneamente hipertensa (SHR)

La rata hipertensa espontáneamente hipertensa (o rata Koleski) se generó en 1970 después de una mutación espontánea que sufrió la descendencia de un cruce entre una hembra Wistar Kyoto

espontáneamente hipertensa y un macho normoteso Sprague-Dawley. El fenotipo obeso es debido a una mutación autosómica recesiva denominada corpulenta (cp) la cual protagoniza el mismo gen que actúa en la mutación de la rata Zucker obesa. La rata SHR está caracterizada por hiperfagia y obesidad. Entre los 5 y 8 meses de edad muestra una marcada trigliceridemia y una hipercolesterolemia moderada. Además, tiene una mala tolerancia a la glucosa, hiperinsulinemia alta y resistencia a la insulina. La proteinuria se manifiesta a edades muy tempranas y es acompañada de hipoproteinemia.

1.3.1.10 Rata corpulenta-NIH/ espontáneamente hipertensa

Es el cruce de un macho heterocigoto Kotetsky para el gen corpulento (cp/+) y una hembra SHR de una cepa Okamoto. Después de varios cruces, las ratas homocigotas (cp/cp) mostraron ser obesas, hiperglicémicas, hipertriglicémicas, hiperinsulinémicas e intolerantes a la glucosa⁶⁵. Los machos ostentan una mayor intolerancia a la glucosa que las hembras, desarrollando glucosuria. La hipertensión en los machos de esta cepa desaparece cuando la obesidad entra en escena. Los islotes pancreáticos ofrecen una hiperplasia de las células-β. Las ratas obesas SHR/N-cp desarrollan proteinuria y nefropatía a partir de los 5 meses de edad. Tienen los riñones grandes, muestran una expansión del mesangio y un aumento del número de células. Algunos glomérulos presentan lesiones nodulares y glomerulosclerosis focal y segmentaria.

1.3.1.11 Rata fatty Zucker diabética

Esta cepa deriva de algunas ratas Zucker que desarrollaban de manera especial altos niveles de glucosa mediante una selección a lo largo de varias generaciones de cruzamientos. Afecta a los machos obesos que desarrollan hiperglicemia e hiperlipidemia con niveles de insulina altos. Estos animales no desarrollan hipertensión. La albuminuria ocurre muy tempranamente y se desarrolla cronológicamente. Las ratas diabéticas desarrollan hipertrofia renal y glomerulosclerosis focal y segmentaria. Sin embargo, la presencia de lesiones renales no diabéticas dificulta la interpretación de la morfología renal y compromete la utilidad de este modelo en la nefropatía diabética.

1.3.1.12 Rata Wistar fatty (fa/fa)

La rata Wistar fatty se desarrolló mediante la transferencia del gen fa de la rata Zucker obesa a la rata Wistar-Kyoto, la cual es menos sensible a la insulina y menos tolerante a la glucosa que las ratas Zucker lean. Las ratas fatty Wistar-Kyoto muestran obesidad, hiperfagia, hiperinsulinemia, hiperlipidemia y resistencia a la insulina periférica. Se observa hipertrofia de los islotes pancreáticos y la degranulación de las células-β pancreáticas. La liberación de insulina pancreática disminuye en los machos. Únicamente los machos, desarrollan síntomas diabéticos como

hiperglicemia progresiva, polidipsia y glucosuria a las 8 semanas de edad. Por su parte, las hembras desarrollan hiperglicemia cuando se las alimenta con una dieta alta en sucrosa.⁶⁶

1.3.1.13 Rata Goto-Kakizaki (GK)

La rata Goto-Kakizaki es una cepa no-obesa y moderadamente diabética que se desarrolló a partir de un stock de ratas Wistar mediante una selección de aquellos animales que presentaban niveles de glucosa mayores durante el test oral de tolerancia a la glucosa a lo largo de más generaciones. El establecimiento de la cepa como DMNID ocurre entre las 3 y 4 semanas de edad, y es el resultado de varios patomecanismos que incluyen el empeoramiento ontogenético del desarrollo de los islotes, la liberación anormal de insulina, resistencia a insulina, hiperinsulinemia basal así como metabolismo anormal de la glucosa. Se produce un engrosamiento de la membrana basal glomerular a partir de las 12 semanas de edad. Sin embargo, se conoce poco de los cambios estructurales y funcionales renales de esta rata⁶⁷.

EL desarrollo de la DMNID, pe hiperglicemia, en las ratas GK no está asociado a ningún hecho del síndrome metabólico, en particular a la obesidad, hiperlipidemia e hipertensión. En este aspecto, las ratas GK se diferencian de otros modelos de roedores de DMNID. Se ha observado que la hiperglicemia e hiperinsulinemia prolongada que se dan en este modelo, no está asociado a ningún cambio funcional renal, en particular con la albuminuria. A pesar de la ausencia de cambios funcionales, se pueden observar modificaciones estructurales como: la hipertrofia glomerular temprana y el engrosamiento de las membranas tubulares y glomerulares. Estos cambios son similares a los que ocurren en la fase preclínica de la diabetes humana. Por el contrario, no se han encontrado signos de activación mesangial o de los fibroblastos intersticiales, puestos de manifiesto por la expresión *de novo* del filamento intermedio α -actina, proliferación celular o acumulación de matriz extracelular⁶⁸.

1.3.2 Rata Zucker Obese: Modelo de obesidad, resistencia a la insulina e hiperlipidemia

La rata Zucker obesa (RZO) es el modelo de obesidad más idóneo para estudiar la Diabetes Mellitus II humana⁶⁹. Esta cepa es el resultado de una mutación espontánea en un cruce entre las ratas Merck Stock M y Sherman⁷⁰.

La obesidad parece ser debida a un gen autosómico recesivo denominado *fa*, donde *Fa* representa el alelo normal, que se hereda por herencia mendeliana. Estas ratas, a diferencia de las Zucker lean, los controles sanos, son obesas, hiperfágicas e hiperinsulinémicas, aunque los niveles de glucosa en sangre se mantienen dentro de la normalidad.

La RZO es un modelo clave para el estudio de la obesidad y la resistencia a la insulina, así como la relación de ambos procesos con la patogénesis de la hipertensión sistémica. Además, debido al desarrollo de la proteinuria y de la glomerulosclerosis previo al establecimiento de la hiperlipidemia, nos permite analizar la participación de los factores de riesgo asociados a la enfermedad vascular en el desarrollo de la lesión glomerular⁷¹. Estudios experimentales han demostrado que la edad y la dieta tienen un efecto directo en la respuesta fisiológica de estas ratas⁷².

Después del nacimiento, los homocigotos *fa/fa* no se diferencian de los heterocigotos hasta el tercer o cuarto día. En la 5ª semana se evidencian diferencias palpables en cuanto al contenido de grasa del cuerpo; las RZO son hiperfágicas y presentan una actividad física muy baja. Es a partir de este momento cuando aparecen las anomalías metabólicas que caracterizan a esta cepa: incremento del contenido de lipoproteínas en el suero, hipertrigliceridemia y hipercolesterolemia. Entre las semanas 10 y 12 se produce una acumulación de VLDL en ausencia de lesiones glomerulares aparentes y de microalbuminuria. La glomerulosclerosis empieza aproximadamente a los 6 meses de edad y entre las 24 y 48 semanas los depósitos de fibronectina, laminina, colágeno IV y ApoB en el mesangio glomerular son más frecuentes.

Las características más importantes de la RZO se detallan a continuación:

1.3.2.1 Obesidad

Se ha demostrado que la RZO incrementa mucho más el depósito de grasa por gramo de ingesta que sus homólogas, las ratas Zucker lean. Este hecho indicaría un mayor aprovechamiento de la comida por parte de la RZO. Además, la hiperfagia suele ir acompañada de la disminución de actividad física⁷⁰.

Algunos investigadores han relacionado la obesidad a efectos hipotalámicos⁷³. Estos efectos explicarían algunas de las anomalías encontradas en el sistema nervioso simpático, así como el bajo recambio de la norepinefrina en el tejido adiposo marrón. Una reducción en la regulación de este tejido por parte del sistema nervioso simpático podría ser el causante de la termogénesis incompleta que contribuiría a la obesidad de las RZO.

Los adipositos de las RZO tienen una medida superior al de los ratas Zucker lean y se acumulan mayoritariamente formando importantes depósitos subcutáneos⁷⁰.

1.3.2.2 Características metabólicas y hormonales

La hiperinsulinemia es la característica más conocida de la RZO, por la implicación que tiene como modelo experimental de DMNID. Está influida por la concentración de carbohidratos de la dieta y suele aparecer entre las 3 y 4 semanas de edad, manteniéndose los niveles de insulina elevados independientemente de las condiciones nutricionales. Se incrementa la síntesis de insulina por parte del páncreas y secreción por las células- β . Asimismo, las RZO son insulino-resistentes.

Estudios recientes parecen demostrar que la resistencia a la insulina es específica del tejido, siendo mayor en el músculo, donde se detectan niveles bajos de autofosforilación de la Tirosina quinasa C. Asimismo, en el hígado y el corazón se detecta una actividad baja de la Proteína quinasa C⁷¹. Estos estudios sugieren que la resistencia a insulina puede ser debida a anomalías en el receptor.

También se detectó una especificidad concerniente a la captación de la glucosa; ésta es alta en el tejido adiposo blanco y se mantiene baja en el marrón y en el músculo. Así, la energía tiende a ser almacenada en lugar de ser consumida por el tejido adiposo marrón, pudiendo contribuir a la patogénesis de la obesidad.

Los niveles de glucagón en el páncreas suelen ser normales, aunque su secreción es inferior. Tiene una función tiroidea alterada, siendo hipotiroideas. La pituitaria de las RZO tiene un tamaño inferior al de las ratas Zucker lean. La función reproductora está alterada; las hembras tienen el tracto genital atrofiado y los machos presentan una disminución del tamaño testicular. La secreción de gonadotropinas es defectuosa y se incrementa la producción de esteroides suprarrenales⁷⁰.

Las RZO desarrollan hígados grasos. La albúmina sérica se encuentra en mayor concentración. Asimismo, no se encuentran diferencias en el hematocrito ni en el número de células blancas sanguíneas. La agregación plaquetaria y la producción de tromboxano también se mantienen en niveles normales⁷⁴.

1.3.2.3 Hipertensión

Estudios comparativos de la RZO y la RZL ponen de manifiesto que los dos tipos de rata tienen una presión muy similar y únicamente tiende a aumentar en las RZO adultas (de más de 6 meses de edad). De estos estudios se puede concluir que el ligero aumento de presión que se detecta en la RZO adulta se da con posterioridad al desarrollo de la lesión renal y es independiente de la obesidad y la resistencia a la insulina⁷³.

1.3.2.4 Hiperlipemia

En la RZO los triglicéridos son los lípidos que más influyen en el desarrollo de la obesidad y el establecimiento de la lesión glomerular. La hipertrigliceridemia, que ocurre en la RZO a las dos semanas de nacimiento, con la edad llega a alcanzar niveles 10 veces superiores a las RZL. El colesterol, en cambio llegará a ser el doble. Además de los cambios que se producen en la composición de las lipoproteínas, recuerdan a las anomalías que se produce en la DMNID: las lipoproteínas VLDL son menos densas y con un elevado contenido de triglicéridos⁷⁵.

El hígado es el órgano implicado en el incremento de lipoproteínas circulantes. El aumento de la lipogénesis es característico de las ratas jóvenes, y suele estar asociado a una disminución de la oxidación hepática de los ácidos grasos. El resultado final es el incremento de la síntesis de lipoproteínas ricas en triglicéridos. Además, el catabolismo de los triglicéridos circulantes es inferior que en las RZL. A pesar de todo esto (el tejido adiposo marrón, el tejido principal de oxidación de los ácidos grasos), la actividad de la lipoproteína lipasa disminuye, aumentando en el tejido adiposo blanco, lugar de almacenamiento⁷⁶.

La patogénesis de las anomalías lipoproteicas es desconocida. Su papel en la lesión glomerular parece estar relacionado con las características aterogénicas de las VLDL, las cuales debido a su tamaño y composición, facilitan su unión a los receptores situados en la membrana plasmática de los macrófagos. Se forman así las células espumosas. Además, parece que el pequeño tamaño de las partículas de las VLDL facilite la filtración a través de la pared arterial, aportando así grandes cantidades de colesterol a la pared y al mesangio glomerular. A pesar de esta facilidad de paso del colesterol a través de la pared arterial, parece que la arteriosclerosis en la RZO no se desarrolla de forma espontánea. Esta resistencia a la génesis de la arteriosclerosis es compartida por la mayoría de cepas de rata.

1.3.2.5 Lesión Renal

En las RZO, la proteinuria se inicia a los 3 meses de edad y progresa hasta que la glomerulosclerosis se hace evidente a los 6 meses y se produce hipoalbuminemia. Las RZL, en cambio, presentan niveles de proteinuria y lesión renal muy inferiores y, como en muchas cepas de ratas depende de la edad.

Encontramos un paralelismo en las lesiones histológicas presentes en las RZO y las RZL envejecidas, mostrando las primeras un desarrollo de la lesión renal más acelerado.

El mesangio se expande como consecuencia de la proliferación celular y el acumulo de macromoléculas y proteínas. Estudios realizados valorando la concentración de fibronectina en el mesangio glomerular han mostrado el acumulo de proteínas junto con la disminución de la actividad proteinasa en la matriz mesangial⁷⁷.

Las células epiteliales se desenganchan de la MBG y se fusionan sus podocitos

Dilatación de los túbulos distales con depósitos de eosinófilos, infiltraciones de células mononucleares y fibrosis

En las arterias y arteriolas se detecta una proliferación de las células musculares lisas de la capa media y una pequeña proliferación de la íntima.

Actualmente, se desconocen cuales son las causas que originan las lesiones glomerulares, asimismo diferentes autores han intentado relacionarla con la hemodinámica glomerular, la hiperlipidemia, los niveles de lipoproteínas circulantes o la reducción de los niveles de PUFAs tisulares⁷¹.

Los factores hemodinámicos como la presión glomerular, la tensión de la pared capilar y el tamaño glomerular parecen influir en la progresión de la lesión renal y no en su origen, ya que sus valores incrementan cuando ésta ya esta establecida. Se ha visto que el tratamiento de RZO con IECAs reduce la presión sanguínea, los lípidos séricos, la área glomerular, la albuminuria y la glomerulosclerosis focal, en antítesis a una elevada presión capilar⁷⁸.

Para probar si la hiperlipidemia contribuía al inicio y progresión de la glomerulosclerosis, RZO se trataron con diferentes hipolipemiantes⁷⁹. Tanto la lovastatina como el ácido clofibrico redujeron los lípidos séricos y la lesión glomerular.

1.4 Mecanismos de progresión de la lesión renal

Los mecanismos que subyacen en la progresión de la ERP son difíciles de establecer debido a varias razones. En primer lugar, el glomérulo y el intersticio tienen un repertorio limitado de respuestas ante un insulto, por lo tanto el riñón actúa de una manera más o menos similar frente a una gran variedad de agresiones diferentes. La principal manifestación de estas causas de lesión renal es la glomerulosclerosis focal y segmentaria. En ésta, las estructuras celulares especializadas son reemplazadas por fibroblastos, colágeno y matriz mesenquimal, con interrupción de las funciones renales como la filtración, la secreción y la reabsorción. Además, cuando se examina un riñón en fases finales es imposible elucidar la causa de la esclerosis o adivinar el insulto inicial.

En segundo lugar, el riñón dañado tiene tendencia a deteriorarse. En modelos experimentales, se ha demostrado que la insuficiencia renal establecida puede progresar incluso después de haber cesado el insulto inicial. Por lo tanto, el riñón por sí mismo contribuye a su deterioro como resultado de sus respuestas a la lesión, respuestas que sólo son identificables inicialmente⁸⁰.

Los cambios que caracterizan a las fases iniciales son una disfunción de capilares en el glomérulo, una proliferación celular en áreas localizadas y un scarring progresivo, alcanzando el colapso de la luz capilar. Los túbulos cercanos a los glomérulos lesionados suelen atrofiarse, siendo rodeados por células inflamatorias. Se produce una fibrosis difusa caracterizada por depósitos de colágeno, matriz mesenquimal, lípidos y fibroblastos. La membrana basal glomerular de los túbulos y glomérulos aumenta su grosor durante las primeras fases de la nefropatía, y se condensa en un material amorfo al final de la misma⁸¹.

Una gran variedad de enfermedades progresa hacia disfunciones renales terminales, como la glomerulonefritis crónica, la nefropatía diabética, y la enfermedad del riñón poliquístico. Aunque el problema subyacente a menudo no puede ser tratado, existen estudios experimentales en animales y estudios preliminares en humanos que sugieren que el avance de la enfermedad renal progresiva puede deberse principalmente a factores hemodinámicos como la hipertensión glomerular sistémica e intraglomerular, la hipertrofia glomerular y a factores no hemodinámicos como la precipitación intrarrenal de fosfatos cálcicos, la hiperlipidemia, la angiotensina II y los factores de crecimiento relacionados con la expansión de la matriz extracelular⁸².

1.4.1 Cambios hemodinámicos

1.4.1.1 Hipertensión glomerular

La pérdida de masa renal por extirpación o por el curso de una nefropatía trae consigo adaptaciones funcionales y estructurales en las nefronas remanentes que permiten suplir en parte la función de

las que se han perdido. Se ha establecido que el factor predominante por el cual la hiperfunción glomerular produce lesión renal es la elevación de la presión intraglomerular en detrimento del aumento en filtración y flujo⁸³. Se han realizado estudios⁸⁴ en ratas con reducción de 2/3 de la masa renal izquierda e hipertensión sistémica causada por estenosis de la arteria renal derecha, observándose un aumento significativo del flujo plasmático glomerular de 98-254 nl /min y de la filtración glomerular por nefrona de 30 a 75 nl /min con cambios en la presión capilar glomerular (44 vs 43 mm Hg). Cuando se añadía hipertensión arterial, el flujo plasmático y la filtración aumentaban en la misma proporción (258- y 77 nl /min), sin embargo la presión capilar glomerular resultaba ser significativamente más alta que en los grupos control (52mm Hg). Además, el estudio histológico de los glomérulos mostró francas alteraciones estructurales. que consistían en una expansión y proliferación mesangial, una dilatación de asas capilares, una formación de microaneurismas y una esclerosis glomerular segmentaria y global. Resultados semejantes se han obtenido en otros estudios en ratas con ablación extensa de la masa renal y en ratas con diabetes experimental en las que la disminución de la presión glomerular, inducida con inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina, prevenía la esclerosis glomerular y el flujo glomerular⁸⁴.

Wardle y col⁸⁵ interpretaron el papel de la hipertensión glomerular como inductora de una tensión mecánica en las paredes de los capilares que contribuiría a crear la lesión glomerular y provocaría una respuesta de las células glomerulares al estrés. También comprobaron que con la hipertensión, la tensión de las paredes podía aumentar un 500%, siendo normal la pérdida de proteínas a través del endotelio fenestrado. Además, las células endoteliales son sensibles al estrés, respondiendo a éste con la secreción de sustancias como el factor de Willebrand, la tromboplastina y la trombina (importantes en la agregación plaquetaria) y diferentes factores de crecimiento como el PDGF, EGF, FGF, IGF y TFG- .

En condiciones normales la presión del capilar glomerular está determinada por las resistencias arteriolas pre y postglomerulares y no varía con los cambios de presión arterial; esta capacidad de autorregulación es determinada principalmente por los vasos preglomerulares. La elevación sostenida de la presión capilar glomerular en modelos experimentales que progresan a la esclerosis glomerular sugiere la existencia de una disfunción de los vasos preglomerulares. La importancia de la integridad funcional de estos vasos se ha puesto de manifiesto en ratas con hipertensión genética que acreditan una alta resistencia de la arteria eferente en respuesta a la hipertensión arterial, manteniendo normal la presión en el capilar glomerular y sin que muestren lesiones estructurales glomerulares. Por el contrario, si a estas ratas se les extirpa un riñón, la resistencia arteriolar disminuye, permitiendo la trasmisión de una mayor proporción de presión sistémica al capilar glomerular dando como resultado la esclerosis del glomérulo.

INTRODUCCIÓN

La alteración de los vasos preglomerulares y la hipertensión glomerular resultante están presentes durante la progresión de la lesión renal incluso cuando no existe hipertensión arterial sistémica. Estudios experimentales en nefropatía diabética, en nefropatía membranosa y en nefropatía por puromicina han demostrado que el desarrollo de la esclerosis glomerular es precedido por la hipertensión del glomérulo a pesar de tener cifras normales de tensión arterial.

Estudios realizados durante los años treinta en ratas con nefritis experimental, demostraron que dietas hipoproteicas atenuaban las lesiones histológicas y retardaban su progresión hacia la insuficiencia renal. También, se puso de manifiesto que el efecto beneficioso de dicha dieta se debía a que la resistencia de los vasos preglomerulares era elevada y en consecuencia la presión glomerular permanecía normal. Por el contrario, la dieta normal inducía vasodilatación renal, aumento de la presión glomerular y esclerosis progresiva. Estudios con otras nefropatías como la nefritis por suero nefrotóxico y la diabetes mellitus confirmaban este efecto de la dieta hipoproteica⁸⁶. Más tarde Mizuri y col⁸⁷ demostraron que la dieta baja en proteínas aumentaba la expresión del mRNA de la renina y del enzima convertidor de la angiotensina (ACE), siendo estos factores pronósticos de la progresión de la nefropatía diabética.

El tratamiento antihipertensivo con inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina ha resultado eficaz para disminuir la hipertensión glomerular y prevenir la esclerosis, tanto en los modelos experimentales de nefropatía asociada a hipertensión arterial como en la nefrectomía extensa de la masa renal. Se ha sugerido que la eficacia de este tratamiento se debe a la supresión de los efectos de la angiotensina II, tanto al nivel de circulación periférica como en la disminución de la presión de los capilares intraglomerulares⁸⁸ y a la ausencia del efecto hipertrofiante que la angiotensina ejerce en las células glomerulares⁸⁹.

El empleo de la heparina también ha resultado ser eficaz en la prevención de la lesión renal. Su efecto parece ser independiente de su acción anticoagulante y de cambios en la presión glomerular. Por otra parte, la heparina inhibe el crecimiento de células glomerulares *in vitro*, por lo que se ha sugerido que la protección renal se obtiene al inhibir la proliferación de células mesangiales estimuladas por el daño endotelial que causa la hipertensión glomerular.

1.4.1.2 Hipertensión sistémica

La hipertensión sistémica tiene efectos adversos en el riñón e inicia el desarrollo de nefropatías (como la nefrosclerosis hipertensa) o acelera la pérdida de función renal en nefropatías ya establecidas. Los mecanismos por los cuales la hipertensión daña el riñón en la enfermedad renal no están del todo claros. Se cree que produce hipertrofia vascular, la cual a su vez ocasiona una esclerosis vascular isquémica. Además, la hipertensión sistémica provoca esclerosis glomerular

mediante la inducción de presión intraglomerular, con aumento del flujo y tasa de filtración por nefrona, la cual intensifica la lesión endotelial⁹⁰.

1.4.1.3 Hipertrofia glomerular

La progresión de las lesiones glomerulares hacia la esclerosis se acompaña invariablemente de hipertrofia glomerular, tanto en condiciones experimentales como en clínicas. Así por ejemplo, la extirpación extensa de la masa renal produce hipertrofia acentuada en las nefronas remanentes antes de que aparezca esclerosis glomerular. La presencia de un estímulo hipertrofico como la uninefrectomía acelera el proceso glomerulosclerótico en distintas condiciones experimentales, como en el caso de la glomérulonefritis por suero nefrotóxico. En la diabetes mellitus, la hipertrofia de las células mesangiales y tubulares es una característica común y muy temprana y precede a la esclerosis⁹¹.

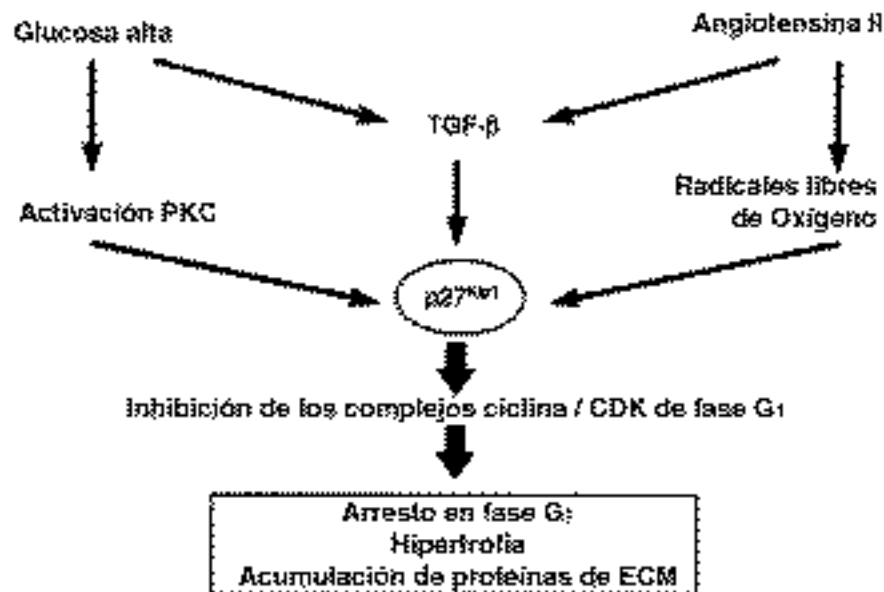


Figura 14. Papel central del p27^{kip1} en la inducción de la hipertrofia en las células renales

En un estudio clásico de Pabst y Sterzel⁹² se investigó la tasa de renovación que tenían las células glomerulares en una rata mediante estudios de autoradiografía. Encontraron que las células endoteliales tenían una tasa de renovación de un 1% mientras que las células mesangiales exhibían una tasa de proliferación muy baja. Sin embargo, la presencia de estímulos patofisiológicos inducían el crecimiento de las células glomerulares y tubulares. En concreto, las células renales en reposo pueden tener dos tipos de respuesta al crecimiento: la hiperplasia o la hipertrofia. Las

INTRODUCCIÓN

células que están programadas para proliferar progresan a través de su ciclo celular normal, replican su contenido de ADN y se dividen durante la mitosis. En cambio, las células que se hipertrofian interrumpen su crecimiento en la fase G₁ del ciclo celular; aumentan su tamaño, su contenido de ARN y de proteínas y no pueden duplicar su ADN porque todavía no han pasado a la fase S del ciclo celular.

Recientemente Wolf⁹³, trabajando con células tubulares proximales estimuladas con angiotensina II y con células mesangiales incubadas en glucosa, observó una acumulación del inhibidor de la quinasa dependiente de ciclinas, p27^{kip1} (punto de transición del ciclo G₁/S) como mecanismo molecular de la hipertrofia renal⁹⁴. Así propuso que la detención de las células en fase G₁ da lugar a hipertrofia y probablemente a la acumulación de proteínas de matriz extracelular. En concreto, observó que las células mesangiales cultivadas en un medio rico en glucosa adquirían la expresión estimulada de p27^{kip1} a través de la activación de la proteína quinasa C (PKC). Por otro lado, la hipertrofia inducida por la angiotensina II también dependía de la expresión de p27^{kip1}, la cual estaba estimulada por radicales libres de oxígeno. Así mismo, vió que tanto la glucosa como la angiotensina II inducían la expresión de TGF- β , la cual también activaba p27^{kip1}, que interactuaba con quinasas dependientes de ciclinas inhibiendo su actividad (figura 13).

1.4.2 Cambios no hemodinámicos.

1.4.2.1 Factores de crecimiento.

1.4.2.1.1 Características generales de los factores de crecimiento.

Los factores de crecimiento (FC) son polipéptidos producidos y liberados por diferentes tipos de células. Éstos forman un grupo de moléculas solubles que regulan una gran variedad de eventos inmunes y respuestas inflamatorias que incluyen la inflamación, el crecimiento celular, cicatrizaciones y respuestas al deterioro celular. A pesar de la importancia crucial de estos mediadores, el estudio de este subtipo de citocinas es muy complejo. Esto es debido principalmente a que estas moléculas tienen un amplio espectro de efectos con múltiples interacciones y efectos sinérgicos, antagónicos o solapados, hechos que complican considerablemente la comprensión de sus papeles biológicos⁹⁵.

Propiedades generales:

- *La secreción de FC es un proceso breve y limitado.* En presencia de estímulos específicos, las citocinas son rápidamente sintetizadas y liberadas por exocitosis en pequeñas cantidades (nanomolar). Generalmente no son almacenadas, y su producción cesa cuando desaparece el estímulo. La regulación de la producción de FC ocurre generalmente a nivel

transcripcional, aunque el control a nivel postranscripcional también interviene con frecuencia. El Mar de las citocinas contiene una región 3' rica en AU que le confiere inestabilidad y una vida media corta. Los polipéptidos de las citocinas también tienen una vida media corta. Por lo que la regulación de estos factores es rápida y precisa.

- *Las FC inician su acción uniéndose a receptores específicos en la superficie de las células diana.* La función más importante que realizan es una regulación local de las células vecinas, la regulación paracrina. También pueden actuar de una manera autocrina, estimulándose ellas mismas. Algunos FC tales como IL-1, IL-6 y TNF- también tienen efectos endocrinos, ejerciendo efectos en células diana a través de la circulación, tal y como lo hacen las hormonas.
- *Los FC tienen una acción pleiotrópica.* Los FC no sólo son producidos por diferentes tipos de células sino que también actúan sobre diversos tipos celulares.
- *Muchas acciones de los FC son redundantes.* Existen muchas funciones originalmente atribuidas a una citocina que comparten con otros FC.
- *Los FC a menudo influyen en la síntesis de otros FC,* formándose cascadas en las cuales la segunda o tercera citocina actúa sobre la primera.
- *Los FC a menudo influyen en la acción de otros FC.* Dos FC pueden interactuar para antagonizar la acción de la otro FC, para producir efectos aditivos o sinérgicos.

Familias de los factores de crecimiento:

Se clasifican en 8 familias: (1) del PDGF; (2) del EGF; (3) del FGF; (4) del IGF; (6) del TGF; (7) del NGF; (7) del HGF y (8) algunas citocinas: familia que incluye a las interleuquinas, los interferones, los factores de necrosis tumoral (TNF), los factores estimuladores de colonias (CSF), las quimoquinas y otros.

1. FAMILIA del PDGF (factor de crecimiento derivado de plaquetas): PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB.
2. FAMILIA del EGF (factor de crecimiento epidérmico, urogastroma): TGF- , VGF, SGF.
3. FAMILIA del FGF (GBGF: factor de crecimiento de unión a la heparina): FGF, HBGF, FGFa, FGFb, FGF-3, FGF-8, FGF-9, MGSA.
4. FAMILIA del IGF: Insulina, IGF-1 (factor de crecimiento similar a la insulina, somatomedina C), IGF2 (somatomedina A)

INTRODUCCIÓN

5. FAMILIA del TGF- β : superfamilia de los factores transformante de crecimiento (TGF β 1-3 y 21 miembros más como activinas, inhibinas, etc).
6. FAMILIA del NGF (factor de crecimiento nervioso, neurotrofinas): BDNF, NT 4/5
7. FAMILIA del HGF-SF: HGF (factor de crecimiento de los hepatocitos), SF (factor de diseminación)
8. CITOINAS: nombre general de los factores de crecimiento que afectan principalmente a las células sanguíneas (hematopoyéticas) y que se dividen en: interleuquinas, interferones, factores de necrosis tumoral (TNF), factores estimulante de colonias (CSF) y quimocinas.
 - Interleuquinas: IL-1 y IL-1 β , IL-2, IL-3 a la IL-18.
 - Interferones: IFN α , IFN β , IFN γ .
 - Factores de necrosis tumoral (TNF): TNF α (caquetina).
 - Factores estimuladores de colonias: G-CSF (de granulocitos), M-CSF (de macrófagos)
 - Eritropoyetina (EPO)
 - Trombopoyetina
 - LIF: Factor inhibidor de leucemia
 - Quimocinas

1.4.2.1.2 Rutas intracelulares activadas por los factores de crecimiento

Componentes de las rutas de señalización

Los factores de crecimiento ejercen su función a través de la interacción con receptores específicos en la superficie de las células. Se trata de proteínas localizadas en la membrana, en las que se pueden distinguir tres regiones: (1) una región extracelular, orientada hacia el exterior de la célula, encargada de la unión del ligando, (2) una región que atraviesa la membrana y (3) una región intracelular, orientada hacia el citoplasma, responsable de la transmisión de la señal (Figura 14).

Cuando un factor estimulador del crecimiento liberado al espacio intercelular por parte de células vecinas, se une al dominio extracelular de su receptor situado en la célula diana, éste se activa y transmite una serie de señales al interior de la célula. Estas señales suponen la activación de

proteínas citoplasmáticas que, a su vez, emiten señales a toda una sucesión de proteínas distintas, en una cascada dirigida hacia el núcleo celular. Aquí, otras proteínas, los factores de transcripción, responden activando la expresión de un conjunto de genes, que son los que permiten que la célula entre en el ciclo celular. Las señales negativas recibidas desde el exterior actúan mediante rutas de señalización similares a la descrita y, de hecho, existen múltiples puntos de interacción entre ambos tipos de señales, lo que permite la integración de informaciones diversas.

En esencia, únicamente hay dos mecanismos bioquímicos por los que las proteínas citoplasmáticas reciben la señal de los receptores. Uno de los mecanismos implica la fosforilación de proteínas en residuos de serina, treonina o tirosina. Diversas proteínas señalizadoras de esta categoría denominadas quinasas transfieren grupos fosfato de la molécula donadora ATP a los aminoácidos, mencionados en la proteína receptora. La fosforilación de proteínas tiene dos funciones fundamentales en transducción de señales. En primer lugar, puede cambiar la conformación y, como consecuencia, provocar una alteración de la actividad biológica de la proteína fosforilada. En segundo lugar, la fosforilación de los residuos de tirosina genera sitios de reconocimiento para proteínas señalizadoras. La fosforilación de determinados residuos de una proteína puede regular su actividad enzimática, su capacidad de interacción con otras proteínas (o con el ADN en el caso de los factores de transcripción), su localización subcelular, etc. En su control están implicadas quinasas (enzimas que catalizan la transferencia de grupos fosfato a sustratos específicos) y fosfatasas (enzimas que catalizan la eliminación de estos fosfatos). Se trata por lo tanto, de un mecanismo de señalización reversible y dinámico. La fosforilación reversible de proteínas constituye uno de los principales mecanismos de señalización implicados en el control de la fisiología celular.

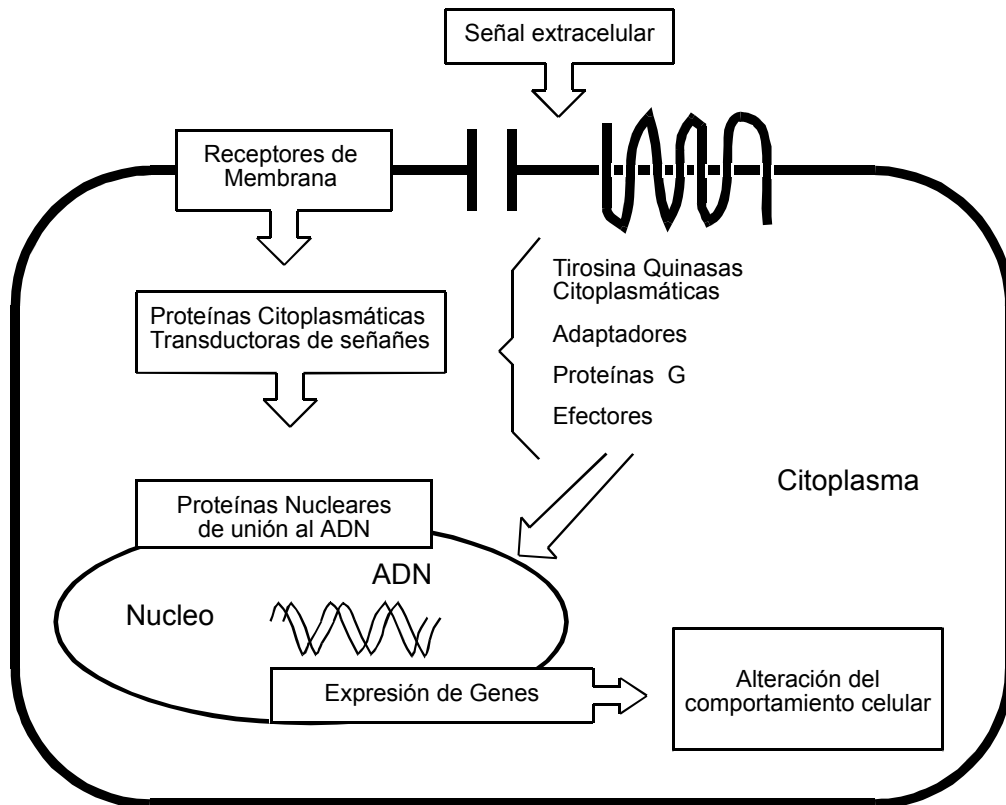


Figura 15. Componentes de la ruta de señalización.

El segundo mecanismo por el que se transmite la señal implica la actividad enzimática GTPasa. Las proteínas que se unen a GTP actúan como interruptores moleculares y se denominan proteínas G. La unión de GTP provoca una alteración en la conformación que mantiene la proteína G en estado activo, capaz de transmitir la señal mediante la interacción con proteínas efectoras. La hidrólisis de GTP a GDP, catalizada por la GTPasa intrínseca, devuelve la proteína G a un estado inactivo. Existen reguladores positivos que promueven la transición de la proteína G a su estado activo, unida a GTP, a través de una actividad permutadora de nucleótidos, y de reguladores negativos o efectoras que devuelven la proteína G a su estado inactivo, unida a GDP, mediante la estimulación de la actividad GTPasa intrínseca

Rutas metabólicas activadas por receptores de factores de crecimiento

La actividad enzimática de los receptores reside en un dominio catalítico presente en la región intracelular. Para que la enzima sea activa es necesaria la unión del ligando en el exterior de la célula; estos receptores funcionan como enzimas alostéricas asociadas a la membrana. La activación con frecuencia requiere la oligomerización de los receptores (asociación funcional de varias moléculas del receptor). La unión del factor de crecimiento al dominio extracelular origina un cambio conformacional en el receptor. En muchos casos, los propios factores de crecimiento son

capaces de unirse a dos moléculas del receptor al mismo tiempo, facilitando así la dimerización necesaria para que el receptor se active. Este fenómeno de oligomerización es común a la mayoría de los receptores para factores de crecimiento, incluso para aquellos sin actividad quinasa intrínseca.

Una de las consecuencias de la dimerización de los receptores es su fosforilación cruzada. Cada una de las moléculas del receptor fosforila determinados residuos de tirosina en la molécula adyacente y viceversa. Este mecanismo cumple dos funciones: por un lado, mantiene el dominio catalítico de los receptores en una conformación activa y, por otro, crea sitios de anclaje para “reclutar” y asociar al receptor proteínas citosólicas que reconocen tirosinas fosforiladas. Algunas de las proteínas que son reclutadas por el receptor activado y fosforilado serán activadas, a su vez, por un nuevo fenómeno de fosforilación. En otros casos, la asociación al receptor sirve para atraer diversas proteínas solubles presentes en el citoplasma de la célula a una zona determinada próxima a la membrana.

En los últimos tiempos se han descubierto una gran parte de los componentes de las vías de transducción de señales y se ha determinado que las proteínas de la familia Ras son reguladoras cruciales de los procesos que parten de los receptores de factores de crecimiento y controlan la proliferación y diferenciación celular. La activación de Ras en respuesta a la estimulación de los receptores de factores de crecimiento es favorecida por la unión de la proteína adaptadora Grb2, cuyo dominio SH2 reconoce residuos de tirosina fosforilados en el receptor. A su vez, Grb2 interacciona a través de sus dominios SH3 con el factor de intercambio de nucleótidos de guanina (Guanine nucleotide Exchange Factor, GEF) Sos, localizándolo en la membrana plasmática, donde se encuentra situado su sustrato Ras. De esta manera, Sos puede estimular el intercambio de GDP por GTP en Ras, lo que lleva a Ras desde su forma inactiva a su forma activa con capacidad de interacción con diversas moléculas efectoras/sustratos.

La conversión de Ras a su forma soluble unida a GTP le permite interactuar con otras proteínas que funcionan como efectores. Un efector de Ras es la serina/treonina quinasa Raf. La activación de Ras promueve su interacción con Raf y localiza esta última en la membrana, donde es activada y actúa. Las proteínas Raf así activadas fosforilan y activan MEK, que es una tirosina/treonina quinasa. MEK a su vez fosforila las proteínas ERK (Extracellular-signal-Regulated Kinases) que son serín/treonín quinazas. Las proteínas ERK fosforilan entonces varias proteínas, entre las que cabe destacar el factor de transcripción Elk-1. Esta cascada de señalización se conoce como la **ruta de las proteína quinazas activadas por mitógenos** (Mitogen Activated Protein Kinases, MAPK). La respuesta celular provocada por esta ruta de señalización incluye el incremento en la transcripción de genes precursores, como fos, que a su vez regulan la expresión de genes cuyos

INTRODUCCIÓN

productos controlan la progresión en el ciclo celular, lo que finalmente da lugar a la síntesis de ADN y a la división celular (Fig5).

La ruta de la quinasa de lípidos PI3K es otra importante vía de señalización activada por receptores de membrana en respuesta a la unión con sus ligandos. La actividad PI3K se incrementa en respuesta a numerosos estímulos extracelulares, especialmente aquellos que implican la activación de receptores con actividad tirosina quinasa. La proteína PI3K está compuesta por dos subunidades, una subunidad reguladora con dos dominios SH2 y un dominio SH3, denominada p85, responsable de la unión con el receptor fosforilado tirosina, y una subunidad catalítica denominada p110. La actividad de la PI3K genera fosfoinosítidos PI3, 4,5P3, 4P2 y PI3P, y su activación incrementa los niveles de los dos primeros en la membrana plasmática. Así, la estimulación de la actividad PI3K induce la activación de la quinasa Akt. Akt es una proteína serín/treonín quinasa con un dominio PHD de unión a fosfoinosítidos en la región aminoterminal. La activación de Akt en la célula depende de la inducción de su unión con el fosfoinosítido PI3, 4, 5P3 en la membrana plasmática, donde la proteína translocada es activada por fosforilación por parte de la serina/treonina quinasa Pdk1, que también posee un dominio PH y cuya activación también depende, por tanto, de PI3K. Se ha descrito que Akt y Pdk1 están implicadas, probablemente de manera indirecta, en la activación de la quinasa S6k, que participa en el control de la síntesis de proteínas y del ciclo celular. Además, recientemente se ha visto que Akt juega un papel en la protección de la apoptosis mediante la fosforilación de la proteína proapoptótica Bad y de la caspasa 9, así como del factor de transcripción FKHR1.

1.4.2.1.3 Participación de los factores de crecimiento en la esclerosis glomerular.

La mayoría de enfermedades renales comparten los cambios histológicos que caracterizan las últimas etapas: en el glomérulo, el número de capilares disminuye, se da una proliferación celular y *scarring* progresivo en áreas localizadas que termina con un colapso progresivo de la luz de los capilares. Los túbulos cercanos a los glomérulos lesionados suelen atrofiarse y se rodean de un gran número de células inflamatorias. Se produce una fibrosis difusa caracterizada por depósitos de colágeno, matriz mesenquimal, lípidos y fibroblastos. La MBG de los glomérulos y túbulos suele engrosar durante las primeras fases de la nefropatía y se condensa en un material amorfo al final de la misma. Al inicio de la glomerulosclerosis, aparece proteinuria precedida de reducciones en la filtración glomerular y en el flujo sanguíneo renal. La atrofia tubular se manifiesta con un empeoramiento en la capacidad de concentrar orina y excretar ácido.

Gran número de nefropatías y su progresión hacia estados finales son mediadas, en parte, por los efectos de la angiotensina II, que estimula la expresión de factores de crecimiento y citocinas, tales como el factor transformante del crecimiento (TGF- β_1), el factor de necrosis tumoral (TNF- α), el

factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF), el factor de crecimiento fibroblástico básico (bFGF) y el factor de crecimiento “similar” a la insulina (IGF). La mayoría de estos componentes promueven el crecimiento celular y la fibrosis. A continuación vamos a enumerar los principales factores que influyen en la progresión de la enfermedad renal crónica, dedicando la última parte del capítulo a desarrollar de forma más detallada las dos citocinas estudiadas en el presente estudio experimental, el TGF- β y el PDGF-B.

HGF (*Hepatocyte Growth Factor*)

Estudios recientes han demostrado que la expresión del HGF es uno de los principales efectores que median la regeneración del hígado y el crecimiento del riñón, llevando en algunos casos al daño tisular. Se ha visto en riñones de ratas diabéticas, que tanto el HGF, su receptor tirosin quinasa como el producto del oncogen c-met, muestran un incremento en su expresión⁹⁶. De todas maneras, quedan muchos aspectos a estudiar para determinar el papel que desempeña exactamente el HGF en la hipertrofia renal durante el desarrollo de la diabetes.

Por otro lado, se ha visto que el producto de c-met es inducido por una gran variedad de factores de crecimiento tales como el TGF- β , el PDGF, el IGF-1 y el HGF. Un mecanismo potenciador del HGF y la inducción de c-met juegan un papel restaurador de la función tubular y de la integridad renal con posterioridad a la lesión renal. El papel protector del HGF parece estar relacionado con una supresión de la apoptosis de las células epiteliales⁹⁷

IGF-1 (*Insulin like growth factor*)

Se produce en situaciones como la hipertrofia renal compensadora, la diabetes y también en el tejido renal normal adyacente al infartado. Los lugares de producción más relevantes de este factor de crecimiento son: el tubo colector, la rama ascendente gruesa del asa de Henle, el túbulo proximal y el mesangio.

Se cree que la acumulación renal del IGF-1 contribuye al desarrollo de la nefropatía diabética. Esta acumulación depende directamente del nivel de glucosa en sangre, o indirectamente de sistemas vasodilatadores como el NO y/o los eicosanoides, provocando una disminución de las resistencias vasculares renales y aumentando la función y el tamaño del riñón en el diabético. Por otra parte, el IGF-1, al igual que la insulina, aumenta la síntesis de ADN en células mesangiales y la tasa de síntesis de los componentes de la matriz extracelular como la laminina, la fibronectina y el colágeno IV. Se ha comprobado, además, que refuerza los efectos proliferativos de otros factores de crecimiento, por lo que podría considerarse un factor de progresión del ciclo celular⁹⁸.

INTRODUCCIÓN

bFGF (*basic fibroblast growth factor*)

Es un mitógeno potente que estimula la proliferación de múltiples tipos celulares en cultivo como son mioblastos, células endoteliales vasculares, fibroblastos, y células musculares lisas⁹⁹. Este efecto mitogénico es el responsable, en parte, de la proliferación durante el desarrollo y de la respuesta celular en múltiples procesos patológicos. Karpen y col¹⁰⁰ observaron que los niveles de mRNA de bFGF en el glomérulo de las ratas diabéticas aumentaban en el tiempo además de incrementar paralelamente el marcador de proliferación celular, PCNA¹⁰¹. Por otro lado, estudios en cultivos celulares han demostrado que el bFGF es un factor de competencia del ciclo celular.

EGF (*Epidermal growth factor*)

Es otro factor de crecimiento implicado en la fisiopatología renal. Así por ejemplo, es considerado mitogénico para las células tubulares¹⁰². Este factor estimula el transporte de Na⁺/K⁺, activa la glicólisis e incrementa la síntesis proteica, produciendo una vasoconstricción arteriolar aferente y eferente.

TNF- α (*Tumor Necrosis Factor*) y IL-1 (*interleuquina 1*):

La activación del gen del TNF- lleva a la producción de una proteína de 230 aminoácidos. La molécula de TNF- madura está formada por 157 aa con un peso molecular de 17 Kd. Los macrófagos son la fuente principal de TNF- , aunque las células residentes del glomérulo (células mesangiales y las células del epitelio tubular) son productoras también de esta molécula. Actúan activando factores de transcripción, citocinas, receptores, moléculas de adhesión, mediadores de procesos inflamatorios y proteínas del complejo de inmunocompatibilidad. El TNF- tiene un papel en el reclutamiento de células inflamatorias, mediante la estimulación de quimocinas como MCP-1, RANTES, ICAM-1, ECAM-1, VCAM-1¹⁰³.

VEGF (*vascular endothelial growth factor*)

Anteriormente se le denominó factor de permeabilidad vascular (VPF). Es una citocina muy potente que induce angiogénesis y aumenta la permeabilidad endotelial¹⁰⁴. Estudios in vitro han mostrado que el VEGF es estimulado en condiciones de hiperglicemia, hipoxia, hipertensión, y en presencia de angiotensina II e IGF-1. Así, se ha encontrado que los niveles de VEGF son elevados en el curso de la diabetes experimental y humana¹⁰⁵.

CTGF (*Connective tissue growth factor*):

Es uno de los mediadores inducidos por el TGF- y entre otros estímulos, modula el crecimiento de los fibroblastos y la secreción de ECM de las células mesangiales. Este factor de crecimiento fue

inicialmente descubierto por Masson¹⁰⁶. Recientemente se ha visto en fibrosis renales humanas y experimentales que su expresión parece estar correlacionada con el grado de fibrosis túbulointersticial¹⁰⁷.

1.4.2.1.3.1 Factor de crecimiento transformante – β (TGF- β)

En humanos existen tres formas de TGF, el β_1 , β_2 y β_3 que corresponden a los productos de tres genes distintos aunque con gran homología que están presentes como homólogos. Estas tres proteínas tienen a veces efectos similares mientras que otros casos los efectos difieren. El TGF- β es producido por múltiples células entre las que se incluyen linfocitos T y B, fagocitos mononucleares, plaquetas, fibroblastos y células endoteliales. Cada cadena es sintetizada como un precursor de 390 aminoácidos que tienen las características de un péptido secretorio. El precursor dímero es secretado y cortado en cadenas de 112 aminoácidos haciéndose una forma activa.

Las funciones del TGF- β son múltiples: a) dependiendo del tipo celular o del estadio de maduración, el TGF- β puede inhibir o aumentar la proliferación celular; b) según los tipos celulares el TGF- β induce la diferenciación celular; c) el TGF- β tienen un efecto inhibitorio sobre las células NK; d) sobre los linfocitos B, el TGF- β disminuye la producción de inmunoglobulinas; e) el TGF- β inhibe los efectos del IFN- γ en los fagocitos mononucleares; f) el TGF- β induce la reparación de los tejidos, produciendo la aparición de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis); g) el TGF- β induce la expresión de receptores de integrinas aumentando la adhesión celular a la matriz extracelular y el contacto célula-célula y h) el TGF- β induce la síntesis de las proteínas de ECM, propiedad que desarrollaremos de una manera más profunda debido a la implicación que se le atribuye en el desarrollo de la nefropatía diabética.

El TGF- β se caracteriza por ser una citocina con propiedades fibrogénicas muy potentes ya que es capaz de realizar tres acciones simultáneas: 1) estimulación de la síntesis de matriz, 2) inhibición de la degradación de matriz, y 3) modulación de la expresión de los receptores de matriz para facilitar las interacciones entre célula y matriz¹⁰⁸. Finalmente, el TGF- β autoinduce su propia producción, la cual tiene muchas consecuencias biológicas¹⁰⁹.

De la unión del TGF- β con su receptor se derivan: la producción de fibronectina y de colágeno I y III; la síntesis de fibronectina con un dominio extra A (fibronectina EDA) y de tenascina, el aumento de expresión de PAI-I (inhibidor del activador del plasminógeno); la inhibición de la secreción del plasminógeno; la estimulación de la producción de inhibidores de las metaloproteínas; la inducción del aumento del número de receptores de integrinas expresados en el glomérulo (integrinas que se unen a fibronectina y colágeno I). El TGF- β inhibe la producción de colagenasas, y aumenta la producción de inhibidores de metaloproteinasas. Además, en el tejido

INTRODUCCIÓN

normal el TGF- β no actúa solo en la reparación tisular. La interacción más importante se da con el PDGF y el FGF. Ninguna de estas dos citocinas posee propiedades fibrogénicas únicas. La primera es el más potente inductor de la proliferación celular y la segunda induce angiogénesis. Por otro lado, el TGF- β inhibe el ciclo celular de muchas células, provocando un aumento de volumen celular, del ADN y del contenido de proteínas, es decir, hipertrofiándolas.

La importancia del TGF- β en la fibrosis tisular ha sido demostrada en varias líneas de investigación constatando que: 1) La inyección intravascular del TGF- β en ratas o conejos causa rápidamente glomerulosclerosis. 2) La transfección del TGF- β en glomérulos causa glomerulosclerosis. 3) La utilización conjunta del gen del TGF- β y del promotor del gen de la albúmina en la producción de ratones transgénicos causa una hiperproducción del TGF- β en el hígado de estos animales, viéndose como evidencia el aumento de los niveles plasmáticos de TGF- β . 4) La inyección de anticuerpos anti-TGF- β in vivo bloquea la fibrosis.

Existen tres isoformas similares al TGF- β en mamíferos: TGF- β 1, TGF- β 2 y TGF- β 3. Una de ellas, la TGF- β 1, es la más importante en la inducción de fibrosis. Inicialmente, el TGF- β es sintetizado como un precursor inactivo que contiene un prodominio amino terminal, también llamado proteína asociada de latencia (LAP). Ésta permanece unida de manera no covalente al TGF- β , previniendo por lo tanto, la unión de TGF- β con su receptor. El complejo latente de TGF- β y LAP está asociado a su vez a una proteína de unión del TGF- β latente (LTBPs) que permite asociar el TGF- β a la superficie celular. Después de su secreción, la mayoría del TGF- β es almacenado en la matriz extracelular como un complejo inactivo asociado al LAP y al LTBP¹¹⁰.

El TGF- β es en parte un inhibidor del crecimiento celular. En algunos casos, como en las células mesangiales, el efecto mitogénico o antimitogénico del TGF- β depende de la concentración en que se encuentra¹¹¹. Se ha visto que la pérdida de la inhibición del crecimiento del TGF- β está acompañada de la pérdida de otras respuestas como el control de la producción de matriz extracelular¹¹². La inhibición del crecimiento está relacionada con el estado de fosforilación de la proteína del retinoblastoma. El TGF- β moviliza las células en G1 mediante la reducción de la fosforilación de la proteína de retinoblastoma. Esta modificación post-traducciona l de la fosforilación de la proteína de retinoblastoma hace que la célula no entre en la fase S del ciclo celular. Además, el TGF- β puede alterar el estado de fosforilación de la P53, así como reducir el nivel de la proteína *c-myc*, conduciéndose de nuevo a la prevención de la proliferación.

1.4.2.1.3.2 *Rutas de señalización del TGF- β*

El complejo latente de TGF- β es activado mediante la acción de proteasas, tales como la plasmina o la trombospodina-1. Después de liberarse del complejo latente, dímeros del TGF- β inician su efecto celular mediante la unión a los receptores de membrana (que son del tipo serín/treonín quinasa). Existen tres receptores de membrana implicados en la transducción de la señal. El TGF- β primero se une al receptor tipo III, el cual presenta el ligando al receptor tipo II. El receptor tipo I es reclutado para formar un heterotetrámero que consiste en dos receptores tipo I y dos receptores tipo II. Una vez formado este heterotetrámero el receptor tipo II fosforila residuos serina y treonina del receptor tipo I, iniciando su actividad quinasa. La activación del receptor tipo I lleva al reclutamiento y fosforilación de algunos miembros de la familia de señales de transducción Smad. Smad 2 y Smad 3 son fosforiladas por el receptor 1, homodimerizadas y unidas a Smad 4. El complejo heteromérico de Smad 2, Smad 3 y Smad 4 se transloca al núcleo donde regula la transcripción de algunos genes diana. La regulación de estos genes por los complejos Smad implica la interacción de otros factores de crecimiento como FAST y Sp1, e interacciones con otras cascadas de señalización como MAP quinasas^{113,114,115} (Figura 15)

Las vías de señalización implicadas en la regulación de matriz están peor definidas que las vías responsables del control del ciclo celular. Estudios recientes señalan a la protein quinasa A (PKA) como intermediaria entre el TGF- β y la estimulación de la producción de la cadena 1 del colágeno1 y de la fibronectina. El mecanismo de activación de la PKA en las células mesangiales no cursa a través del AMPc sino que implica la fosforilación o la degradación de las moléculas inhibitorias que interactúan con la subunidad catalítica de PKA. La inhibición de la vía de PKA mediante el péptido inhibidor de la PKA (PKI) en las células mesangiales atenúa la estimulación de la expresión del mRNA de fibronectina inducida por el TGF- β ¹¹⁶.

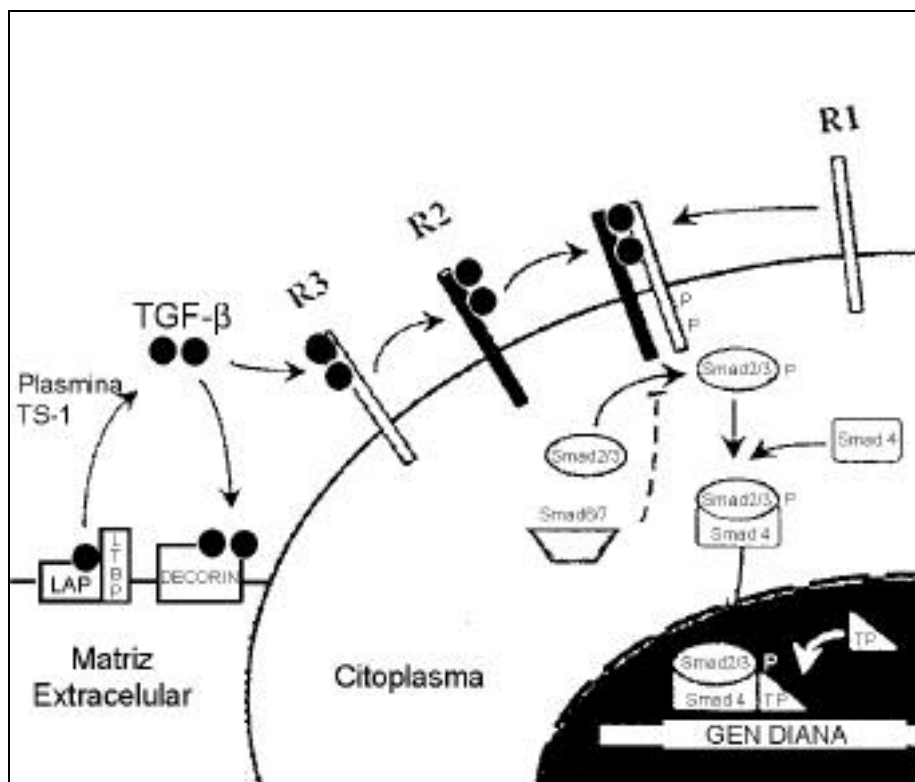


Figura 16. TGF-β. Mecanismos de activación y transducción de la señal

TGF-β en la diabetes mellitus:

La concentración alta de glucosa estimula la síntesis de colágeno tipo I y IV en cultivos de células mesangiales, atenuándose estos efectos cuando se administran anticuerpos anti-TGF-β. La concentración alta de glucosa estimula al TGF-β a nivel transcripcional en las células mesangiales, sin alterarse la vida media del mRNA del TGF-β. Estudios del promotor del TGF-β murino han puesto de manifiesto presenta una región sensible a los niveles de glucosa, región que explica la regulación de esta citocina por la glucosa.

También, se ha visto en modelos de diabetes en ratones inducida por estreptozotocina que el mRNA del TGF-β y su receptor II están aumentados ya a los tres días siguientes del inicio de la hiperglicemia, incrementando su expresión progresivamente hasta las 24 semanas de diabetes. La intensificación de la regulación de estas moléculas precede a la expresión del colágeno IV y de la fibronectina. En estados más avanzados de la diabetes, es probable que el TGF-β se estimule mediante la hiperglicemia, glicación de proteínas, activación de la protein quinasa C, angiotensina II y mediante una retroalimentación positiva. Así, el aumento en la regulación de la expresión del TGF-β juega un papel importante en la acumulación de la matriz mesangial y en la insuficiencia renal de la nefropatía diabética (Figura 16).

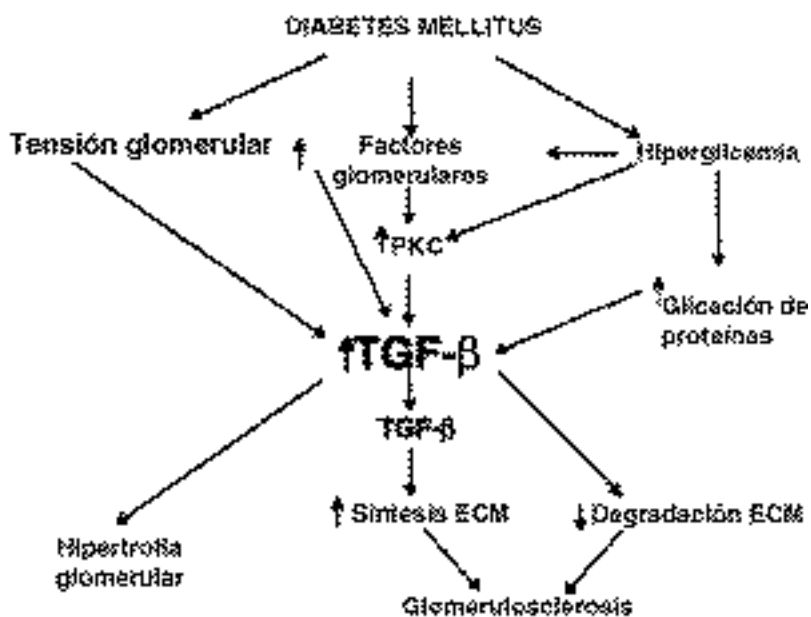


Figura 17. Papel central del TGF- β en la patogénesis de la nefropatía diabética.

Aparte de la deposición de matriz mesangial, se produce una desregulación vascular en estados iniciales tanto como terminales de la nefropatía diabética. En concreto, en los estados iniciales de la nefropatía aumenta el flujo glomerular por dilatación de la arteriola aferente. Si nos planteamos estudiar cual es el mediador de la vasodilatación en estos estados sería importante estudiar diferentes factores, además del TGF- β , que están estimulados en el glomérulo (sistema vasoconstrictor de la endotelina y la Angiotensina II, así como factores mitogénicos como PDGF y bFGF) y cabría esperar que la microcirculación glomerular mostrara un aumento en el tono vascular y una proliferación de las células mesangiales. Sorprendentemente, aparece una dilatación de los vasos, una hipertrofia glomerular, y una estimulación de las moléculas de la matriz mesangial. Así, parece que las características del TGF- β , la estimulación de la matriz y la hipertrofia celular, son fenotipos dominantes. Varias explicaciones podrían contribuir a este hecho: (1) una disminución en la expresión de los receptores de los agentes vasoconstrictores, (2) el TGF- β podría ejercer una acción inhibitoria en las células reguladoras del ciclo celular, (3) el TGF- β interferiría en alguna vía común de los factores mitogénicos y vasoconstrictores disminuyendo sus efectos.

La angiotensina II, la endotelina, el PDGF y el FGF inducían la movilización de calcio a través de la vía 1,4,5-trifosfato (IP₃), liberando calcio intracelular a través de los receptores de IP₃. Estos poseen diferentes receptores de membrana y activan diversas isoformas de la fosfolipasa PLC para generar IP₃. También se ha observado que el tratamiento de células mesangiales o musculares lisas

INTRODUCCIÓN

con TGF- lleva a regulación negativa del Receptor tipo I del Inositol 1,4,5 trifosfato (IP₃) tanto al nivel de proteína como de mRNA, hecho que también sucede en la nefropatía diabética. Con todo esto, Sharma y col¹¹⁷ sugirieron que la producción crónica del TGF- regula negativamente el Receptor I de IP₃ en las células contráctiles que ordenan la microcirculación glomerular. El déficit relativo de dicho receptor podría comportar la disminución en la movilización del calcio intracelular (activada en respuesta a vasoconstrictores como AII, endotelina, PDGF y FGF) manteniendo al glomérulo y sus arteriolas vasodilatados.

1.4.2.1.3.3 Factor derivado de plaquetas (PDGF)

El PDGF fue identificado como un factor secretado por las plaquetas y que inducía al crecimiento de los fibroblastos in vitro. En los últimos años, otros tejidos han sido implicados en su síntesis y secreción: células endoteliales derivadas de vasos sanguíneos, monocito- macrófagos activados, la placenta y las neuronas de mamíferos durante las fases de desarrollo¹¹⁸. Además, es considerado uno de los mitógenos más potentes y mejor caracterizados para las células mesangiales humanas, de rata y ratón¹¹⁹. La siguiente Tabla 2 resume los papales fisiológicos del PDGF:

Proceso	Origen	Efectos
Procesos reparativos	Plaquetas, macrófagos, células endoteliales, células musculares lisas, fibroblastos	Reparación del daño mediante la migración y proliferación de las células del tejido conectivo
Arteriosclerosis	Plaquetas, macrófagos, células endoteliales, células musculares lisas	Excesiva migración y proliferación de las células musculares lisas y macrófagos.
Tumorigénesis	Células tumorales	Proliferación de las células tumorales (sarcomas) y/o células del estroma (carcinomas)
Diferenciación	Mioblastos, células de la glía	Estimula la proliferación y retrasa la diferenciación de los precursores (mioblastos, células O-2)
Embriogénesis	Receptores de células positivas	Estimula la proliferación
Hemodinámica	Células musculares lisas	Induce vasoconstricción

Tabla 2. Funciones del PDGF

Estructuralmente el PDGF está constituido por cadenas A (16kd) y B(14kd) unidas por puentes disulfuro. Por lo que respecta a las tres isoformas aisladas de diferentes tejidos hemos de citar el heterodímero AB en el hombre, mientras que en la mayoría de sueros de otras especies se ha aislado el homodímero BB. Finalmente, el homodímero AA se ha aislado en una línea celular de glioma¹²⁰.

Las diferentes formas de PDGF se unen y activan dos receptores tirosina quinasas, PDGFR- α y - β ¹²¹. El receptor α tiene una alta afinidad con las tres isoformas de PDGF (PDGF-AA, PDGF-BB, PDGF-AB) y el receptor β únicamente presenta una alta afinidad con las PDGF-BB. En los fibroblastos humanos se expresan los dos tipos de receptores en cantidades similares. Mientras que

los PDGF-AB y BB tienen un efecto mitogénico potente, la mitogenicidad de PDGF-AA es muy baja. Los receptores de PDGF están localizados sobre todo en las células del tejido conectivo¹²².

En la Figura 17 se representa la estructura del receptor del PDGF. Éste tiene cuatro dominios: (1) porción extracelular de la molécula formada por cinco dominios semejantes al de las inmunoglobulinas; (2) el dominio transmembrana; (3) la región citoplasmática que contiene secuencias homólogas a otras tirosina quinasa interrumpidas por un dominio KI; (4) en el extremo carboxi-terminal se encuentran los dominios de autofosforilación.

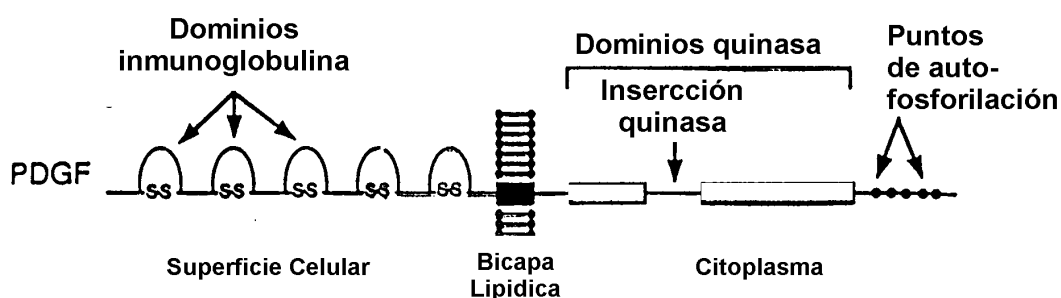


Figura 18. Receptor del PDGF.

Las interacciones específicas del receptor PDGF- se encuentran en la región citoplasmática. Estas asociaciones están ubicadas en los residuos de tirosina autofosforilados y se producen con la quinasa 3'-fosfatidilinositol (PI-3'-K), la proteína de activación GTPasa (GAP) y la fosfolipasa C- (PLC-). Si consideramos el hecho de que la TK del PDGF es la única capaz de unirse a las proteínas anteriores y que el PDGF parece ser el único factor de crecimiento capaz de inducir por sí mismo proliferación de las células mesenquimales, se podría pensar en la posibilidad de que la unión de todas estas proteínas sea necesaria para la inducción de los efectos mitogénicos característicos del PDGF.

El receptor del PDGF contiene al menos nueve sitios de autofosforilación. Uno de ellos, la tirosina 857, se encuentra en el dominio catalítico y su fosforilación mantiene al receptor en la conformación activa. Los otros ocho residuos de tirosina fosforilados restantes no influyen en la actividad enzimática del receptor, sino que crean sitios de reconocimiento y unión de proteínas señalizadoras, como la fosfolipasa C (PLC) o Src, o de proteínas adaptadoras sin actividad enzimática que permiten la asociación al receptor y la activación de nuevas moléculas efectoras, como la subunidad reguladora de la fosfatidilinositol-3'-quinasa (PI3K) o Grb-2. Estas proteínas se unen a la TK mediante sus dominios SH y una vez fosforiladas, actúan de transductoras de la señal

INTRODUCCIÓN

produciendo cambios en la bioquímica celular. Estas modificaciones son: alcalinización citoplasmática, incremento de concentración de AMPc e iones calcio y la activación de la proteína quinasa c (PKC) a través de la degradación de los fosfoinositoles.

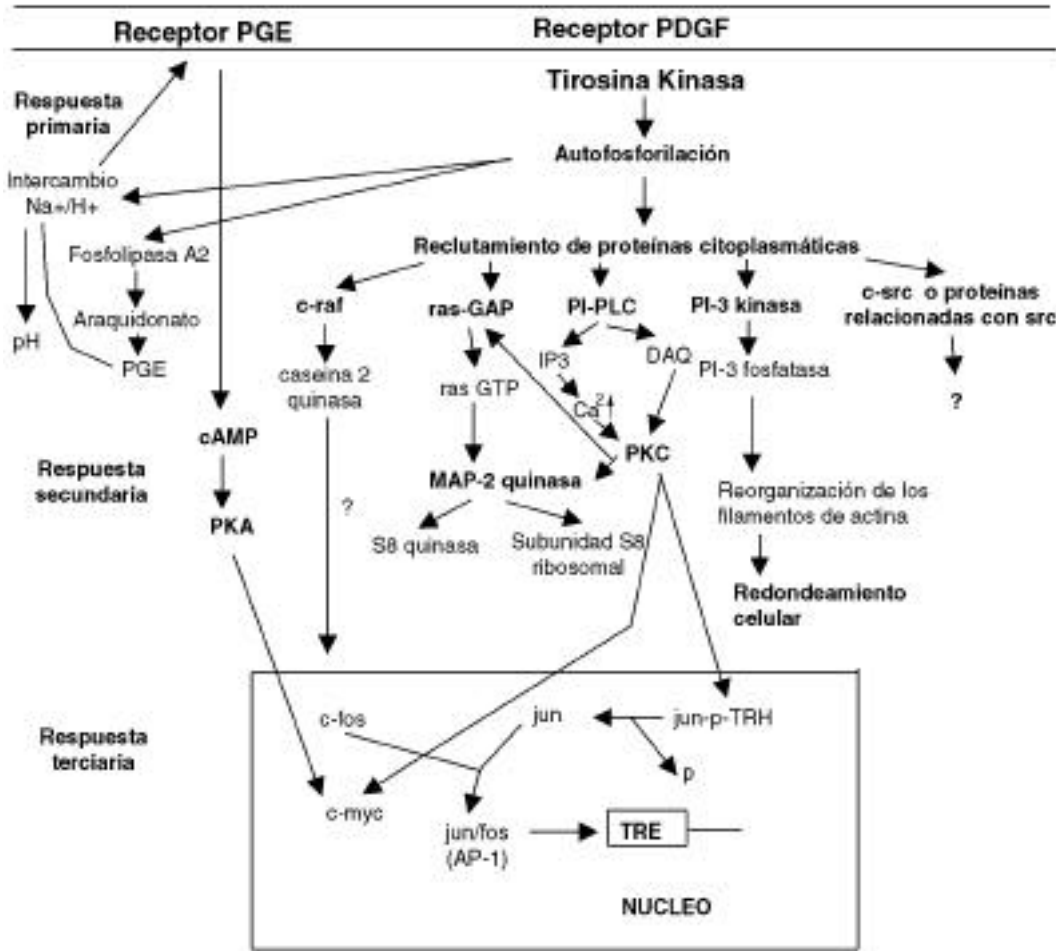


Figura 19. Vía de transducción de señal del PDGF

El incremento del pH intracelular se debe a la entrada masiva de iones de sodio mediante la activación del antiporte Na^+/H^+ y la subsiguiente salida de Na^+ por activación de la ATPasa Na^+/K^+ . El incremento en la concentración de AMPc implica la activación de la fosfolipasa A2, con la consiguiente liberación de ácido araquidónico de la membrana plasmática y formación de prostaglandina E (PGE). Además, la unión del PDGF con su receptor comporta la degradación de fosfoinositoles asociados a la membrana a través de la fosfolipasa C. A través de la proteína G, se forma IP_3 y diacilglicerol (DAG), causantes de la secreción de iones de calcio del retículo endoplasmático y la activación de la PKC. El aumento en la concentración intracelular de AMPc y la activación de la PKC son procesos independientes pero que convergen en la activación

transcripcional de los *early response genes*, en primer lugar, y posteriormente del c-myc (Figura 18).

1.4.2.2 Angiotensina II.

1.4.2.2.1 Expresión del Sistema renina-angiotensina sistémica

El sistema renina-angiotensina (RAS) es un sistema de vasoconstricción que podría considerarse destinado principalmente a garantizar la circulación renal dentro de unos valores de presión adecuados, aunque su activación tenga efectos hemodinámicos en la circulación interna.

Al examinar el RAS se observa que la secreción de renina se produce en células epiteloides o yuxtaglomerulares, integrantes de la pared de la arteriola aferente del glomérulo renal. Estas células forman parte de un complejo estructural denominado aparato yuxtaglomerular, situado en la proximidad de polo vascular del glomérulo renal y constituido por la arteriola aferente y la eferente, formando un ángulo dentro del cual se encuentra el tramo inicial del túbulo contorneado distal, perteneciente a la misma nefrona. Además de las células epiteloides o yuxtaglomerulares, localizamos también la mácula densa, un grupo de células altamente especializadas que se halla en el origen del túbulo contorneado distal y cuya denominación se debe a la gran condensación de núcleos ricos en cromatina. Las estructuras vasculares y tubulares están separadas por un espacio cuya amplitud varía entre 1.000 y 2.000 Å. La variabilidad del área de contacto entre las estructuras del aparato yuxtaglomerular constituiría la base anatómica para el control de la secreción de la renina.

Según la teoría de la mácula densa (que defiende la relación inversa entre la secreción de renina y el contenido de sodio en el túbulo distal), un contenido bajo de sodio en el túbulo distal provocaría una reducción del volumen en su interior, con lo que disminuiría la superficie de contacto con las células arteriolares y se estimularía la secreción de renina. También la estimulación adrenérgica, a través de las vías simpáticas renales y de catecolaminas circulantes, interviene en la secreción de renina: los receptores α_1 de las células yuxtaglomerulares la liberan y los receptores β_1 , la inhiben. Por último, en la secreción de renina pueden influir también otros factores humorales como las prostaglandinas.

La renina es un enzima que una vez secretada en la circulación, actúa sobre otra proteína que es producida y liberada de forma mantenida en la circulación por el hígado: el angiotensinógeno.

El angiotensinógeno es prácticamente inactivo, pero por acción de la renina se transforma en el decapeptido angiotensina I. La angiotensina I, que también es inactiva, es modificada posteriormente y convertida en angiotensina II por la acción de una enzima importantísima, que se

INTRODUCCIÓN

denomina enzima de conversión de la angiotensina (ECA) y se encuentra en las células endoteliales, sobre todo de la circulación pulmonar.

La angiotensina II es el verdadero principio hipertensivo (uno de los más potentes que se conocen) y actúa a través de dos mecanismos:

- ✓ Una acción vasoconstrictora potente, principalmente en arteriolas.
- ✓ Un efecto estimulante de la secreción de aldosterona por la corteza suprarrenal.

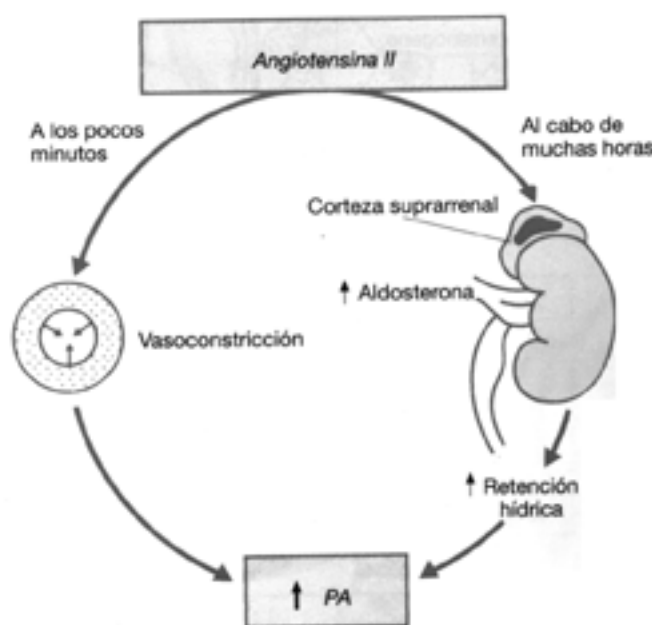


Figura 20. Efecto de la angiotensina II en las células vasculares de la secreción de aldosterona.

La acción de vasoconstricción de la AII se explica por su estímulo directo en las células musculares vasculares: el mecanismo de acción puede atribuirse a una interacción con los receptores de membrana, que probablemente activa los canales lentos del calcio (canales controlados por el receptor) y que ciertamente libera iones de calcio de las reservas intracelulares por otra vía.

Esta segunda modalidad de acción comporta la formación, tras la interacción de la AII con el receptor; de un mensajero intracelular (el inositoltrifosfato o IP_3), capaz de liberar el calcio de las reservas intracelulares. Esta liberación de calcio activa los mecanismos contráctiles.

A diferencia de la liberación de aldosterona que actúa en el riñón estimulando la secreción de potasio y la retención de sodio, con lo que se produce una retención hídrica con un incremento relativo de la volemia (Figura 19).

Ambas acciones van en la misma dirección, pero se manifiestan de manera diversa en el tiempo: la vasoconstricción tiene un efecto inmediato, mientras que el incremento de la volemia requiere un periodo de tiempo más prolongado.

Existen otras vías a través de las cuales la AII puede explicar la intensificación que ejerce sobre la presión, que son las siguientes:

- ✓ Una acción directa sobre el sistema nervioso central (SNC), con activación de las vías adrenérgicas y el consecuente aumento del gasto cardíaco y la vasoconstricción. En el SNC la AII estimula también el centro de la sed, facilitando el aumento de la volemia.
- ✓ Un estímulo para la liberación de catecolaminas por parte de la médula suprarrenal y de las terminaciones adrenérgicas.
- ✓ Una acción antrinatriurética directa (retención de sodio) en el riñón que se sumaría a la acción de la aldosterona.

Estos mecanismos parecen tener, de todos modos, una importancia secundaria en comparación con los dos descritos anteriormente.

1.4.2.2.2 Papel central de la Angiotensina II en la patogénesis en la Enfermedad Renal Progresiva Inicialmente, se creía que el sistema renina-angiotensina (RAS) tenía una función únicamente sistémica. Actualmente, se sabe que existe una acción del RAS sobre muchos tejidos de función enteramente paracrina. La angiotensina II (AII) es estimulante de la proliferación o la producción de matriz. Aparece como el agente clave en muchos estados asociados a hipertensión arterial y glomerulosclerosis tales como la nefrosis de puromicina crónica y la diabetes mellitus no tratada. Todos ellos se previenen y tratan con inhibidores de la enzima de conversión de la Angiotensina¹²³.

Se ha demostrado que la infusión de AII en riñones aislados perfundidos provoca una pérdida de permeoselectividad y aumento de la proteinuria. Este hecho se atribuyó a los efectos hemodinámicos de la AII en la elevación de la presión hidrostática capilar, y al efecto directo en la permeoselectividad glomerular. Estudios realizados in vitro, han puesto de manifiesto la propiedad que posee la AII de estimular la proliferación de las células mesangiales y de inducir la expresión del TGF- β , dando como resultado un aumento de la matriz extracelular (ECM)¹²⁴. La AII también estimula a las células endoteliales y células musculares lisas en la producción del gen activador de plasminógeno (PAI-1).

Mediante la activación de los macrófagos y la fagocitosis, la AII activa los componentes inflamatorios asociados al daño renal progresivo. Finalmente, la AII induce la producción adrenal

INTRODUCCIÓN

de la aldosterona, la cual contribuye independientemente de la AII a la producción de lesión renal¹²⁵ (Figura 20).

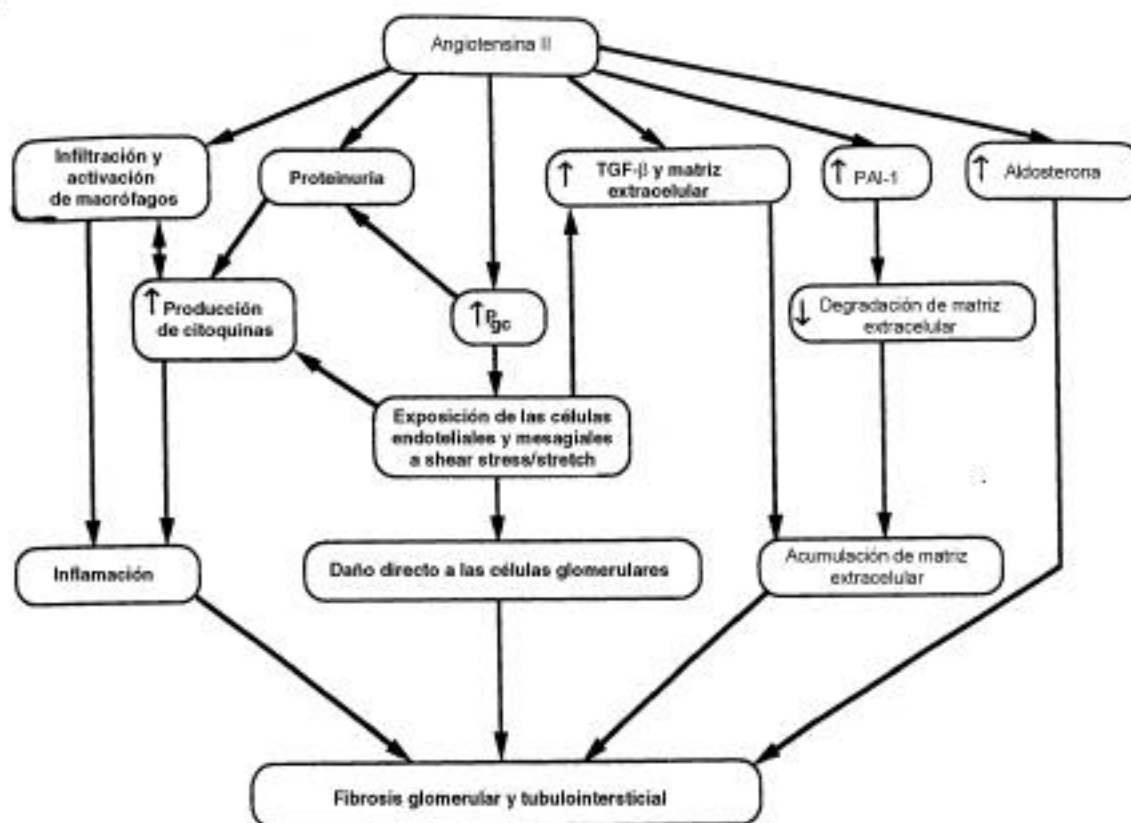


Figura 21. Papel central de la angiotensina II en la patogénesis de la ERP: efectos hemodinámicos y no hemodinámicos

EL SISTEMA RENINA-ANGIOTENSINA y TGF- β

El sistema renina-angiotensina (RAS) y el TGF- β actúan como mecanismo de emergencia cuando se produce cualquier tipo de lesión renal con el objetivo de mantener la homeostasis. Cuando la agresión es persistente la relación entre el RAS y el TGF- β causa una activación continua que genera una hipertensión crónica y una fibrosis que lleva a la disfunción del órgano. En este sentido, existen evidencias de que una combinación en el bloqueo de RAS con un agente independiente que suprima el TGF- β sería superior al bloqueo único de RAS¹²⁶.

En una respuesta sistémica, RAS genera rápidamente Ang II que actúa por vasoconstricción, manteniendo así la presión sanguínea. Posteriormente facilita la secreción de aldosterona, dando como resultado final el aumento del volumen intravascular. El TGF- β es liberado rápidamente por degranulación plaquetaria, produciendo: (1) autoinducción de la producción de TGF- β de las células vecinas, amplificándose los efectos biológicos, (2) atracción de monocitos/ macrófagos que limpian y esterilizan la herida y activación de los fibroblastos que inician la síntesis de matriz, (3)

deposición de nueva matriz: estimulando la síntesis de nueva matriz, inhibiendo las proteasas que degradan la matriz y modulando el número de receptores de integrinas, para facilitar la adhesión celular a la matriz nueva, (4) supresión de los efectos pro-inflamatorios de la IL-1 y del TNF, (5) regulación de la acción del PDGF y del FGF, coordinando la proliferación celular y la angiogénesis con la deposición en la matriz y (6) finalización del proceso cuando el tejido está totalmente reparado¹²⁷.

Ang II induce la producción del TGF- β en cultivos de células y en vivo¹²⁸. Se ha observado en el laboratorio que la infusión de Ang II estimula fuertemente la producción y activación de TGF- β en el riñón. El bloqueo de la Ang II reduce la sobre expresión del TGF- β en riñón y corazón. Así, los efectos fibrogénicos atribuidos a la Ang II es probable que sean mediados por el TGF- β . Igual que la AII, el TGF- β estimula la contracción vascular de las células musculares lisas y las células mesangiales¹²⁹. Esto sugiere que la liberación de TGF- β por el aparato yuxtglomerular podría modular la microcirculación del glomérulo. De hecho, la microinyección intravenosa de dosis altas de TGF- β en una rata produce una reducción de la volemia y por consiguiente una reducción de la tasa de filtración glomerular. La razón de que el TGF- β adquiera este protagonismo en la reducción de la volemia no está muy claro pero podría ser debido a una sinergia entre TGF- β y la activación de RAS¹³⁰.

Otra interacción entre el RAS y el TGF- β es el nivel de aldosterona. AII estimula la producción y la liberación de aldosterona por la corteza suprarrenal. En contraste, el TGF- β suprime la producción de aldosterona de la glándula adrenal y reduce la acción de la AII disminuyendo el número de receptores de ésta expresados en la glándula adrenal¹³¹. Además, el TGF- β actúa bloqueando los efectos de la aldosterona en la reabsorción de sodio en cultivos de células de los túbulos renales. La infusión de aldosterona en ratas a las que se les ha practicado una nefrectomía parcial produce un aumento de la presión sanguínea, proteinuria y glomerulosclerosis resultando ineficaz el bloqueo de AII¹³².

La expresión en niveles superiores a los normales del TGF- β ha sido confirmada en muchos modelos de fibrosis renal. También se ha constatado que el bloqueo de la AII no es suficiente para bloquear la fibrosis renal¹³³. Se ha comprobado que la AII es una molécula fibrogénica porque cuando se añade en cultivos de células mesangiales activa la producción de colágeno¹³⁴.

Angiotensina II y Plasmina

La plasmina es un enzima fibrinolítico importante en la disolución de los coágulos subsiguientes a la herida. Se genera desde el plasminógeno y se bloquea con los inhibidores de la proteína de la plasmina (PAIs). El PAI, como la AII y el TGF- β , se puede incluir dentro del conjunto de

INTRODUCCIÓN

moléculas que acuden rápidamente a los lugares que han sido dañados. Es un enzima de amplio espectro que ayuda a degradar a la fibrina y a muchas proteínas de la ECM. También rompe algunas procollagenasas generando moléculas activas que degradan colágeno. El recambio de la matriz mesangial está relacionada con la generación de plasmina. Los niveles de PAI-1 son los principales determinantes de la generación de plasmina. Se ha visto que la Ang II inicialmente aumenta los niveles de mRNA de PAI-1 independientemente del TGF- β . Posteriormente, los niveles de mRNA de PAI-1 se incrementan de forma dependiente al TGF- β ¹³⁵.

Aldosterona y fibrosis renal:

La sobreproducción de aldosterona está ligada a la hipertensión y a la glomerulosclerosis. Así, la administración de aldosterona aumenta la severidad de la enfermedad renal. En concreto, la aldosterona tiene efectos fibrogénicos independientes de la Ang II aunque está por dilucidar si esta molécula regula la expresión del TGF- β , ya que la administración de un agonista del receptor de la aldosterona no bloquea la glomerulosclerosis pero sí disminuye de manera transitoria la proteinuria, la presión arterial, y la hipertrofia cardíaca (acciones fibróticas de la aldosterona que podrían ser mediadas por el TGF- β a través de canales diferentes a los clásicos situados en el tubo distal)¹³⁶.

Renina y prorenina como moléculas fibrogénicas:

Como en el caso de la aldosterona, recientes estudios sugieren que la prorenina o la renina tienen acciones independientes de la AII en la producción de fibrosis. Se ha comprobado que animales transgénicos normotensos que sobreexpresan prorenina desarrollan glomerulosclerosis severa¹³⁷. Además, la renina recombinante humana añadida a un cultivo de células mesangiales humanas induce una producción aumentada del PAI-1, el cual no sólo es independiente de la AII sino que actúa a través del receptor en las células mesangiales¹³⁸.

Varios artículos sugieren que el TGF- β aumenta la liberación de renina. En este sentido, la adición de TGF- β en cultivos de células yuxttaglomerulares muestra un aumento de renina. Así, podemos deducir que el TGF- β es un factor importante que libera renina aunque no se desconoce su relación con la enfermedad fibrótica.

En resumen, se sugiere que la AII ejerce efectos independientes de la presión en la fibrosis renal a través de la regulación del TGF- β , conduciendo a la fibrosis. La AII tiene efectos directos en la producción de PAI-1, la cual debe intervenir en la acumulación patológica de ECM limitando la degradación de la ECM y la activación de collagenasas. Aunque este extremo ofrece más dudas, los componentes de RAS, aldosterona, prorenina y renina parecen estar íntimamente conectados con la producción y acumulación de ECM (Figura 19).

Efectos de la glucosa y la angiotensina

Los efectos de la glucosa en el riñón (especialmente en las células mesangiales) están mediados a través de la estimulación de la producción de AII, la cual lleva a un incremento de la matriz extracelular dependiente de TGF- β y a una disminución en la degradación de la matriz¹³⁹. Es interesante remarcar, que tanto AII como la glucosa comparten una señalización intracelular similar y que el mediador del efecto es la activación del TGF- β , factor de crecimiento profibrótico por excelencia¹⁴⁰. La activación de la proteína quinasa (PKC) en ambientes con una alta concentración de glucosa mediante AII es el punto de regulación principal de la activación de esta citocina. (Figura 21)

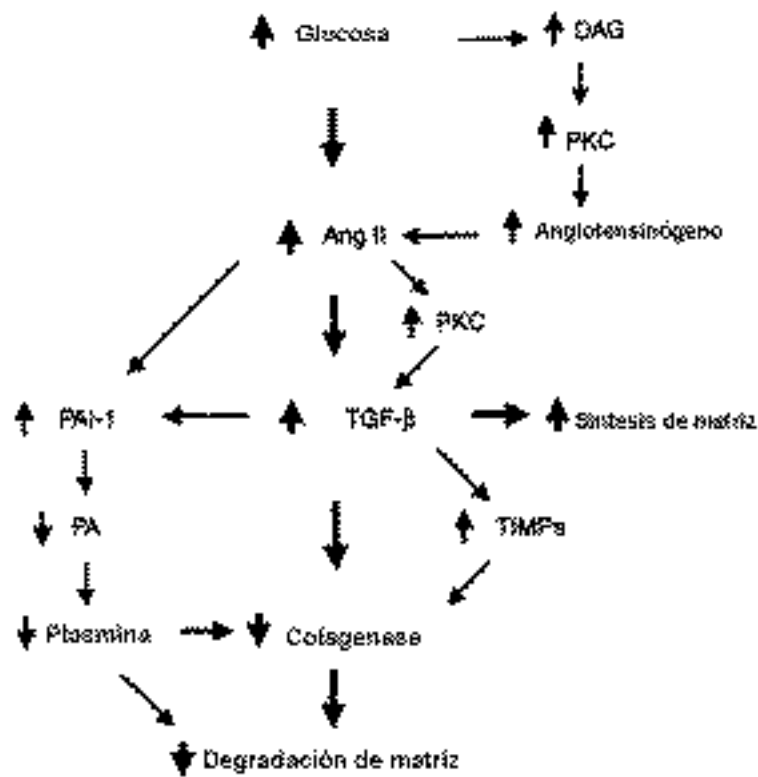


Figura 22. Posibles mecanismos de acumulación de matriz inducida por la glucosa

INTRODUCCIÓN

1.4.2.2.3 Importancia de los inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina II (IECAs).

El descubrimiento y la puesta a punto de estos fármacos tiene su origen en estudios de finales de los años sesenta e inicios de los setenta realizados sobre una serie de péptidos obtenidos de una serpiente brasileña (*Botropos jararaca*), que poseen una actividad antihipertensiva y potenciadora de la bradiquinina.

Se comprobó que su acción farmacológica estaba ligada a la secuencia de aminoácidos, que presentaba una analogía con la secuencia de la angiotensina I, de ahí su capacidad de interacción con la ECA, “ocupándola” e inhibiendo su actividad enzimática. La naturaleza peptídica de estas sustancias las hacía ineficaces por vía oral. Para superar esta limitación terapéutica se han sintetizado posteriormente moléculas, de naturaleza no peptídica, capaces de interactuar con la ECA de manera análoga a los péptidos iniciales. El resultado de estas investigaciones fue la obtención del captopril, el primer inhibidor de la ECA activo por vía oral y el primer fármaco de esta nueva clase que se comercializó (1981). En el presente estudio, hemos utilizado el Quinapril, un IECA caracterizado por la presencia de un grupo fosfórico que le permite unirse al ECA. La figura siguiente muestra un esquema de su estructura química (Figura 22).

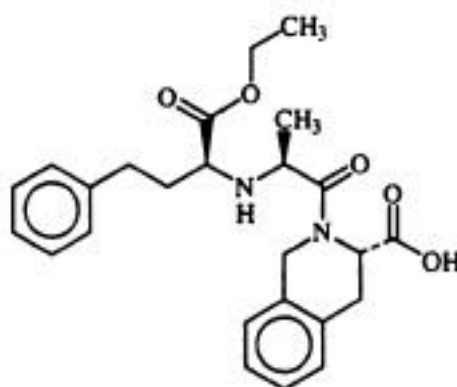


Figura 23. Fórmula química del quinapril

Los IECAs son particularmente efectivos porque producen la dilatación de la arteriola eferente, la cual permite la salida de la sangre del glomérulo disminuyendo la presión intraglomerular independientemente de cualquier cambio en la presión arterial sistémica. En el modelo de nefrectomía parcial cuando se produce ERP, se ha encontrado que el daño endotelial estaba asociado a un aumento de la expresión de mRNA de angiotensinógeno, el cual conduce a un aumento de los niveles de angiotensina I¹⁴¹. Además, se incrementa el coeficiente de ultrafiltración,

el cual, junto con el flujo plasmático del glomérulo impide que la filtración individual de cada nefrona disminuya. Se ha sugerido, también, que los IECAs podrían estimular la secreción de prostaglandinas vasodilatadoras como PGE₂¹⁴². En relación con la hemodinámica glomerular es importante remarcar que los IECAs, contrariamente a la AII, están directamente relacionados con la permeabilidad glomerular¹⁴³, al disminuir el diámetro del poro de la MBG. Como consecuencia recuperan la barrera de filtración glomerular reduciendo la proteinuria y la hipertrofia glomerular provocada por el tránsito masivo de macromoléculas a través de los capilares.

Además de actuar a través de mecanismos hemodinámicos, estudios experimentales sugieren un efecto beneficioso adicional de los IECAs, la disminución de la hipertrofia glomerular, a través de un efecto directo en el incremento del volumen mesangial inducido por la AII (disminución en la expresión de los componentes de la matriz mesangial como la cadena 1 del colágeno de tipo IV, la cadena B1 y B2 de la laminina y la cadena 1 del colágeno tipo I y III, características del glomérulo diabético)¹⁴⁴. También se ha sugerido que la atenuación de la expansión mesangial podía estar relacionada con la expresión del mRNA de la ET-1, un activador de las células mesangiales cuya síntesis está relacionada con la AII¹⁴⁵. Así mismo, se ha visto un claro efecto renoprotector de los IECAs a través de la disminución del TGF- tanto en la diabetes mellitus experimental como en la humana¹⁴⁶.

1.4.2.3 Papel de los lípidos.

1.4.2.3.1 Clasificación de las lipoproteínas, y del metabolismo y papel en la arteriosclerosis

Los lípidos, tales como el colesterol y triglicéridos, son insolubles en plasma. Por tanto, la circulación de los lípidos ha de estar ligada a proteínas que los transporten por la sangre hacia los tejidos para su posterior utilización energética, deposición lipídica, producción de hormonas esteroideas y formación de ácidos biliares. Al conjunto de la proteína transportadora y porción lipídica (colesterol esterificado o sin esterificar, triglicéridos y fosfolípidos) se la conoce como lipoproteína. El componente proteico de las lipoproteínas se denomina apolipoproteína o apoproteína. Las diferentes apoproteínas sirven como cofactores de los enzimas y como ligandos de los receptores¹⁴⁷.

Lipoproteínas:

Se pueden diferenciar cinco grupos principales de lipoproteínas, cada uno de los cuales tiene una función diferente:

Quilomicrones: Son partículas muy grandes que transportan los lípidos de la dieta. Están asociados a diferentes variedades de apolipoproteínas, incluidas la A-I, A-II, A-IV, B-48, C-I, C-II, C-III y E.

INTRODUCCIÓN

VLDL: Estas partículas transportan triglicéridos de síntesis endógena y en menor proporción colesterol. Las principales apolipoproteínas con las que se encuentran asociadas las VLDL son la B-100, C-I, C-II, C-III y E.

IDL: Transporta colesterol y triglicéridos. Está asociada a las apolipoproteínas B-100, C-III y E.

LDL: Llevan ésteres de colesterol y están asociados a B-100.

HDL: Contienen ésteres de colesterol. Están asociados a las lipoproteínas A-I, A-II, C-I, C-II, C-III, D y E.

Apolipoproteínas:

La principal función de las diferentes proteínas puede resumirse en el siguiente cuadro. Entender estas funciones es importante clínicamente, porque defectos en el metabolismo de las apolipoproteínas comportan anormalidades en el metabolismo de los lípidos.

Apolipoproteína	
A-I	Proteína estructural para las HDL; activa la lecitin-colesterol-acil transferasa (LCAT).
A-II	Proteína estructural de las HDL; activa la lipasa hepática.
A-IV	Activador de la lipoproteína lipasa y la LCAT.
B-100	Proteína estructural de las VLDL, IDL, LDL, y Lp (a); ligando para el receptor del LDL; es necesaria para la reunión y secreción de la VLDL.
B-48	Contiene el 48% de B-100; se requiere para la reunión y secreción de quilomicrones; no se une al receptor de la LDL.
C-I	Activador de la LCAT
C-II	Cofactor esencial de la LPL.
C-III	Interfiere en el aclaramiento mediado por apo E de las lipoproteínas ricas en triglicéridos mediante receptores celulares; inhibe la hidrólisis de los triglicéridos por la lipoproteína lipasa y la lipasa hepática.
D	Cofactor para la proteína que transfiere los ésteres de colesterol.
E	Ligando del quilomicrón hepático y del receptor del VLDL remanente, dirige el aclaramiento de estas proteínas de la circulación; ligando del receptor para las LDL.
Apo (a)	Proteína estructural para la Lp (a); Inhibidor de la activación del plasminógeno en la Lp (a).

Tabla 3. Apolipoproteínas

El metabolismo lipoproteico es susceptible de la siguiente división:

- ✓ Transporte exógeno de triglicéridos
- ✓ Transporte endógeno de triglicéridos
- ✓ Transporte de colesterol

1.4.2.3.1.1 *Transporte exógeno de los triglicéridos*

El estado nutricional del individuo determina cuál de las dos rutas se sigue en el metabolismo de los triglicéridos. En condiciones extremas de ayuno, prácticamente todos los triglicéridos son sintetizados endógenamente y secretados por el hígado en forma de VLDL. Después de una comida rica en grasas, los quilomicrones y las VLDL son secretadas por el intestino.

En los enterocitos, los ácidos grasos se combinan con el glicerol para formar triglicéridos, y el colesterol es esterificado por la enzima Colesterol Acil Transferasa (LCAT) para formar ésteres de colesterol. Estos lípidos son reunidos intracelularmente en forma de quilomicrones. La principal apolipoproteína es la B-48, pero la C-II y E son adquiridas cuando los quilomicrones entran en circulación. La Apo B-48 permite la unión de los lípidos al quilomicroón pero no es capaz de adherirse al receptor de las LDL, previniendo el aclaramiento prematuro de los quilomicrones en la circulación antes de que actúe la lipoprotein lipasa.

La Apo C-II es un cofactor de la lipoprotein lipasa que hace que los quilomicrones mengüen progresivamente gracias a la hidrolis del núcleo de los triglicéridos y a la liberación de ácidos grasos. Los ácidos grasos son utilizados como fuente de energía, convirtiéndose en triglicéridos o almacenándose en el tejido adiposo. Los productos finales del metabolismo de los quilomicrones son los quilomicrones remanentes aclarados en la circulación por sus receptores hepáticos a través de la ApoE (ligando de alta afinidad). Los quilomicrones remanentes tienen un pequeño núcleo de lípidos que está envuelto por componentes de superficie. Estos componentes de superficie son transferidos por el quilomicroón remanente para la formación de HDL.

1.4.2.3.1.2 *Transporte endógeno de los triglicéridos*

La vía endógena del metabolismo de los lípidos empieza con la síntesis hepática de VLDL. Estas moléculas contienen un núcleo de triglicéridos (60 % de la masa) y ésteres de colesterol (20% de la masa). La superficie de las VLDL está formada por apolipoproteínas: Apo C-II (cofactor de la lipoprotein lipasa), Apo B-100 y Apo E (ligando del receptor de la apolipoproteína B/E).

El núcleo de los triglicéridos de las partículas VLDL nacientes es hidrolizado por la lipoprotein lipasa. Durante la lipólisis, el núcleo de las VLDL es reducido, generándose remanentes de VLDL (deminados también, lipoproteínas de densidad intermedia o IDL). Algunos de los componentes de la superficie de las partículas de los remanentes, incluyendo los fosfolípidos, colesterol no esterificado y Apolipoproteínas A, C y E, son transferidos a la HDL. Los remanentes de las VLDL pueden ser clarificados de la circulación por la apo B/E (LDL) o los receptores de los remanentes, remodelado por las lipasas hepáticas para formar partículas de LDL.

INTRODUCCIÓN

1.4.2.3.1.3 Transporte del colesterol

Lipoproteínas de baja densidad- Las partículas de LDL contienen un núcleo rico en ésteres de colesterol y triglicéridos en menor proporción, enriquecidas además en apolipoproteína B-100 (ligando de apo E/B). La LDL es internalizada en los tejidos hepáticos y no hepáticos. En los primeros el colesterol LDL es convertido en ácidos biliares y entrar en el lumen intestinal. El LDL colesterol es internalizado por los tejidos hepáticos y es utilizado para la producción de hormonas, síntesis de membrana celular o almacenamiento de formas esterificadas.

La internalización de LDL es regulada por los requerimientos de colesterol celular a través de una vía de retroalimentación negativa que suprime la expresión del receptor de la apo B/E, receptor de la LDL. Por otro lado, la disminución de la actividad de la HMG-CoA Reductasa, el enzima que controla la síntesis de novo del colesterol celular, conduce a una caída secuencial del colesterol celular, aumentando la expresión de los receptores de la apo B/E, incrementando la captación del colesterol existente en circulación y reduciendo la concentración de colesterol en plasma.

Muchas células hepáticas, incluidos los monocitos, los macrófagos, las células musculares lisas y las células endoteliales, tienen un receptor “escavenger”. Este receptor se une únicamente a las LDL modificadas por radicales de oxígeno o por peróxidos lipídicos liberados al espacio subendotelial por macrófagos o plaquetas activadas. Este mecanismo podría ser el responsable de la conversión de macrófagos y células musculares lisas en células espumosas de las estrías grasas, la lesión más temprana en la arteriosclerosis.

La importancia del receptor de las LDL en la regulación del metabolismo del colesterol ha sido demostrada tanto en modelos experimentales humanos o como animales. Animales knockout para el gen del receptor de las LDL muestran un aumento en los niveles de colesterol total, defecto que es corregido por el gen del receptor de la LDL. En humanos, la hipercolesterolemia familiar está asociada a un defecto en dicho receptor.

Lipoproteínas de alta densidad- la formación y el metabolismo de las HDL implica las siguientes etapas:

- ✓ Síntesis hepática e intestinal de pequeñas partículas nacientes de HDL compuestas por fosfolípidos y apolipoproteínas.
- ✓ Obtención de componentes de superficie (fosfolípidos, colesterol y apolipoproteínas) de quilomicrones remanentes y de VLDL remanentes.
- ✓ Adquisición de colesterol libre de tejidos y otras lipoproteínas, como partículas de HDL iniciales que contienen pocas cantidades de colesterol.

- ✓ Proteínas que transfieren lípidos que facilitan el movimiento de los ésteres sintetizados a lipoproteínas que contengan apolipoproteína B. De esta manera, el colesterol puede ser repartido por los tejidos para la síntesis de esteroides o su almacenamiento.

Las HDL, contrariamente a las LDL transportan el exceso de colesterol de las células hasta el hígado. Además, son la principal fuente de apolipoproteína CII (cofactor de la lipoproteína lipasa) y apolipoproteína E (implicada en la toma y catabolismo hepáticos de la VLDL y la IDL). El efecto neto de los dos últimos pasos es retirar el exceso de colesterol de las células, lo que constituye el mayor efecto anti-aterogénico atribuido a las HDL.

Lipoproteína (a) o Lp (a)- La Apo (a) se une a la apo B-100 en la superficie de las LDL mediante puentes disulfuro. La integridad estructural de las LDLs y la formación de la Lp(a) están moduladas por la enzima lecitin colesterol acil transferasa (LCAT).

Una de las regiones de la Lp(a) es homóloga a los dominios que se unen al plasminógeno. Esta semejanza estructural al plasminógeno hace que la Lp(a) interfiera en la fibrinólisis mediante la competición de ambas moléculas por los receptores del plasminógeno, fibrinógeno y fibrina. Como consecuencia se produce una atenuación de la trombolisis debido a la menor activación del plasminógeno. Además, la Lp(a) se une a los macrófagos a través del receptor de alta afinidad promoviendo la formación de células espumosas, siendo fácil su localización en las placas arterioscleróticas.

1.4.2.3.2 Efectos nefrotóxicos de los lípidos

1.4.2.3.2.1 Mecanismos hemodinámicos

1.4.2.3.2.1.1 Hemodinámica sistémica

Existen estudios que destacan a la hipertensión en el desarrollo de las lesiones renales. En esta línea, Bnaa KH y Thelle DS¹⁴⁸ realizaron un estudio epidemiológico en el que demostraban que pacientes con hipertensión esencial tenían niveles de colesterol y triglicéridos mayores que sus respectivos controles. Esta asociación fue observada tanto en hombres como en mujeres. Paralelamente, Koletsky¹⁴⁹ desarrolló un modelo especial de rata hipertensa que desarrollaba hiperlipidemia y lesión renal. También se observó un efecto renoprotector del ácido linoleico que era acompañado de una disminución de la presión en ratas a la cuales se les había practicado una nefrectomía subtotal¹⁵⁰.

Otros estudios han mostrado que la presión sistémica elevada parece no jugar ningún papel en la patogénesis de la esclerosis glomerular inducida por lípidos. Así, se ha observado que los fármacos

INTRODUCCIÓN

hipolipemiantes administrados a ratas a las que se les había practicado una nefrectomía de 5/6 partes experimentaban una reducción de la esclerosis glomerular sin verse modificada la presión sistémica¹⁵¹. También se ha apreciado que la hipertensión desarrollada por las ratas espontáneamente hipertensas no está asociada a la esclerosis glomerular¹⁵².

1.4.2.3.2.1.2 Hemodinámica glomerular

Estudios de micropunción han demostrado un modesto incremento de la presión capilar glomerular durante la administración de dietas suplementadas con colesterol. Estos cambios ocurren en ausencia de un aumento de la presión sistémica y están estrechamente correlacionados con la presión oncótica del plasma. La elevación de la presión oncótica del plasma parece ser un hecho únicamente relacionado con el modelo de hipertrigliceridemia. Además, se ha evidenciado una intensificación de la resistencia arteriolar y una alteración significativa de la tasa de la resistencia arteriolar eferente/aferente, la cual podría contribuir a las fluctuaciones de las presiones hidrostáticas¹⁵³.

Por el contrario, hay estudios que defienden que la utilización de hipolipemiantes o fibratos en animales de experimentación reduce la albuminuria y la glomerulosclerosis pero sin modificar la presión intraglomerular ni sistémica¹⁵⁴.

Se ha sugerido que la hipercolesterolemia reduce la producción vascular de sustancias vasodilatadoras tales como las prostaciclina y la sustancia relajante derivada del endotelio, mientras que aumentan la producción de sustancias vasoconstrictoras tales como el tromboxano A₂ y la endotelina¹⁵⁵.

1.4.2.3.2.1.3 Hipertrofia glomerular

Kasiske y col¹⁵⁶, demostraron que previamente a la aparición de la glomerulosclerosis, la dieta rica en colesterol inducía el desarrollo de la hipertrofia glomerular. En otros capítulos ya hemos comentado que la hipertrofia glomerular es una característica común en la progresión de la ERP, siendo considerada como un mecanismo patogénico importante en el desarrollo de la glomerulosclerosis.

1.4.2.3.2.2 Mecanismos biológicos

Deposición de lípidos en el mesangio renal

El endotelio fenestrado que caracteriza a los capilares glomerulares y peritubulares, así como la porción ascendente de los vasos rectos, hace que el glomérulo y el intersticio renal sean los lugares idóneos para la acumulación de lípidos. Además, la ausencia de una membrana basal que separe la luz del mesangio glomerular proporciona un microambiente favorable para la interacción entre las proteínas y el mesangio.

Por otro lado, en el síndrome nefrótico, se han encontrado niveles plasmáticos altos de VLDL, IDL, LDL, colesterol y lipoproteína así como de triglicéridos. El enriquecimiento de las VLDL y LDL en colesterol es debido al aumento de la transferencia de éste y es un reflejo de la larga permanencia de estas partículas en la circulación. Éstas se acumulan y penetran en el endotelio vascular sufriendo modificación oxidativa y causando daño renal¹⁵⁷.

Un esquema de los factores patogénicos por los cuales los lípidos inducen el daño renal sería el siguiente:

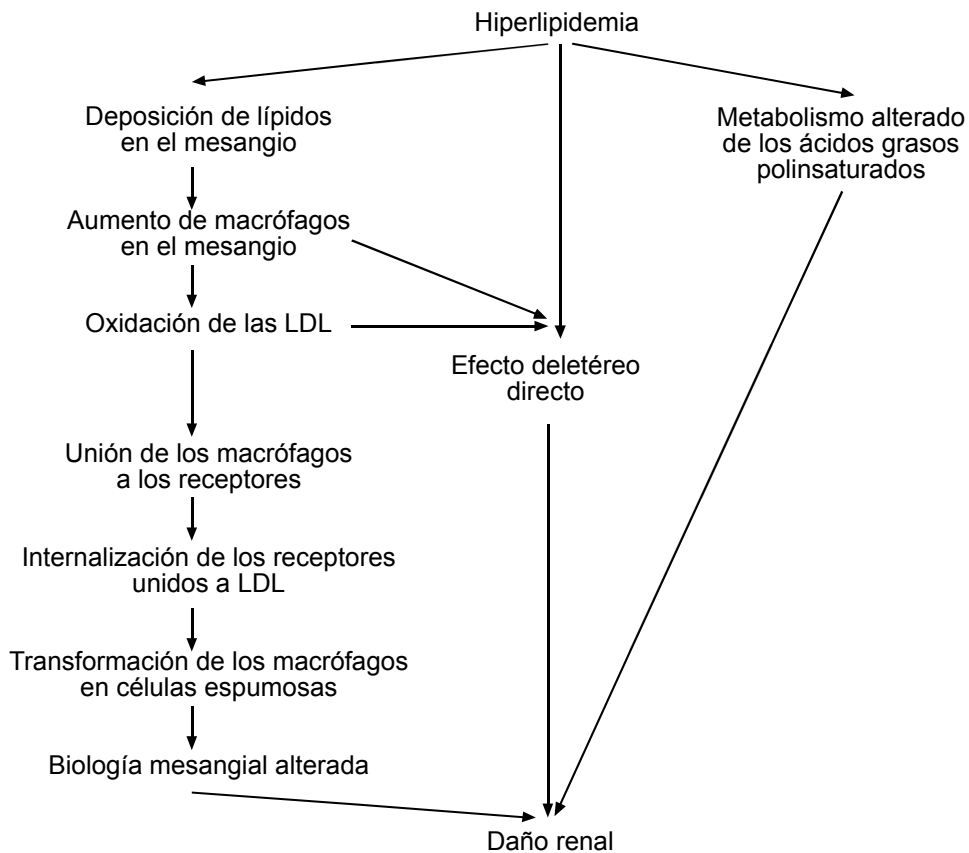


Figura 24. Esquema de los factores patogénicos en una nefropatía inducida por lípidos

INTRODUCCIÓN

Aumento de macrófagos mesangiales

Se ha demostrado que niveles altos de VLDL contribuyen a la infiltración de monocitos en el mesangio glomerular¹⁵⁸. En concreto, los macrófagos tienen un papel importante en la patogénesis de la arteriosclerosis. Estas células están implicadas en la fagocitosis y degradación de los depósitos lipídicos. En el riñón, los macrófagos repletos de lípidos (células espumosas) se encuentran frecuentemente en las etapas iniciales de glomerulonefritis en humanos¹⁵⁹.

Así, la hiper celularidad mesangial es debida al influjo de monocitos de la circulación que una vez llegan al mesangio son transformados en macrófagos residentes del tipo Ia. Además, las células mesangiales (responsables de modificar las células musculares lisas) reaccionan de una manera análoga con los depósitos lipídicos y con los productos de los macrófagos, proliferando y aumentando la formación de matriz extracelular.

Oxidación de las LDL

Las células mesangiales, los macrófagos glomerulares derivados de los monocitos y las células espumosas producen radicales de oxígeno que oxidan a las LDL y a otros lípidos. Por ejemplo, se ha comprobado que existe una peroxidación de los ácidos grasos polinsaturados de la membrana que interfiere en las funciones de la misma.

Ishiyama y col¹⁶⁰ comprobaron que el radical libre de oxígeno, anión superóxido O_2^- , incrementa su expresión en la hiperlipidemia y en las enfermedades renales. La toxicidad de este radical se debe a la habilidad que tiene en reaccionar no solo con proteínas y ADN sino también con los lípidos. El radical O_2^- se metaboliza en peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y en radicales hidroxilo (OH^-). El radical hidroxilo es altamente reactivo y puede oxidar fácilmente a los lípidos, formando peróxidos lipídicos (LOOH).

Efectos directos de las LDL oxidadas

En el riñón, las LDL oxidadas ejercen un gran número de efectos deletéreos: aumento de la fosfatidilcolina (quimioatante de los monocitos)¹⁶¹, incremento de la actividad de las protein tirosin quinasa específicas (PTKs) que juegan un papel crítico en la adhesión de los monocitos a las células endoteliales¹⁶², estimulación de la expresión de TGF- β y fibronectina¹⁶³, regulación de la expresión del colágeno a través de la modificación de proteínas responsables de la expresión de los genes que codifican para el colágeno¹⁶⁴, intensificación de la producción de matriz mesangial¹⁶⁵, formación de radicales libres de oxígeno O_2^- que conducen a la muerte celular de las células de la pared vascular y del glomérulo¹⁶⁶, e inducción de la vasoconstricción disminuyendo la actividad del

óxido nítrico (acción contraria a la de la superóxido dismutasa, catalasa y la L-arginina), proporcionando protección frente la vasoconstricción inducida por la LDL oxidada¹⁶⁷.

Unión de las LDL oxidadas a los receptores de los macrófagos e internalización del receptor unido a las LDL: transformación de los macrófagos en células espumosas.

Las células mesangiales humanas poseen receptores “scavenger” tipo A inducibles en situaciones de inflamación. Estos receptores son proteínas integrales capaces de internalizar un amplio espectro de ligandos, incluidas las LDL-acetiladas y LDL-oxidadas. La acumulación de lípidos a partir de este proceso lleva a la formación de las células espumosas típicas de las placas arterioscleróticas contribuyendo al desarrollo de la glomerulosclerosis. Así, se ha sugerido que la expresión de dichos receptores en las células mesangiales humanas podría ser un marcador de activación de las células mesangiales durante el desarrollo de la glomerulosclerosis¹⁶⁸.

Alteración de la biología del mesangio

La acumulación de macrófagos y células espumosas en el mesangio produce sustancias que alteran los procesos biológicos locales. Estos cambios son nocivos para el glomérulo renal y tejido tubulointersticial. La presencia de VLDL, IDL, LDL o una alta concentración de HDL en cultivos de células mesangiales humanas incrementa la secreción de IL-6, PDGF-AB, y TGF- β , mientras que la secreción de TNF- α es estimulada por las LDL-oxidadas¹⁶⁹.

Las LDL incrementan selectivamente la síntesis de prostaglandinas específicas y hialuronato en las células mesangiales. Este efecto contribuye a la expansión de matriz mesangial y a la modificación de las interacciones de las células con la matriz que producen daño renal¹⁷⁰.

Efecto directo de los lípidos

Los depósitos de lípidos en el mesangio renal ejercen efectos deletéreos directos tales como la proliferación celular y la formación de matriz mesangial. Se ha apreciado en cultivos de células mesangiales humanas que las lipoproteínas ricas en lípidos VLDL, IDL y LDL causan proliferación mesangial mientras que las LDL-oxidadas tienen un efecto citotóxico¹⁷¹.

Las lipoproteínas tienen una alta afinidad por los glicosaminoglicanos de la membrana basal glomerular (MBG). La apoB se une *in vitro* al colágeno y al glicosaminoglicano sulfato de heparán, el principal constituyente de la MBG *in vivo*. Esta unión puede ser debida a una región de 130kda que tiene una secuencia homóloga al receptor de las LDL. Es posible, aunque no está garantizado, que la unión de la apoB neutralice la carga glomerular y disminuya la permeoselectividad, aumentando la pérdida de proteínas. La combinación de las LDL y de los glicosaminoglicanos de la MBG puede producir un complejo que favorezca la internalización de los macrófagos¹⁷².

INTRODUCCIÓN

Las lipoproteínas aterogénicas (Lp(a) y LDL) estimulan la formación de radicales libres de oxígeno no solo en las arterias, sino también en las células glomerulares y yuxtaglomerulares, causando una inhibición de la vasodilatación dependiente de óxido nítrico, fomentando la liberación de renina, modulando el crecimiento y proliferación de las células mesangiales, además de introducir efectos potencialmente precursores de los enzimas antioxidativos y las lipoproteínas de alta densidad¹⁷³.

1.4.2.3.3 Inhibidores del HMG-CoA Reductasa

Los inhibidores de la 3-hidroxi-metil-glutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa, también llamados estatinas, inducen reducciones importantes en los niveles de colesterol plasmático estableciéndose como tratamiento de la hipercolesterolemia.

La figura 24 es una representación de la estructura química de la atorvastatina, inhibidor de la HMG-CoA reductasa que hemos utilizado en el presente estudio experimental.

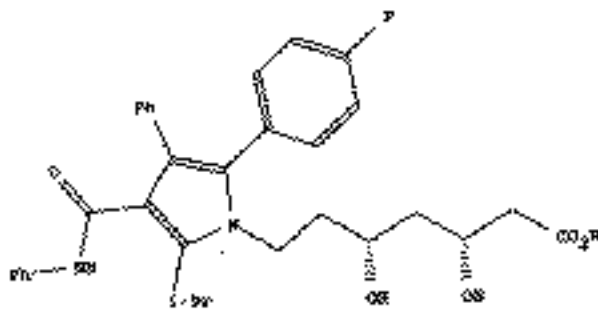


Figura 25. Estructura química de la atorvastatina

Actualmente, los inhibidores de la HMG-CoA Reductasa, denominados también estatinas, incluyen a la lovastatina, pravastatina, simvastatina, fluvastatina, atorvastatina y cerivastatina. Estos agentes son inhibidores competitivos de la hidroximetilglutaril-CoA reductasa. Los efectos beneficiosos de estos enzimas radican en la habilidad que tienen para reducir la síntesis del colesterol por dicha vía.

El producto de la reacción catalizada por este enzima es el mevalonato (MVA). Esta molécula tiene una gran importancia ya que además de ser el precursor del colesterol lo es también de algunos componentes isoprenoides no esteroides. Esto confiere a los inhibidores de la HMG-CoA propiedades pleiotrópicas.

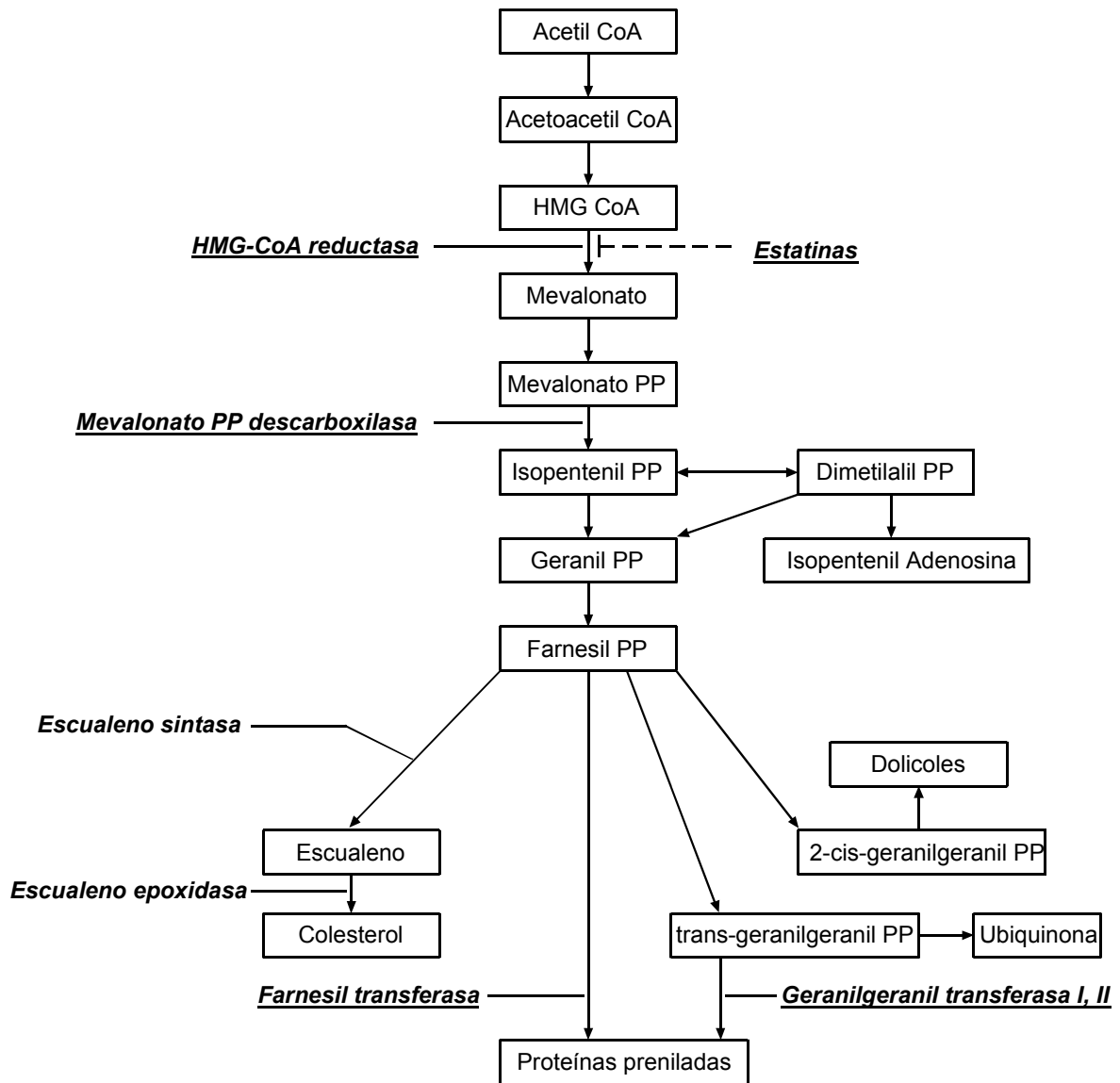


Figura 26. Vía metabólica de los productos de la HMG-CoA Reductasa.

Las propiedades de la ruta del mevalonato producen una serie de isoprenoides vitales en el desarrollo de diversas funciones celulares. Entre estos isoprenoides se encuentran el adenosin isopentenil (presente en algunos ARN de transferencia), los dolicoles (requeridos en la síntesis de glicoproteínas), polisoprenoides (cadenas laterales de la ubiquinona) y el anillo hemoA (implicado en el transporte de electrones) (Figura 25).

Se han identificado varias proteínas que son modificadas post-transduccionalmente mediante uniones covalentes con grupos isoprenoides derivados del MVA, como el farnesil o geranil pirofosfato. Estas proteínas necesitan ser preniladas para su unión a la membrana. Los miembros de esta familia están implicados en una serie de procesos celulares que incluyen la señalización celular, la diferenciación y proliferación celular, la mielinación, la dinámica del citoesqueleto y el transporte endocítico y exocítico. Como consecuencia, las estatinas mediante la inhibición de la

INTRODUCCIÓN

HMG-CoA reductasa pueden afectar a varios procesos que explican las propiedades no hipolipemiantes de estos fármacos¹⁷⁴.

1.4.2.3.3.1 Efectos renoprotectores de los inhibidores de la HMG-CoA reductasa

Efecto en el metabolismo lipídico

Aunque la enzima de la HMG-CoA reductasa es ubicua, la acción predominante de este fármaco se encuentra en el hígado, donde disminuye la síntesis de las VLDL, precursores de las LDL. Como resultado de la atenuación de los niveles de colesterol intracelular, los hepatocitos aumentan el número de receptores de las LDL, produciéndose una aclaración del colesterol plasmático y activándose la excreción del colesterol vía biliar¹⁷⁵.

La atorvastatina reduce la producción de las VLDL mediante la secreción hepática de la apoB. A la par, está asociada con la disminución de la tasa de recuperación de la actividad de la HMG CoA reductasa después del tratamiento. Las estatinas tienen una propiedad modesta, aumentando el colesterol- HDL. Además, disminuyen la concentración de triglicéridos como consecuencia de la disminución de las VLDL.

Otro mecanismo potencial beneficioso de los inhibidores de la HMG-CoA reductasa está relacionado con la disminución de la expresión de la molécula MCP-1 en el mesangio cuyo metabolismo depende de la MMV¹⁷⁶.

Efecto en la oxidación de las LDL oxidadas

Las estatinas reducen la susceptibilidad a la oxidación de las LDL al menos a través de cuatro mecanismos:

Efecto hipolipemiante: reducen el contenido de ácidos grasos y colesterol en las lipoproteínas¹⁷⁷.

Disminución de la producción de oxígeno en los macrófagos. Las proteínas preniladas, probablemente las que pertenecen a la familia Rac, están implicadas en la producción de radicales superóxido¹⁷⁸. También se ha demostrado que las estatinas (a través de la prevención de la prenilación de p21Rac) atenúan la producción endotelial de aniones superóxido¹⁷⁹.

Unión a los fosfolípidos superficiales de las lipoproteínas: se ha establecido que las estatinas, como la fluvastatina y lovastatina, se unen a la fracción fosfolipídica de las LDL previniendo la difusión de los radicales libres¹⁸⁰.

Metabolitos antioxidantes: se ha demostrado que la atorvastatina y la fluvastatina poseen un potencial antioxidativo protegiendo a las lipoproteínas de la oxidación¹⁸¹.

Efectos en la función endotelial

La disfunción endotelial es un evento precoz que ocurre en la hipercolesterolemia. Este efecto está relacionado con la habilidad de las células endoteliales para producir óxido nítrico (NO) y probablemente, con la disminución de la L-arginina disponible (substrato de la sintasa de óxido nítrico, NOS)¹⁸². Se ha observado que cuando se suplementa una dieta con hipercolesterolémica con L-arginina se previene la arteriosclerosis, presuntamente a causa del restablecimiento de la producción endotelial de NO. Además, estudios realizados *in vitro* muestran que las estatinas incrementan la expresión del NOS endotelial¹⁸³. Wagner y col¹⁸⁴ encontraron otros efectos beneficiosos para las estatinas, como la inhibición de la formación endotelial de O_2^- que provoca alteraciones del equilibrio NO y O_2^- .

Roulet y col¹⁸⁵ observaron que la lovastatina incrementaba la sensibilidad a algunos vasoconstrictores (noradrenalina y serotonina) ejerciendo un efecto negativo en la relajación del endotelio de la aorta, acción que se prevenía con la adición de mevalonato. Este hallazgo cuestiona la administración de estatinas como efecto desfavorable en la ruta de la NO vascular.

Efecto en la inflamación

Las células mesangiales son estimuladas por la deposición de lipoproteínas nativas y oxidadas liberando quimioactantes que provocan la acumulación de monocitos y macrófagos en el glomérulo. Así, Keane demostró que las estatinas podían reducir la expresión de algunos factores de crecimiento (M-CSF), quimiocinas (MCP-1) y de algunas moléculas de adhesión (VACM-1, ICAM-1) implicadas en la adhesión de monocitos en el endotelio y mesangio, hecho asociado a la disminución del injurio renal¹⁸⁶.

Efecto en la proliferación celular

Las células mesangiales proliferan en respuesta a varios factores de crecimiento tales como el PDGF y el IGF-1 así como ante lipoproteínas tales como la LDL, la IDL y la VLDL. Experimentos *in vitro* han demostrado que las estatinas inhiben la proliferación de las células mesangiales, células del epitelio tubular renal y células musculares lisas¹⁸⁶.

Por otro lado, en cultivos de células mesangiales de rata se puso de manifiesto el papel de los isoprenoides en la proliferación celular. En concreto, se vio que la lovastatina causaba una inhibición dosis-dependiente en la replicación del ADN. Esta inhibición podía ser rápidamente revertida por el mevalonato. Similarmente, la adición del isoprenoide farnesol era capaz de invertir nuevamente los efectos de la lovastatina. Estos datos sugirieron que la disminución de la síntesis de isoprenoides ejercía un efecto antiproliferativo independientemente a los niveles de colesterol¹⁸⁷.

INTRODUCCIÓN

1.4.2.3.3.2 Otros efectos de las estatinas

Efecto en la actividad de las plaquetas

Las plaquetas de los pacientes hipercolesterolémicos son más sensibles a los agentes agregantes, perfil que presentan acompañado de una composición lipídica alterada. En concreto, las estatinas reducen la agregación plaquetaria modificando el contenido en colesterol de la membrana de las plaquetas, la cual altera la fluidez de ésta¹⁸⁸.

Efecto en los procesos de coagulación:

La terapia con estatinas disminuye significativamente la formación de trombos y mejora el perfil fibrinolítico (descenso de los niveles del inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1) y aumento de los niveles del activador de plasminógeno tisular)¹⁸⁹.

Efecto en el crecimiento tumoral:

Algunos experimentos *in vitro* han aportado datos que indican que las estatinas pueden inhibir el crecimiento tumoral¹⁹⁰. Esto es debido en parte al antagonismo del mevalonato en la proliferación celular y también, al hecho de que muchas células tumorales tienen una alta actividad de la HMG-CoA reductasa.

1.4.2.4 Quimocinas

Jones en 1950 irrumpía en el campo de las quimocinas de la siguiente manera: “El glomérulo dañado aumenta su permeabilidad capilar, hecho asociado, como en otros modelos de inflamación, a lo que se denomina un aumento de la adherencia de las células endoteliales. Los neutrófilos polimorfonucleares circulantes se unen a estas paredes adherentes de las células endoteliales y así se acumulan en el glomérulo”¹⁹¹

1.4.2.4.1 Quimocinas: clasificación y mecanismos de acción

Se han descrito más de 40 miembros y 17 receptores de quimocinas hasta el momento¹⁹². Las quimocinas son unas proteínas pequeñas con cuatro cisteínas conservadas que forman dos puentes disulfuro (Cys1-Cys2 y Cys3-Cys4). Inicialmente las quimocinas se subdividieron en dos grandes familias basadas en la posición de los dos primeros residuos de cisteína: la familia CXC tiene los dos primeros residuos de cisteínas de la secuencia primaria separados por un solo aminoácido (la X representa el aminoácido que interviene)¹⁹³ y la familia CC con los residuos de cisteína ubicados consecutivamente. Aunque la mayoría de quimocinas pertenecen a estas dos familias, existen otras dos adicionales que contienen únicamente un miembro: La quimocina C, linfotactina, que carece de la primera y tercera cisteína de los cuatro residuos conservados. Éstos comparten el extremo

carboxi terminal de la familia de las quimocinas CC. Por último, la Fractalquina, quimocina que presenta 3 aminoácidos entre los dos primeros residuos de cisteína (CX₃C). Esta quimocina está unida a una larga mucina, asociada a su vez a la membrana celular con funciones de quimocina y de molécula de adhesión.

Algunas quimocinas CXC muestran una denominación estructural adicional, denominada E-L-R-CXC (Ác. Glutámico-leucina-arginina-cisteína-X-cisteína). Estos aminoácidos están ubicados en los dos primeros residuos de cisteína. Las quimocinas E-L-R-CXC actúan principalmente como factores quimiotácticos de neutrófilos, en contraste con las quimocinas exentas del motivo E-L-R, que se unen de una manera diferente al receptor y son activas en los linfocitos. Así mismo, las quimocinas de la familia CC actúan principalmente en monocitos, aunque pueden activar linfocitos, basófilos y eosinófilos, pero no neutrófilos.

Las quimocinas CXC como la IL-8, ENA-78 (el quimioatrayente 78 de neutrófilos derivado de células epiteliales), y GRO- α , que contienen los aminoácidos E-L-R-CXC, actúan como agentes angiogénicos, mientras que la PF4, IP-10 y SDF-1 (factor -1 derivado de células del estroma), privadas de la secuencia de aminoácidos E-L-R, pueden intervenir como factores angiostáticos. Durante la embriogénesis, la respuesta reparadora y la inflamación crónica, la expresión de quimocinas puede determinar la microvascularización del tejido¹⁹⁴.

Distribución de las quimocinas y sus receptores en el riñón:

En las tablas 4 y 5 mostramos la distribución de las principales quimocinas y sus receptores en el tejido renal.

Principios de acción de las quimocinas

- Las quimocinas son liberadas por células que actúan localmente.
- Son producidas por células intrínsecas así como por células inflamatorias
- Las quimocinas actúan a través de receptores transmembrana que atraviesan la membrana siete veces y acoplados a proteínas G.

INTRODUCCIÓN

Tabla 4. Receptores de quimocina CC, distribución tisular y sus ligandos

Quimocina	HCC-1 MCP-2 MCP-3 MIP-1 a RANTES	MCP-1 MCP-2 MCP-3 MCP-4 MCP-5	MCP-3 MCP-4 Eotaxina Eotaxina-2 RANTES	MDC TARC	RANTES MIP-1a MIP-1b MCP-2
Receptor	CCR1	CCR2	CCR3	CCR4	CCR5
Tipo celular que expresa el receptor	Monocitos Células Dendríticas (inmaduras) Células T Th-1 Neutrófilos Eosinófilos Células mesangiales	Monocitos Células Dendríticas (inmaduras) Basófilos Células T Células NK	Eosinófilos Basófilos Células T Th-2 Células Dendríticas	Células Dendríticas (maduras) Basófilos Células T Th-2	Células T Th-1 Células Dendríticas (inmaduras) Monocitos Células NK

Quimocina	MIP-3 (LARC)	ELC SLC	I-309 TCA-3 CCR8	TECK CCR9	MCP1 MCP3 CCR10
Receptor	CCR6	CCR7	CCR8	CCR9	CCR10
Tipo celular que expresa el receptor	Células Dendríticas (inmaduras) Células T Células B	Células Dendríticas (maduras) Células T Células B	Monocitos	Células T	

Tabla 5. Receptores de las quimocinas DARC, CXC, CX3C y C, distribución tisular y sus ligandos

Quimocina	IL-8 GCP-2	IL-8 GCP-2 GRO- GRO- GRO- ENA-78 NAP-2 LIX	I-TAC IP-10 MIG	SDF-1 SDF-1
Receptor	CXCR1	CXCR2	CXCR3	CXCR4
Tipo celular que expresa el receptor	Neutrófilos Células Dendríticas (inmaduras)	Neutrófilos	Células T Th-1 Células B Células NK	Células T Células Dendríticas (maduras) Monocitos Células B

Quimocina	BCA-1	Linfotactina	Fractalquina	Quimocinas CC, CXC (RANTES, MCP1, GRO-a, IL-8, NAP-2, PF-4)
Receptor	CXCR5	XCR1	CX ₃ CR1	DARC
Tipo celular que expresa el receptor	Células T Células B	Células T	Células NK Células T	Eritrocitos Células Endoteliales

- La expresión de los receptores de las quimocinas es específico del tipo celular.
- Las quimocinas se unen a proteoglicanos y a la matriz extracelular.
- Las quimocinas inducen a la haptotaxis (migración celular a través de gradientes en la superficie).
- Pueden actuar como moléculas de adhesión.
- Son susceptibles de estimular en los leucocitos la producción de oxígeno, la liberación de gránulos y de proteasas.
- Las quimocinas controlan aspectos de inmunomodulación, angiogénesis, hematopoyesis y desarrollo.

1.4.2.4.2 Modelo de actuación de las quimocinas en las Enfermedades Renales:

En una fase inicial (Figura 26B), la presencia de un insulto patológico en el glomérulo o tubulointersticio activa a las células renales intrínsecas y genera mediadores proinflamatorios. Este insulto puede ser inmunológico, tóxico, isquémico, o mecánico, pudiendo ser dirigido hacia una célula diana renal específica (ej, célula endotelial, epitelial, mesangial o del intersticio). La expresión de determinadas quimocinas y receptores, junto con la liberación local de mediadores inflamatorios (tales como la IL-1, el TNF- α , el IFN- γ , especies reactivas de oxígeno, etc), promueven la regulación positiva y activación de selectinas e integrinas en los leucocitos y células endoteliales, llevando a la adhesión, migración trasendotelial e infiltración de poblaciones específicas de leucocitos. Las células T, los monocitos, y los leucocitos polimorfonucleares parecen adherirse preferencialmente a los compartimentos microvasculares del riñón. Por ejemplo, las células T son escasas en el glomérulo pero son muy comunes en los infiltrados intersticiales.

Una consecuencia adicional de la activación de células locales es la inducción a la expresión de receptores de quimocinas tales como CCR1 y CCR3 por parte de las células mesangiales y otros tipos celulares. La expresión en las células mesangiales de CXCR3 en concierto con la producción local de la quimocina IP-10 podría llevar a la proliferación mesangial¹⁹⁵.

Durante la “fase de amplificación” (Figura 26C), el glomérulo afectado expresa un exceso de factores proinflamatorios que pueden llegar a la circulación capilar peritubular, así como al lumen tubular mediante la ultrafiltración, especialmente cuando se produce proteinuria con una pérdida de la barrera de ultrafiltración. Además, las proteínas y lípidos se escapan a través del endotelio dañado pudiendo inducir “stress celular” a las células tubulares proximales.

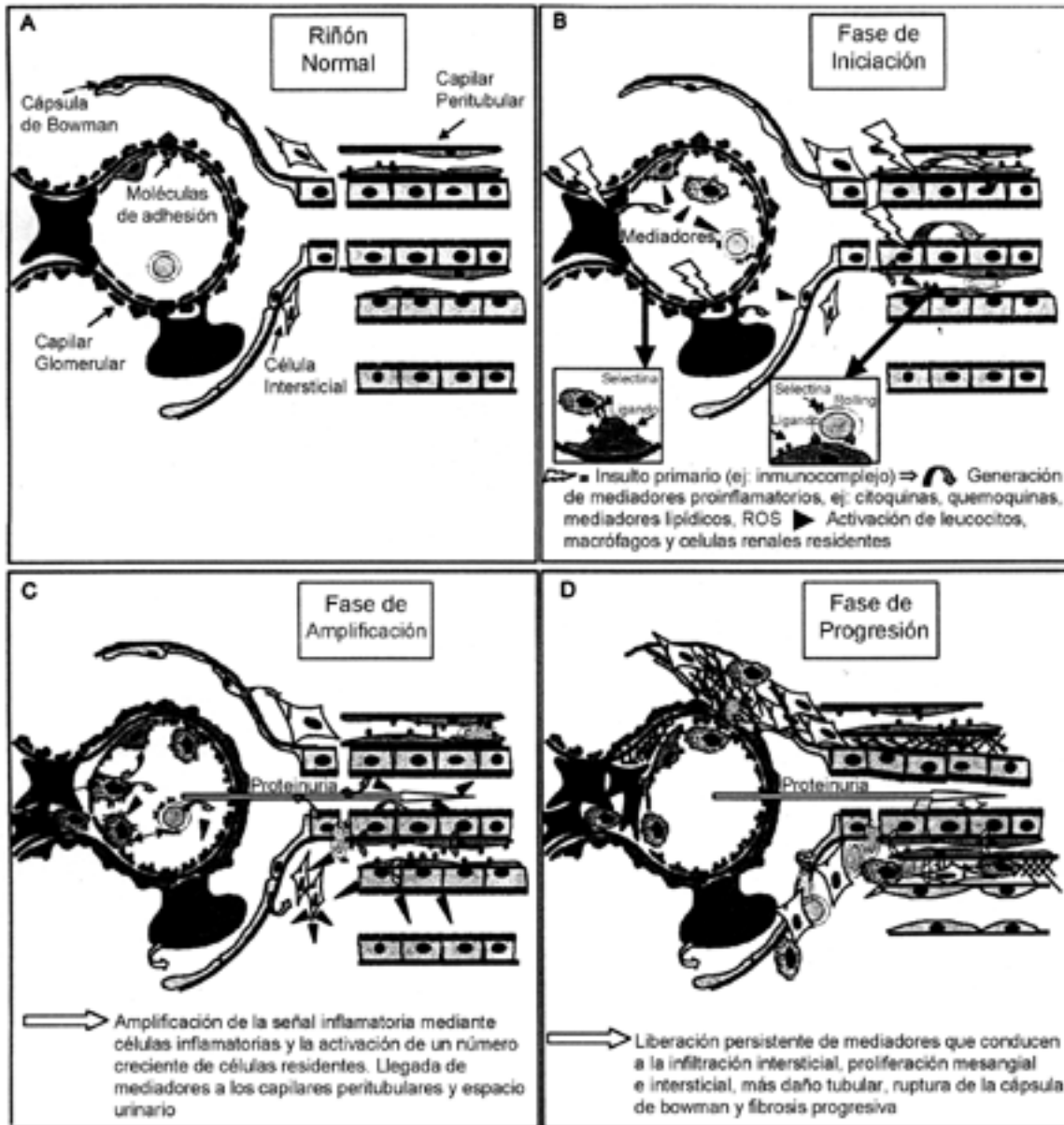


Figura 27. Modelo hipotético del papel de algunas quimiocinas durante la E.R.P. (A) Tejido normal, (B) Fase de iniciación, (C) Fase de amplificación, (D) Fase de progresión.

En complicidad con los mediadores proinflamatorios, esto podría llevar a una activación de las células tubulares e intersticiales provocando la producción de quimiocinas adicionales y la infiltración de células mononucleares. De forma similar, las células parietales de la cápsula de Bowman podrían llegar a activarse y así liberar citocinas al intersticio. Este evento podría explicar el infiltrado periglomerular acentuado que sucede en algunas enfermedades renales. El infiltrado periglomerular podría jugar un papel en la ruptura progresiva de la cápsula de Bowman, la cual abriría a su vez una vía de acceso para las células T, macrófagos, y fibroblastos para invadir el espacio urinario hasta dañar las células parietales y viscerales. Esto podría ser un punto de no-

retorno que contemplaría el tránsito del daño glomerular amplificado a una esclerosis irreversible (Fig 26D).¹⁹⁶

Por supuesto, la inflamación renal no siempre acaba con una lesión crónica. Los eventos iniciados durante la inflamación normalmente acaban en la resolución del proceso. Estudios recientes sugieren que algunas citocinas y sus receptores pueden colaborar en disminuir la modulación de la respuesta inflamatoria, hipótesis que está todavía bajo investigación.

1.4.2.4.3 Factor de transcripción NF- B

El factor de transcripción NF- B parece controlar en el control la expresión de los genes que codifican para quimocinas y otros genes que intervienen en la inflamación y respuesta inmune. Se ha observado la presencia de lugares de unión para NF- B en muchos promotores de genes, entre los cuales se encuentran: la molécula de adhesión vascular (VCAM-1), la molécula de adhesión intracelular (ICAM-1), quimocinas como la proteína quimioatrayente de monocitos (MCP1), la IP-10 y la IL-8, citocinas proinflamatorias como la IL-1, enzimas proinflamatorias como la sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS) y la fosfolipasa A2 (PLA2), etc. Por otro lado, estudios *in vivo* e *in vitro* indican el protagonismo del NF- B en la proliferación de las células musculares lisas.¹⁹⁷

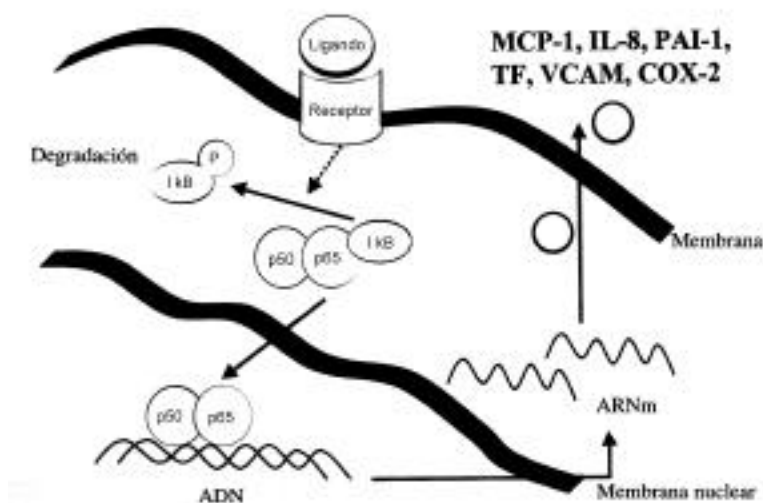


Figura 28. Esquema de activación del NF-κB

INTRODUCCIÓN

NF- κ B se identificó como regulador de la expresión del gen de la cadena ligera “kappa” en los linfocitos B murinos, pero se ha encontrado en muchos tipos de células. La forma activada del NF- κ B es un heterodímero, que generalmente se compone de dos proteínas, las subunidades p65 y p50. En células en reposo, el NF- κ B se encuentra en el citoplasma unido al I κ B, lo que le impide penetrar en el núcleo. Cuando estas células se estimulan, diversas quinasas específicas fosforilan al I κ B, produciendo su rápida degradación por proteosomas. La disociación entre el I κ B y el NF- κ B origina el paso del NF- κ B al núcleo, donde se une a secuencias específicas de las regiones promotoras de los genes diana. El I κ B - acoge la unión del NF- κ B, que es activado por el NF- κ B, incitando al aumento de la síntesis del I κ B y a intensificar la activación de NF- κ B¹⁹⁸.