

Revisión breve

Aspectos celulares y moleculares de la nefropatía diabética, rol del VEGF-A

Katherine Carranza^a, Dolores Veron^b, Alicia Cercado^c,
Noemi Bautista^c, Wilson Pozo^d, Alda Tufro^e, Delma Veron^c

^a Escuela de Medicina. Facultad de Ciencias Médicas. Universidad de Guayaquil. Guayaquil, Guayas (Ecuador)

^b Escuela de Trabajo Social. Facultad de Derecho y Ciencias Sociales. Universidad Nacional de Córdoba. Córdoba (Argentina)

^c Facultad de Ciencias de la Salud. Universidad Estatal de Milagro. Milagro, Guayas (Ecuador)

^d Facultad de Ciencias Naturales. Universidad de Guayaquil. Guayaquil, Guayas (Ecuador)

^e Department of Pediatrics. Yale University y School of Medicine. New Haven, Connecticut (USA)

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Palabras clave:

Nefropatía diabética
VEGF-A
Podocito
Endotelio
Receptores de VEGF
Óxido nítrico
Receptor de insulina
Diabetes mellitus
Sudamérica
Insulinorresistencia

RESUMEN

La prevalencia de diabetes mellitus aumentó en el último siglo y se estima que el 45% de los pacientes, no estarían diagnosticados. En Sudamérica la prevalencia de diabetes y de enfermedad renal crónica (ERC) incrementó, existiendo gran disparidad entre los países respecto al acceso a diálisis. En Ecuador es una de las principales causas de mortalidad, principalmente en las provincias ubicadas en la costa del océano Pacífico. La mayor causa aislada de ingreso a diálisis es la nefropatía diabética (ND). Aun utilizando las mejores opciones terapéuticas para la ND, el riesgo residual de proteinuria y de ERC terminal permanece elevado. En esta revisión describimos la importancia del problema en el mundo y en nuestra región. Analizamos estudios moleculares y celulares relevantes que indican la crucial importancia de eventos glomerulares en el desarrollo y en la evolución de la ND y en la insulinorresistencia. Incluimos conceptos anatómicos, fisiopatológicos y clínicos básicos, desarrollando especial énfasis en el rol de factores angiogénicos como el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF-A) y su relación con el receptor de insulina, la sintasa endotelial de óxido nítrico-óxido nítrico (eNOS) y las angiopoietinas. En el transcurso del texto proponemos diversas vías, que a nuestro entender tienen potencial terapéutico. Profundizar en el estudio del VEGF-A y las angiopoietinas, el estado de VEGF resistencia glomerular, la relación del receptor 2 de VEGF/nefrina, VEGF/receptores de insulina/nefrina, la relación VEGF/eNOS-ON a nivel glomerular podría aportar soluciones al acuciante problema de la ND en el mundo y generar nuevas alternativas de tratamiento.

© 2015 Sociedad Española de Nefrología. Publicado por ELSEVIER ESPAÑA, SLU. Publicado bajo los términos de la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0>).

* Autor para correspondencia.

Delma Veron, Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Estatal de Milagro, Ciudadela Universitaria. UNEMI. Kilómetro 1½, Vía Km 26, 091050, Milagro, Guayas, Ecuador. Tel: (593) 46038456.

Correos electrónicos: delveron@gmail.com; proyectond@hotmail.com

de ERC⁷⁻¹¹. La ERC afecta del 10% al 16% de adultos, constituyendo un serio problema mundial⁷⁻¹¹. En Sudamérica, la prevalencia de diabetes y de ERC en estadios terminales (ERCT) incrementó en las últimas décadas, existiendo gran disparidad entre los países respecto al acceso a diálisis⁹⁻¹¹. En Ecuador, la prevalencia de pacientes que recibieron tratamiento sustitutivo de la función renal fue de 406 personas por millón de habitantes, en el 2010¹¹. Por otra parte, los inhibidores del sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRA) constituyen la mejor opción terapéutica para la ND, pero el riesgo residual de ERCT permanece elevado y la asociación de estas drogas fue relacionada a hiperpotasemia e insuficiencia renal aguda^{12,13} (IRA). La búsqueda de nuevas alternativas terapéuticas es necesaria.

Los estudios poblacionales permiten tomar conciencia de la problemática, mientras que el conocimiento generado en laboratorios de investigación, ayuda a comprender la intimidad de los eventos biológicos que suceden en las personas. En esta revisión incluiremos conceptos anatómicos y fisiopatológicos, que revelan la crucial importancia de sucesos que ocurren a nivel glomerular. Además analizaremos el rol del factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF-A) y de sus relaciones con el óxido nítrico (ON), el receptor de insulina y las angiopoyetinas. Finalmente contemplaremos aspectos básicos y el análisis de estudios moleculares y celulares recientemente publicados.

Aspectos anatómicos y fisiopatológicos de la ND

En la diabetes hay alteraciones renales funcionales y estructurales que inducen proteinuria en magnitudes variables, desde microgramos a varios gramos por día^{7,8,13}. El riesgo de desarrollar ERCT está relacionado a la excreción urinaria de albumina, indicar tempranamente los inhibidores del SRA es importante por sus efectos beneficiosos renales y sistémicos^{7,8,13}. La ND se acompaña de excreción urinaria de albumina persistente o microalbuminuria, definida como la pérdida de albumina urinaria entre 20 y 199 µg/min o 30 a 299 mg/d, en dos ocasiones diferentes, y cuando el cociente albumina/creatinina es de 30-299 mg/g, en una muestra aislada de orina^{7,8}. En la diabetes tipo 1, se recomienda cuantificar anualmente la excreción urinaria de albumina, desde los 5 años del diagnóstico; en la diabetes tipo 2 dada la dificultad de precisar su inicio, es preferible medirla desde el momento del diagnóstico^{7,8}. La prevalencia de microalbuminuria, en pacientes con diabetes tipo 2, fue del 24,9% a los 10 años de seguimiento¹⁴, pero el 30% de personas con diabetes tipo 2 sin microalbuminuria desarrollaron ND. También es importante cuantificar el filtrado glomerular (FG), porque algunos pacientes solo deterioran la función renal sin presentar proteinuria^{7,8}. Considerando que el 85% de personas con diabetes son de tipo 2, son necesarios mejores biomarcadores^{7,8,13,14}.

Los factores de riesgo para desarrollar ND son hiperglucemia, hipertensión arterial (HTA), dislipidemia, edad superior a 65 años, género masculino, tabaquismo, antecedentes familiares y origen hispano o afroamericano^{7,8}. Fue reportada la agregación familiar en poblaciones con diferentes ancestros, especialmente en indios Pima y en afroamericanos¹⁵.

Mooyaart y col. encontraron 24 variantes genéticas asociadas a la ND¹⁶. También, fueron implicados los mecanismos epigenéticos^{8,17}. Por ejemplo, la hiperglucemia crónica, sin alterar la secuencia de nucleótidos, podría modificar el DNA o metilar histonas asociadas al DNA¹⁷. Sin embargo la relevancia de estos hallazgos en el desarrollo de la ND no ha sido determinada.

En la fisiopatología de la ND fueron implicados muchos factores como: la glucosa, los receptores de glucosa, el VEGF-A, el ON, las especies reactivas al oxígeno (ROS), el factor transformante de crecimiento beta (TGF-Beta), el SRA, calcitreína-cinina, el sistema blanco de rapamicina en mamíferos, la inflamación, el factor de necrosis tumoral alfa, la adiponectina, los productos de la glicosilación avanzada y sus receptores, el estrés oxidativo mitocondrial y los micro-RNA^{7,8,18-22}.

Desde el punto de vista anatomopatológico, la diabetes tipo 1 y 2 inducen lesiones renales comunes. Estas lesiones fueron caracterizadas en la diabetes tipo 1^{7,8,18,23-26}. En la tipo 2, el curso y la histología renal tienen particularidades, asociadas a comorbilidades como HTA, enfermedades vasculares, envejecimiento y obesidad^{7,8,23,24}. Después de 5 años del diagnóstico de diabetes, hay hiperfiltración, microalbuminuria, glomerulomegalia, engrosamiento de la membrana basal glomerular (MBG) y alteración de los podocitos²⁶. Posteriormente, la matriz extracelular (MEC) se deposita en el mesangio. Aproximadamente 10 años más tarde, la proteinuria y la HTA son evidentes, y progresivamente el FG se deteriora^{7,23,24,26}. En un período de 20 a 25 años, la esclerosis es avanzada, hay fibrosis túbulo intersticial y la ERC progresa a fases terminales^{7,24-26}.

Por su parte, los glomérulos, los túbulos, el intersticio y los vasos renales son modificados por el medio diabético. Los cambios glomerulares comprenden la barrera de filtración glomerular (BFG), la MEC y las principales células que lo componen (podocitos, células endoteliales y mesangiales)^{7,15,19-25}. Además impide el paso anormal de proteínas plasmáticas según el tamaño y la carga, y su alteración fue asociada a proteinuria^{7,18,19,20,25}. La BFG está formada por los podocitos, la MBG y el endotelio (fig. 2). Los podocitos son células epiteliales muy diferenciadas, con gran cuerpo celular, y prolongaciones primarias y secundarias conectadas por los diafragmas de filtración^{18,19,20} (DF). El DF es permeable al agua y a pequeños solutos, pero es selectivo al paso de grandes moléculas, constituyendo un factor clave en la permeabilidad de la BFG²⁵. Asimismo, está formado por un complejo de proteínas, donde la nefrina cumple un rol importante^{7,18-20}. Por el lado apical, los podocitos flotan en el espacio urinario, mientras que por el lado basolateral, contactan la MBG. Las proteínas del citoesqueleto de los podocitos se relacionan con proteínas de la MBG a través de integrinas y dextróglicos^{18,20,25}. La MBG está constituida principalmente por proteínas como colágeno tipo IV y lamininas^{18,25}. El endotelio fenestrado, cubierto por el glicocalix, es la capa más interna de la BFG^{7,18,21,25}. La diabetes altera las tres capas de la BFG. Entre los cambios tempranos, se describieron neoangiogénesis en el polo vascular glomerular y pérdida de las fenestraciones endoteliales^{7,15,22,23}. La MBG incrementa de espesor debido a alteraciones del recambio de proteínas^{7,18-20,25}. En los podocitos tempranamente se observa achatamiento, hiper-

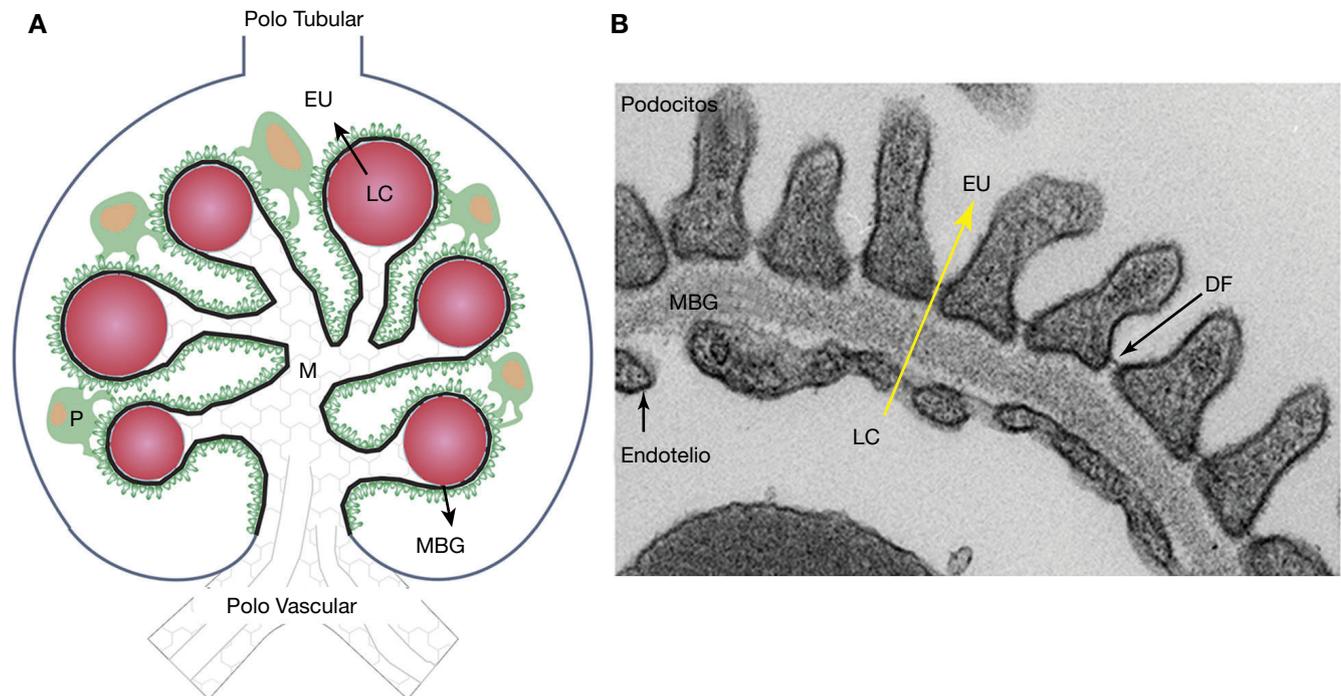


Figura 2 – La barrera de filtración glomerular. A: representación esquemática del glomérulo, la barrera filtración glomerular (BFG) formada por los podocitos (P), la membrana basal glomerular (MBG) y el endotelio. El ultrafiltrado del plasma atraviesa la BFG (flecha negra) para llegar al espacio urinario (EU). Los podocitos (verde) contactan varios capilares glomerulares (representados como círculos rojos) y el mesangio intraglomerular (M). La MBG (línea negra) envuelve los capilares y rodea al mesangio. El endotelio glomerular está simbolizado por una línea celeste entrecortada, ubicada entre la luz capilar (LC) y la MBG, el polo vascular en la parte inferior del glomérulo, el polo tubular en la parte superior. **B:** Ultraestructura de la BFG observada con un microscopio electrónico. Los podocitos, la MBG, el diafragma de filtración (DF) y el endotelio fenestrado. El ultrafiltrado del plasma atraviesa la BFG, flecha amarilla, desde la luz capilar (LC) al espacio urinario (EU).

trofia, despegamiento y apoptosis, mientras que tardíamente, se observa podocitopenia^{7,18-20}.

A continuación, analizaremos trabajos recientemente publicados que relacionan el VEGF-A a proteínas glomerulares involucradas en la fisiopatogenia de la ND humana y experimental. En el transcurso del texto señalaremos algunas vías que podrían ser utilizadas en la generación de nuevas herramientas terapéuticas (tabla 1).

Tabla 1 – Vías glomerulares con potencial terapéutico para la ND

Vías estimuladas	Vías inhibidas
TGF-Beta	eNOS
CTGF	Actividad de VEGFR2
VEGF-A	Nefrina
Angiopoyetina 2	Angiopoyetina 1

TGF-Beta: transforming growth factor; CTGF: connective tissue growth factor; VEGF-A: vascular endothelial growth factor; eNOS: endotelial nitric oxide synthase.

Rol del VEGF-A en la ND

El VEGF-A es un potente factor angiogénico relacionado a la angiogénesis normal y patológica. Promueve la proliferación, diferenciación y migración de células endoteliales; induce vasodilatación y aumenta la permeabilidad vascular^{18-20,27}. Cumple un rol importante durante el desarrollo renal, en el riñón adulto es secretado por los podocitos y es indispensable para el mantenimiento de la BFG¹⁵. Actúa a través de receptores tirosina-kinasa, conocidos como receptor 1 y 2 de VEGF^{18,27} (VEGFR1 y 2). El VEGFR2 es expresado en las células endoteliales y en los podocitos, fue relacionado a las señales más importantes del VEGF-A^{18,27}. Dos correceptores llamados neurofilinas 1 y 2 amplifican la señal del VEGFR2^{18,27}.

Existen evidencias que demuestran que la glucosa estimula directa e indirectamente la expresión de VEGF-A en podocitos, a través de la angiotensina II y del TGF-Beta¹⁸⁻²⁰. La glucosa juega un rol muy importante en la fisiopatogenia de la ND. El control de la hiperglucemia disminuye la progresión de la ND e induce reversión de la proteinuria y de lesiones histológicas

avanzadas²⁸⁻³². Cuando hubo mejor control de la glucemia mejoró la proteinuria, el FG y la HTA en pacientes con diabetes tipo 1, seguidos durante 30 años²⁸. Cuando hubo mayor control de la hiperglucemia, la MBG evidenció menor engrosamiento²⁹. Los cambios histológicos de ND avanzada, revirtieron después de 10 años de un trasplante de páncreas³⁰. Haraguchi y col. lograron revertir la proteinuria en rango nefrótico y las lesiones histológicas compatibles con ND avanzada, después de 5 años de intensivo tratamiento de la hiperglucemia³¹. El tratamiento con cirugías bariátricas practicado a pacientes con diabetes tipo 2 y obesidad, mejoró el FG y la proteinuria, relacionado a la disminución del peso y la hiperglucemia³².

La hiperglucemia incrementa la expresión de renina y de angiotensinógeno en las células mesangiales²⁰. Las células mesangiales y los podocitos sintetizan angiotensina II y expresan receptores de angiotensina^{19,20}. El aumento de angiotensina II estimula la expresión de TGF-Beta, VEGF-A, factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF), interleukina 6 y proteína quimiotáctica para monocitos-1 induciendo expansión de la MEC y apoptosis de los podocitos^{7,18-20}.

Adicionalmente la glucosa incrementa la expresión de TGF-Beta en células mesangiales y en podocitos¹⁹. El TGF-Beta activo induce engrosamiento de la MBG y glomeruloesclerosis a través de VEGF y CTGF; el aumento de VEGF-A inhibe la expresión de TGF-Beta, en un mecanismo de retroalimentación negativo¹⁸⁻²⁰. De manera opuesta en la diabetes el aumento de VEGF-A se asocia a TGF-Beta y CTGF incrementado; proliferación y acumulación de proteínas en la MEC glomerular¹⁸⁻²⁰. El TGF-Beta fue relacionado a la proliferación de células mesangiales, a la glomeruloesclerosis nodular y difusa como así también a la fibrosis¹⁸⁻²⁰. Ratones transgénicos con ausencia del receptor tipo 2 de TGF-Beta y la administración de anticuerpos anti TGF-Beta previnieron la acumulación mesangial y el deterioro de la función renal^{19,20}. Estos anticuerpos constituyen una esperanza terapéutica para la ND, pero aún no están disponibles para el uso humano¹⁹.

Modificaciones del VEGF-A glomerular en la ND

El VEGF-A sistémico y renal están incrementados desde estadios tempranos de la ND, en humanos y en roedores, y fue asociado a neoangiogénesis^{18,21,22}. El SRA, el VEGF-A y la nefrinuria fueron implicados en este proceso^{18-20,22,33-38}. Los podocitos y las células endoteliales en cultivo incrementaron la expresión de VEGF-A y de VEGFR2 en respuesta al aumento de glucosa³⁹⁻⁴¹.

Nosotros demostramos que el VEGF glomerular es determinante para el desarrollo y la evolución de la ND³³⁻³⁴. Ratones normoglucémicos con sobreexpresión de VEGF en los podocitos desarrollaron glomerulomegalia, hiperfiltración, engrosamiento de la MBG y lesión de los podocitos, cambios similares a la ND temprana³³. En estos ratones transgénicos, la diabetes provocó proteinuria masiva, glomeruloesclerosis nodular avanzada y menor expresión de nefrina³⁴. Los ratones diabéticos sin sobreexpresión de VEGF, solo exhibieron leve glomeruloesclerosis difusa³⁴. Estos experimentos demuestran que el aumento de VEGF glome-

ricular, independientemente del medio diabético, genera cambios idénticos a la ND temprana y que incrementar el VEGF glomerular acelera la evolución de la ND a estadios más avanzados. En ausencia de diabetes, el VEGF-A urinario fue un buen marcador de la expresión glomerular de VEGF y se correlacionó con la proteinuria³³. Contrariamente en la diabetes el VEGF-A no fue un buen marcador de la expresión glomerular ni de la gravedad de la ND. Los niveles urinarios y sistémicos de VEGF-A estuvieron elevados en ratones diabéticos con y sin sobreexpresión de VEGF glomerular³⁴. Probablemente en el contexto de diabetes la excreción urinaria de VEGF-A refleja los niveles sistémicos, ocultando los cambios glomerulares del VEGF³⁴. Resumiendo estos experimentos sugieren que el VEGF-A glomerular es determinante en la evolución de la ND, la sobreexpresión de VEGF en los podocitos es peligrosa y la glucosa en forma directa e indirecta estimula la cascada de señales de VEGF-A en los podocitos. En la diabetes el VEGF-A urinario y sistémico no se correlacionaron con la expresión glomerular de VEGF, ni con la severidad de las lesiones glomerulares, cuestionando al VEGF-A como biomarcador de ND.

Fue demostrado que la disminución glomerular de VEGF-A genera lesiones de la BFG, proteinuria e insuficiencia renal en animales y en humanos^{42,43}. Ratones transgénicos con silenciamiento de VEGF-A en los podocitos presentaron IRA, alteración de las tres capas de la BFG y disminución de la expresión de integrinas⁴³. Algunos pacientes tratados con anticuerpos anti VEGF-A presentaron proteinuria, lesiones endoteliales y microangiopatía trombótica⁴². Estas evidencias sugieren que el VEGF-A liberado por los podocitos es importante para el mantenimiento de la función y de la estructura glomerular en el riñón adulto. Si el control de la expresión glomerular de VEGF-A mejora la ND no fue definido, hay evidencias que muestran resultados contradictorios. La administración de anticuerpos anti-VEGF mejoró la ND en roedores⁴⁴. En experimentos con ratones, la endostatina y la tumstatina previnieron el desarrollo de ND debido a disminución de VEGF-A y de angiopoietina 2³⁶. En contraste ratones diabéticos con delección genética del VEGF-A en podocitos presentaron proteinuria y severa glomeruloesclerosis difusa, asociada a injuria endotelial y apoptosis⁴².

Las evidencias antes descritas sugieren que en la diabetes es necesario mantener niveles de VEGF-A glomerular muy controlados, para no sumar nuevas lesiones, ni empeorar la ND. Controlar la expresión de VEGF-A glomerular, en márgenes muy estrechos, podría tener potencial terapéutico pero cuáles son las concentraciones óptimas y cuál es el momento apropiado para realizar esta manipulación no fue definido.

Relaciones del VEGF-A con los receptores de insulina, nefrina y ROS en la ND

En la ND coexisten glomérulos con diferentes grados de lesión, la expresión de VEGF-A y de su cascada de señales fue relacionada a los cambios glomerulares³⁷. En biopsias de pacientes con ND se evidenció mayor expresión de VEGF en los glomérulos lesionados por la diabetes que en glomérulos indemnes³⁷. No obstante la expresión del receptor unido a

VEGF estuvo incrementada en glomérulos con lesiones leves, y disminuida en glomérulos con moderado o severo compromiso³⁷. Un comportamiento similar fue observado con la fosforilación de serina/treonina protein quinasa, proteína ubicada en la cascada de señales de VEGF, sugiriendo que otros factores modularían la actividad del VEGF/VEGFR³⁷.

Los podocitos expresan receptores de insulina cuya actividad depende de la expresión de nefrina^{45,46}. El receptor de insulina está ubicado en el DF, lugar donde los podocitos expresan nefrina y VEGFR2^{33,46}. Nosotros caracterizamos la interacción existente entre la nefrina y el VEGFR2¹⁵. La sobreexpresión de VEGF en los podocitos disminuyó la expresión y la fosforilación de la nefrina^{15,33}. Hale y col. reportaron que la insulina aumenta la producción de VEGF-A en podocitos humanos y de ratones⁴⁵. En ratones transgénicos, este aumento del VEGF-A fue perturbado por la insulinoresistencia, anticipando el desarrollo de lesiones en podocitos secundarias a la insulinoresistencia⁴⁵. En pacientes con insulinoresistencia, causada por diabetes y por otras enfermedades, fueron descritas alteraciones renales como hiperfiltración, proteinuria, modificaciones de la BFG y del mesangio^{47,48}. En conjunto estos hallazgos sugieren que el VEGF, la nefrina y el receptor de insulina podrían estar relacionados en la ND y en la insulinoresistencia, constituyendo vías glomerulares susceptibles de ser modificadas.

Por otra parte el estrés oxidativo, secundario a la hiperglucemia, puede modificar el glicocalix, incrementar ROS y los productos de glicosilación avanzada, alterando el endotelio. Adicionalmente la activación glomerular de protein quinasa C (PKC) fue asociada a expansión mesangial, engrosamiento de la MBG, disfunción endotelial, activación de citoquinas y de TGF-Beta^{7,18,21,40,41}. Mima y col. describieron que la hiperglucemia altera la fosforilación de nefrina en ratas diabéticas y en podocitos en cultivo expuestos a altas concentraciones de glucosa⁴⁹. La interrupción de la fosforilación de nefrina fue atribuida a un estado de "VEGF resistencia glomerular" relacionado a la activación de PKC⁴⁹. La cascada de señales del VEGF en podocitos y en células endoteliales fue inhibida selectivamente por la hiperglucemia⁴⁹. El aumento de la glucosa y la diabetes causarían mayor apoptosis de los podocitos y disfunción endotelial debido, en parte, a mayor activación de la protein quinasa activada por mitógeno (PKC δ /p38) y a la sobreexpresión de Src homology-2 domain-containing phosphatase-1 (SHP-1)⁴⁹. Adicionalmente SHP-1 regula negativamente al VEGFR2 y al receptor de insulina⁴⁹.

Warren y col. demostraron que en la diabetes la hiperglucemia disminuye la actividad del VEGFR2 endotelial⁴¹. La generación de ROS causada por la hiperglucemia, indujo activación del VEGFR2 y su posterior degradación, independientemente del VEGF-A⁴¹. Esto alteraría la normal respuesta de las células endoteliales al VEGF-A circulante, debido a menor disponibilidad del receptor. Bloqueando la producción de ROS con antioxidantes se revirtió la disponibilidad del VEGFR2 y la falta de respuesta endotelial al VEGF-A causada por la hiperglucemia⁴¹. Estos resultados sugieren que el aumento de VEGF-A presente desde estadios tempranos de la ND, podría ser secundario a una "VEGF-resistencia" del VEGFR2, causado por una mayor degradación del receptor en las células endoteliales.

En conjunto estos trabajos indican que en la ND la sobreexpresión de VEGF en podocitos podría estar estimulada de forma autocrina y paracrina por un estado de "VEGF-resistencia". Las conexiones del VEGF-A con el estrés oxidativo a nivel glomerular, podrían constituir vías con potencial terapéutico.

Relación entre las angiopietinas y el VEGF-A en la ND

Las angiopietinas, factores de crecimiento involucrados en la angiogénesis, fueron vinculadas a la ND^{18,36}. Los niveles plasmáticos de angiopietina 2 están elevados en humanos y en ratones diabéticos, alterando el cociente angiopietina-1/angiopietina-2. Los ratones diabéticos con menores niveles de angiopietina 1 presentaron angiogénesis aberrante, hiperfiltración, glomerulomegalia y albuminuria acompañados de sobreexpresión de VEGF-A y de VEGFR2 fosforilado. Las alteraciones causadas por la disminución de angiopietina 1, fueron parcialmente impedidas al restaurar su expresión en los podocitos de ratones transgénicos³⁶. Estos experimentos demuestran la importancia de las angiopietinas y su relación con el VEGF-A en la fisiopatología de la ND. La modificación de la expresión de proteínas a nivel glomerular, manipulando las células que las producen, constituye una alternativa terapéutica³⁶.

Relación entre el VEGF-A y el óxido nítrico en la ND

El VEGF-A estimula la producción de ON mediante la activación de la sintasa endotelial de ON^{18,35,50} (eNOS). Los efectos del VEGF-A en la vasodilatación y en el aumento de la permeabilidad vascular son mediados por el aumento de ON dependiente de eNOS^{18,27,35,50}. En condiciones normales el VEGF-A induce activación de eNOS y aumento de ON, este aumento regula negativamente al VEGF-A y al CTGF, inhibiendo la acumulación de MEC¹⁸. En la diabetes esta relación cambia, el aumento de VEGF-A coexiste con menor actividad de eNOS, hay desacoplamiento de VEGF-A y ON⁵⁰. En correspondencia con esta teoría ratones diabéticos con ausencia de eNOS desarrollaron aumento de la expresión de VEGF-A y severa ND⁵⁰. Nosotros demostramos que la sobreexpresión de VEGF en podocitos, asociada a ausencia de eNOS, indujo cambios indistinguibles a la ND avanzada³⁵. En ausencia de diabetes, estos ratones transgénicos, desarrollaron proteinuria, insuficiencia renal y glomerulosclerosis nodular³⁵. Estas evidencias sugieren que las alteraciones de la relación VEGF-A/eNOS-ON glomerulares son críticas y muy peligrosas, destacando a estos eventos y a su relación con el VEGF-A como blancos de tratamiento a nivel glomerular.

La deficiencia de ON endotelial secundaria a la actividad de eNOS disminuida, podría también relacionar los mecanismos de insulinoresistencia a la disfunción endotelial^{47,48}. Las células endoteliales expresan receptores de insulina. Estos receptores, mediante la activación de eNOS, controlan el tono vascular induciendo vasodilatación. Por ejemplo en pacientes con diabetes hay alteraciones de la activación de eNOS, relacionando el ON a la insulinoresistencia endotelial⁴⁷⁻⁴⁹. Estos hallazgos sugieren que el VEGF-A y la relación eNOS/ON glo-

merular podrían estar implicados en los estados de insulino-resistencia asociados a prediabetes, diabetes y ERC.

Conclusiones

Los estudios poblacionales revelan una creciente prevalencia mundial de diabetes tipo 2, lo que hace prever que la ND será un problema aún mayor. Buscar alternativas para el diagnóstico, prevención y tratamiento de la ND es perentorio. Profundizar en el estudio de vías moleculares con potencial terapéutico como los factores angiogénicos, el estado de VEGF resistencia glomerular, la insulinoresistencia en podocitos, la relación del VEGFR2/nefrina, VEGF/receptores de insulina/nefrina, la relación VEGF/eNOS-ON, podría aportar soluciones al acuciante problema de la ND en el mundo.

Conceptos claves

1. La prevalencia de diabetes mellitus y de ERC incrementó en las últimas décadas. La causa aislada más frecuente de ERC es la ND. Los factores relacionados al desarrollo de ND son: edad superior a 65 años, hiperglucemia no controlada, hipertensión arterial, dislipidemia, género masculino, hábito de fumar, antecedentes familiares y origen hispano o afroamericano.
2. La glucosa en forma directa e indirecta incrementa la expresión celular de VEGF-A. En la ND hay aumento sistémico y glomerular de VEGF-A, pero el VEGF-A glomerular y la relación VEGF-A/eNOS-ON glomerular son claves en la fisiopatogenia de la ND.
3. Las células endoteliales y los podocitos expresan receptores de insulina. La nefrina es indispensable para la acción del receptor de insulina en podocitos, su activación está relacionada al VEGF-A. El VEGFR2 y la nefrina interactúan en podocitos. El receptor de insulina, la nefrina y el receptor de VEGF-A podrían estar mecánicamente conectados en la ND y en la insulinoresistencia.
4. En la ND la sobreexpresión de VEGF en podocitos podría estar estimulada de forma autocrina y paracrina por un estado de "VEGF-resistencia" donde PKC y ROS estarían implicados. Las conexiones del VEGF-A con el estrés oxidativo a nivel glomerular, podrían constituir vías con potencial terapéutico para la ND.
5. Los factores angiogénicos como el VEGF-A y las angiopoietinas, el estado de VEGF resistencia, la insulinoresistencia en podocitos, la relación del VEGFR2/nefrina, VEGF-A/receptores de insulina/nefrina, la relación VEGF/eNOS-ON se constituyen en vías glomerulares de crucial importancia y podrían ser posibles blancos de tratamiento para la ND.

Financiación

Secretaría de Ciencia Tecnología e Innovación de Ecuador (Senescyt), Proyecto Prometeo. Universidad Estatal de Milagro (UNEMI-OCAS-SO-27092013-N.º 26 DV). Universidad de Guayaquil.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Agradecimientos

Maiten Fernández Verón, Facultad de Arquitectura, Diseño y Urbanismo, Universidad de Buenos Aires, Argentina por colaborar en el diseño de las figuras. Eco. Patricio Álvarez, UNEMI, por ayudar en los procesos de publicación y Gonzalo Fernández Verón, por la revisión del idioma.

BIBLIOGRAFÍA

1. Guariguata L, Whiting DR, Hambleton I, Beagley J, Linnenkamp U, Shaw JE. Global estimates of diabetes prevalence for 2013 and projections for 2035. *Diabetes Res Clin Pract.* 2014;103:137-49.
2. Aschner P, Aguilar-Salinas C, Aguirre L, Franco L, Gagliardino JJ, de Lapertosa SG, et al.; en representación del IDF Diabetes Atlas. Diabetes in South and Central America: An update for 2013 for the IDF Diabetes Atlas. *Diabetes Res Clin Pract.* 2013;103:238-43.
3. Soriguer F, Goday A, Bosch-Comas A, Bordiú E, Calle-Pascual A, Carmena R, et al. Prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose regulation in Spain: the Di@bet.es Study. *Diabetologia.* 2012;55:88-93.
4. Escobedo J, Buitrón LV, Velasco MF, Ramírez JC, Hernández R, Macchia A, et al.; CARMELA Study Investigators. High prevalence of diabetes and impaired fasting glucose in urban Latin America: the CARMELA Study. *Diabet Med.* 2009;26:864-71.
5. Castillo-Tandazo W, Flores-Fortty A, Feraud L, Tettamanti D. Spanish translation, cross-cultural adaptation, and validation of the Questionnaire for Diabetes-Related Foot Disease (Q-DFD). *Vasc Health Risk Manag.* 2013;9:501-8.
6. Neira-Mosquera JA, Pérez-Rodríguez F, Sánchez-Llaguno S, Moreno Rojas R. Study on the mortality in Ecuador related to dietary factors. *Nutr Hosp.* 2013;28:1732-40.
7. Gonzalez Suarez ML, Thomas DB, Barisoni L, Fornoni A. Diabetic nephropathy: Is it time yet for routine kidney biopsy? *World J Diabetes.* 2013;4:245-55.
8. Tuttle KR, Bakris GL, Bilous RW, Chiang JL, de Boer IH, Goldstein-Fuchs J, et al. Diabetic kidney disease: A report from an ADA Consensus Conference. *Diabetes Care.* 2014;37:2864-83.
9. Eggers PW. Has the incidence of end-stage renal disease in the USA and other countries stabilized? *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2011;20:241-45.
10. Lugon JR, Strogoff de Matos JP. Disparities in end-stage renal disease care in South America. *Clin Nephrol.* 2010;74:S66-71.
11. Rosa-Diez G, Gonzalez-Bedat M, Pecoits-Filho R, Marinovich S, Fernandez S, Lugon J, et al. Renal replacement therapy in Latin American end-stage renal disease. *Clin Kidney J.* 2014;7:431-6.
12. Fried LF, Emanuele N, Zhang JH, Brophy M, Conner TA, Duckworth W, et al. Combined angiotensin inhibition for the treatment of diabetic nephropathy. *N Engl J Med.* 2013;14;369:1892-903.
13. Roscioni SS, Heerspink HJ, de Zeeuw D. The effect of RAAS blockade on the progression of diabetic nephropathy. *Nat Rev Nephrol.* 2014;10:77-87.
14. Adler AI, Stevens RJ, Manley SE, Bilous RW, Cull CA, Holman RR; UKPDS Group. Development and progression of nephropathy

- in type 2 diabetes: the United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). *Kidney Int.* 2003;63:225-32.
15. Tufro A, Veron D. VEGF podocytes in diabetic nephropathy. *Semin Nephrol.* 2012;32:385-93.
 16. Mooyaart AL, Valk EJJ, van Es LA, Bruijn JA, de Heer E, Freedman BI, et al. Genetic associations in diabetic nephropathy: a meta-analysis. *Diabetologia.* 2011;54:544-53.
 17. Sapienza C, Lee J, Powell J, Erinle O, Yafai F, Reicher J, et al. DNA methylation profiling identifies epigenetic differences between diabetes patients with ESRD and diabetes patients without nephropathy. *Epigenetics.* 2011;6:20-8.
 18. Palmer ND, Freedman BI. Insights into the genetic architecture of diabetic nephropathy. *Curr Diab Rep.* 2012;12:423-31.
 19. Diamond-Stanic MK, You YH, Sharma K. Sugar, sex, and TGF- β in diabetic nephropathy. *Semin Nephrol.* 2012;32:261-8.
 20. Campbell KN, Raij L, Mundel P. Role of angiotensin II in the development of nephropathy and podocytopathy of diabetes. *Curr Diabetes Rev.* 2011;7:3-50.
 21. Rask-Madsen C, King GL. Vascular complications of diabetes: mechanisms of injury and protective factors. *Cell Metab.* 2013; 17:20-33.
 22. Kanasaki Y, Suzuki D, Uehara G, Toyoda M, Katoh T, Sakai H, et al. Vascular endothelial growth factor gene expression is correlated with glomerular neovascularization in human diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis.* 2005;45:288-94.
 23. Ruggenenti P, Gambarà V, Perna A, Bertani T, Remuzzi G. The nephropathy of non-insulin-dependent diabetes: predictors of outcome relative to diverse patterns of renal injury. *J Am Soc Nephrol.* 1998;9:2336-43.
 24. Ekinici EI, Jerums G, Skene A, Crammer P, Power D, Cheong KY, et al. Renal structure in normoalbuminuric and albuminuric patients with type 2 diabetes and impaired renal function. *Diabetes Care.* 2013;36:3620-6.
 25. Haraldsson B, Nystrom J, Deen WM. Properties of the glomerular barrier and mechanisms of proteinuria. *Physiol. Rev.* 2008;88:451-87.
 26. Mogensen CE, Christensen CK. Predicting diabetic nephropathy in insulin-dependent patients. *N Engl J Med.* 1984;311:89-93.
 27. Alvarez-Arroyo MV, Yagüe S, González-Pacheco FR, Castilla MA, Suzuki Y, Jiménez S, et al. Role of VEGF in the cellular response to injury. *Nefrologia.* 2003;23 Suppl 3:54-7.
 28. De Boer IH; DCCT/EDIC Research Group. Kidney disease and related findings in the diabetes control and complications trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study. *Diabetes Care.* 2014;37:24-30.
 29. Bangstad HJ, Osterby R, Dahl-Jørgensen K, Berg KJ, Hartmann A, Hanssen KF. Improvement of blood glucose control in IDDM patients retards the progression of morphological changes in early diabetic nephropathy. *Diabetologia.* 1994;37:483-90.
 30. Fioretto P, Mauer SM, Bilous RW, Goetz FC, Sutherland DE, Steffes MW. Effects of pancreas transplantation on glomerular structure in insulin-dependent diabetic patients with their own kidneys. *Lancet.* 1993;342:1193-6.
 31. Haraguchi K, Hara S, Ubara Y, Tanaka S, Nukui I, Shimura H, et al. Complete remission of diabetic nephropathy in a type 1 diabetic patient with near-nephrotic range proteinuria and reduced renal function. *Diabetes Res Clin Pract.* 2009;83:295-9.
 32. Iaconelli A, Panunzi S, De Gaetano A, Manco M, Guidone C, Leccesi L, et al. Effects of bilio-pancreatic diversion on diabetic complications: a 10-year follow-up. *Diabetes Care.* 2011;34:561-67.
 33. Veron D, Reidy KJ, Bertuccio C, Teichman J, Villegas G, Jimenez J, et al. Overexpression of VEGF-A in podocytes of adult mice causes glomerular disease. *Kidney Int.* 2010;77:989-99.
 34. Veron D, Bertuccio CA, Marlier A, Reidy K, Garcia AM, Jimenez J, et al. Podocyte vascular endothelial growth factor (Vegf₁₆₄) overexpression causes severe nodular glomerulosclerosis in a mouse model of type 1 diabetes. *Diabetologia.* 2011; 54:1227-41.
 35. Veron D, Aggarwal PK, Velazquez H, Kashgarian M, Moeckel G, Tufro A. Podocyte-specific VEGF-A gain of function induces nodular glomerulosclerosis in eNOS null mice. *J Am Soc Nephrol.* 2014;25:1814-24.
 36. Dessapt-Baradez C, Woolf AS, White KE, Pan J, Huang JL, Hayward AA, et al. Targeted glomerular angiopoietin-1 therapy for early diabetic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2014;25:33-42.
 37. Hohenstein BL, Hausknecht B, Boehmer K, Riess R, Brekken RA, Hugo CP. Local VEGF activity but not VEGF expression is tightly regulated during diabetic nephropathy in man. *Kidney Int.* 2006;69:1654-61.
 38. Patari A, Forsblom C, Havana M, Taipale H, Groop PH, Holthöfer H. Nephropathy in diabetic nephropathy of type 1 diabetes. *Diabetes.* 2003;52:2969-74.
 39. Hoshi S, Nomoto K, Kuromitsu J, Tomari S, Nagata M. High glucose induced VEGF expression via PKC and ERK in glomerular podocytes. *Biochem Biophys Res Commun.* 2002; 290:177-8.
 40. Wen D, Huang X, Zhang M, Zhang L, Chen J, Gu Y, et al. Resveratrol attenuates diabetic nephropathy via modulating angiogenesis. *PLoS One.* 2013;8:e82336.
 41. Warren CM, Ziyad S, Briot A, Der A, Iruela-Arispe ML. A Ligand-Independent VEGFR2 signaling pathway limits angiogenic responses in diabetes. *Sci Signal.* 2014;7:ra1.
 42. Sivaskandarajah GA, Jeansson M, Maezawa Y, Eremina V, Baelde HJ, Quaggin SE. Vegfa protects the glomerular microvasculature in diabetes. *Diabetes.* 2012;61:2958-66.
 43. Veron D, Villegas G, Aggarwal P, Bertuccio C, Velazquez H, Moeckel G, et al. Acute podocyte VEGF-A knockdown disrupts α 5 β 3 integrin signaling in the glomerulus. *J Am Soc Nephrol.* 2011;22:29A.
 44. Schrijvers BF, Flyvbjerg A, Tilton RG, Lameire NH, De Vriese AS. A neutralizing VEGF antibody prevents glomerular hypertrophy in a model of obese type 2 diabetes, the Zucker diabetic fatty rat. *Nephrol Dial Transplant.* 2006;21:324-9.
 45. Hale LJ, Hurcombe J, Lay A, Santamaría B, Valverde AM, Saleem MA, et al. Insulin directly stimulates VEGF-A production in the glomerular podocyte. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2013; 305:182-8.
 46. Coward RJ, Welsh GI, Koziell A, Hussain S, Lennon R, Ni L, et al. Nephin is critical for the action of insulin on human glomerular podocytes. *Diabetes.* 2007;56:1127-35.
 47. De Cosmo S, Menzaghi C, Prudente S, Trischitta V. Role of insulin resistance in kidney dysfunction: insights into the mechanism and epidemiological evidence. *Nephrol Dial Transplant.* 2013;28:29-36.
 48. Kobayashi S, Maesato K, Moriya H, Ohtake T, Ikeda T. Insulin resistance in patients with chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis.* 2005;45:275-80.
 49. Mima A, Kitada M, Geraldine P, Li Q, Matsumoto M, Mizutani K, et al. Glomerular VEGF resistance induced by PKC α /SHP-1 activation and contribution to diabetic nephropathy. *FASEB J.* 2012;26:2963-74.
 50. Nakagawa T, Sato W, Glushakova O, Heinig M, Clarke T, Campbell-Thompson M, et al. Diabetic endothelial nitric oxide synthase knockout mice develop advanced diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18:539-50.