



La transición de células epiteliales a miofibroblastos. Mecanismos involucrados y su posible relación con la fibrosis renal

N. G. Docherty¹, A. I. Morales², J. M. López Novoa² y F. Pérez Barriocanal^{1,2}

¹Conway Institute of Biomolecular and Biomedical Sciences. Univ. College Dublin. Belfield. Dublin 4. Republic of Ireland.

²Instituto Reina Sofía de Investigación Nefrológica. Departamento de Fisiología y Farmacología. Edificio Departamental. Campus Miguel de Unamuno. Salamanca. España.

INTRODUCCIÓN

En los últimos años se ha originado una gran discusión dentro de la comunidad nefrológica con relación al origen de las células productoras de matriz en el riñón. Existen varias posibilidades: por la activación de los fibroblastos intersticiales, por la migración de células hematopoyéticas o mesenquimales de la médula ósea, o por la transición de células tubulares epiteliales a mesenquimales¹.

La progresión de la enfermedad renal crónica se considera un proceso irreversible que finaliza con una insuficiencia renal funcional caracterizada por una fibrosis renal generalizada². Tradicionalmente se ha pensado que este proceso fibrótico tenía su origen exclusivamente en la activación de fibroblastos locales. Sin embargo, en los últimos años, se ha abierto un nuevo campo de investigación basado en la posibilidad de que una parte de las células productoras de fibra provienen del túbulo renal. Hay evidencias que sugieren que las células epiteliales de los túbulos renales pueden desarrollar una transición de células epiteliales a mesenquimatosas (Epithelial to Mesenchymal Transition, EMT), para transformarse en miofibroblastos productores de matriz en condiciones patológicas³. Esta conversión fenotípica implica una notable plasticidad en las células epiteliales del riñón diferenciadas, y también un papel para la EMT en un amplio rango de enfermedades renales crónicas^{4,5}. Cada vez hay más evidencias que sugieren que más de un tercio de todas las enfermedades relacionadas con los fibroblastos se originan en el epitelio tubular en el lugar de la lesión⁶. La contribución relativa de estos elementos celulares puede variar de

acuerdo con el modelo de enfermedad renal progresiva aplicado. Y lo que es incluso más interesante, esta contribución puede tener implicaciones terapéuticas. Sin embargo, hay que tener en cuenta que la mayoría de estos datos se han generado en modelos animales y que queda por determinar su importancia en la fibrogénesis renal en humanos.

TERMINOLOGÍA

Se han utilizado varias acepciones para definir el paso de células epiteliales a células mesenquimales o miofibroblastos, aunque el significado de algunas de ellas es diferente. Así, el término «transformación» describe clásicamente la conversión oncogénica del epitelio. El término «diferenciación» se utiliza para describir la inducción de las células de la médula ósea para formar células somáticas. La «transdiferenciación» se refiere al cambio de células diferenciadas en otras células menos diferenciadas y, por último, «transición» es una variante de la transdiferenciación y un mecanismo descrito para la dispersión de células en embriones de vertebrados, y ahora implicado en la formación de fibroblastos en tejidos lesionados y en la metástasis de epitelios cancerígenos⁶. Este último término es que utilizaremos en nuestra revisión.

Igualmente se utilizan los términos mesenquimales^{4,6-10} o miofibroblastos³ para denominar a las células que proceden de una EMT.

Las células epiteliales tubulares y los miofibroblastos intersticiales son muy diferentes en su morfología y en su fenotipo y están ubicados en distintos compartimentos dentro de los riñones. Por ello, hay que pensar que el paso de unos tipos celulares a otros, implica unas alteraciones notables en la expresión de algunos grupos de genes, para hacer posible esta conversión fenotípica. En general, los procesos que ocurren son: una pérdida de la adhesión celular, pérdida de la polaridad de estas células, una reorganización de la actina con el incremento de la alfa actina

Correspondencia: Dr. Fernando Pérez Barriocanal
Departamento de Fisiología y Farmacología
Edificio Departamental
Campus Miguel de Unamuno
37007 Salamanca (España)
E-mail: fpbarrio@usal.es

del músculo liso (α -SMA), la destrucción de la membrana basal y un aumento de la migración y por lo tanto de capacidad de invasión de estas células (fig. 1), que al final son las encargadas de sintetizar tejido fibrótico en grandes cantidades³.

FACTORES DE CRECIMIENTO Y MODELOS *IN VITRO* DE EMT

Hasta ahora, son varios los modelos utilizados para la inducción de la EMT *in vitro* y en cada modelo las vías de activación son distintas lo que sugiere que hay muchos mecanismos implicados. Algunos modelos utilizados se basan en maniobras experimentales que implican la estimulación de factores de crecimiento como son la hipoxia^{11,12}, el stretch mecánico¹³ y otros modelos utilizan directamente factores de crecimiento.

La expresión local de TGF- β 1, EGF, IGF-II o FG-2 facilita la EMT por la unión de receptores epiteliales con ligandos que inducen la actividad quinasa intrínseca¹⁴⁻¹⁷. El efecto del TGF- β 1 depende de la transducción de la integrina β ¹⁸, de la transcripción dependiente de Smad³¹⁹, o de la activación de p38MAP quinasa independiente de Smad y de la señalización mediada por GTPasas^{18,20}. Dependiendo del tejido, las tres isoformas del TGF- β 1 se pueden implicar secuencialmente²¹. Aunque se considera al TGF- β 1 el prototipo de la inducción de EMT^{15,22}, también hay un aumento de los receptores del EGF en el entorno de la EMT y puede participar completando la conversión¹⁵. El IGF-II también dirige la redistribución de β -cateninas desde la superficie celular al núcleo y facilita la degradación intracelular de E-cadherina¹⁶. Las combinaciones de citoquinas generalmente están presentes en la mayoría de las lesiones tisulares, por eso es difícil asignar prioridades o jerarquías entre ellas.

PÉRDIDA DE LA ADHESIÓN Y POLARIDAD CELULAR

Las uniones estrechas (Tight Junctions, TJ) forman un anillo que rodea a cada una de las células epiteliales, separando a la membrana plasmática en un dominio apical y otro basolateral. El anillo de una célula se une con los de las células adyacentes formando una lámina de células que constituyen una barrera entre el medio externo, el túbulo renal, y el medio interno regulado, el fluido intersticial²³. Como un separador entre la membrana plasmática apical y basolateral, las TJ marcan la distribución asimétrica de las proteínas y de las moléculas lipídicas entre estos dos dominios generando, por lo tanto, una polaridad entre los dos

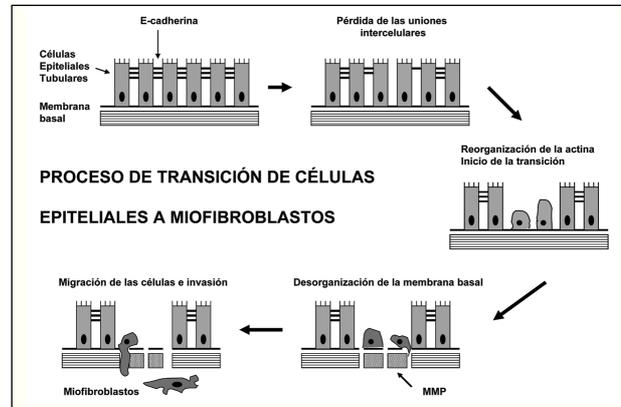


Fig. 1.—Esquema de los procesos implicados en la transición de las células epiteliales tubulares a miofibroblastos (modificado de Yang y Liu, Am J Pathol 159, 2001).

dominios de la membrana plasmática. El efecto neto es el establecimiento de una polaridad apico-basal que es la característica que define a todos los epitelios²⁴. Las proteínas de las TJ que regulan la polaridad epitelial también controlan la proliferación y la diferenciación celular²⁵ y cambios en su expresión y localización están implicados en la EMT²⁶. Estas proteínas son fundamentalmente la ocludina y las claudinas.

Situadas inmediatamente por debajo de las TJ están las uniones adherentes (Adherens Junction, AJ) que también tienen un anillo circunferencial que une las células. Ambos anillos de unión tienen una arquitectura molecular muy similar consistente en un esqueleto de proteínas de unión transmembranales unido a una plataforma de proteínas citoplasmáticas que están, a su vez, unidas al citoesqueleto de la actina (fig. 2). Las proteínas de unión de las AJ se denominan cadherinas y las proteínas de la placa citoplasmática se denominan α y β catenina, vinculina y α -actinina. Hay una continua discusión sobre el papel de las TJ en la disfunción renal, pero hay que destacar que las TJ están rodeadas de, y estabilizadas por, las AJ²⁷ y están estructural y funcionalmente interrelacionadas con las AJ. Por ejemplo, la generación y el mantenimiento de la polaridad de las células epiteliales se han considerado tradicionalmente funciones de las TJ aunque es probable que estén implicadas las dos²⁸.

Un paso temprano en la EMT epitelial es la alteración de los complejos de unión epiteliales y la pérdida de la polaridad celular²⁹. La EMT inducida por TGF- β 1 se asocia con una reducción en la expresión de E-cadherina (proteína de unión de la AJ)³. En una línea de células hepáticas de ratón, la EMT inducida por el oncogen Raf-1 se asocia con una desregulación de la expresión de la ocludina y de la claudina-2

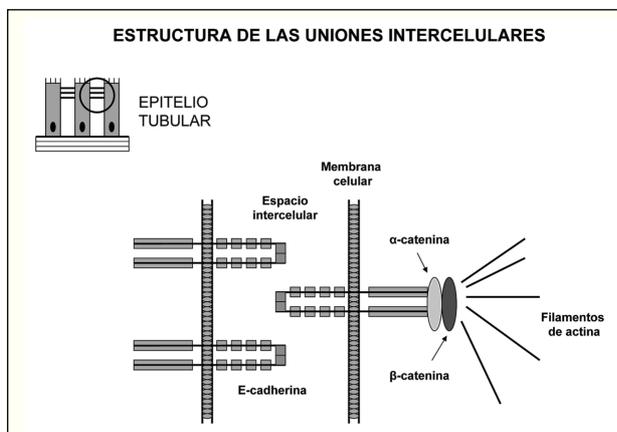


Fig. 2.—Estructura de las uniones adherentes.

tanto a nivel de la transcripción como de la traducción³⁰. El factor de transcripción Snail, que se asocia con la metástasis tumoral, se une a tres E-boxes en el gen promotor de la E-cadherina humana, bloqueando su transcripción³¹. También se une a los E-boxes de los promotores de los genes de las claudinas 3, 4 y 7 y de la ocludina, con la consecuente represión completa de su actividad promotora. Sin embargo, la transcripción de la claudina 1 no está afectada y su desregulación se atribuye a eventos post-transcripcionales³². Por lo tanto, la EMT inducida por Snail se asocia con la desregulación de las proteínas de las TJ y AJ a nivel transcripcional y post-transcripcional. Además, la superfamilia de las proteínas Snail evoluciona en dos ramas, una para dar Scratch y otra para dar Snail y Slug³³. Estas proteínas reconocen un lugar de unión E-box del promotor de la E-cadherina en competencia con la proteína básica helix-loop-helix SIP1. Ras/MAPK pueden activar Snail mientras TGF-β1 regula la vía dependiente de Smad para unir a SIP1 y Snail^{33,34}. Snail/SIP1 directamente reprimen a la transcripción de E-cadherina y activan la invasión de las células sobreexpresando genes de la familia de las metaloproteinasas (MMP)³⁵. La consecuencia de estos mecanismos es que la producción de proteínas como E-cadherina, citoqueratina y desmoplacina son reprimidas, mientras que la de alguna proteína específica de fibroblastos 1 (FSP1), fibronectina, vimentina y Rho son estimuladas^{19,33} al tiempo que favorecen el inicio de la degradación de la membrana basal.

La represión de E-cadherina aumenta la β-catenina citoplasmática que es co-importada al núcleo con el factor estimulador linfocitario (LEF) donde su activación se asocia con la EMT³⁶. La β-catenina parece ser un buen candidato para participar en la regulación dependiente de contacto de la EMT³⁷. La translocación

de la proteína de la zónula ocludens 1 (ZO-1) de la TJ de la membrana plasmática al citoplasma, implica disfunciones estructurales y funcionales de las TJ y AJ, probablemente a través de la activación de la vía de señalización de la β-catenina²⁶. La β-catenina, tiene una doble función. En células con uniones intercelulares intactas, es un componente integral de las uniones adherentes, sin embargo, cuando no hay contactos puede actuar como un activador de la transcripción uniéndose a miembros de la familia de factores de transcripción llamada TCF/LEF (T cell factor)³⁸. Se ha visto que el TGF-β1 aumenta la acumulación nuclear de β-catenina en las células tubulares^{37,39} y se ha descrito que la β-catenina interacciona con las proteínas SMAD^{40,41}.

Como hemos visto, son las TJ las que tienen el papel más importante en el inicio de la EMT^{42,43}. Un posible mecanismo que explicaría el proceso a partir de la unión de los factores de crecimiento sería el siguiente: el TGF-β1 señala por los receptores transmembrana TGF-β1 tipo I y tipo II (TGFβRI y TGFβRII respectivamente). La inducción de EMT por el TGF-β1 permite la unión de la ocludina y favorece el reclutamiento del TGFβRI a la TJ (fig. 3). Continúa con el reclutamiento adicional de TGFβRII al mismo complejo de unión⁴². Además de la ocludina, el TGFβRI también une directamente a la proteína «partitioning-defective» 6 (Par6)⁴³. La fosforilación de Par6, un regulador de la polaridad de las células epiteliales y del ensamblaje de las TJ, por el TGFβRII es necesaria para la EMT dependiente de TGF-β1. La Par6 fosforilada se une y redistribuye a Smurf1 en la TJ. Smurf1 es una ubiquitina E3 ligasa y media la ubiquitinación y la degradación de RhoA, que es un modulador importante del ensamblaje y de la estabilidad de las TJ. Estas ob-

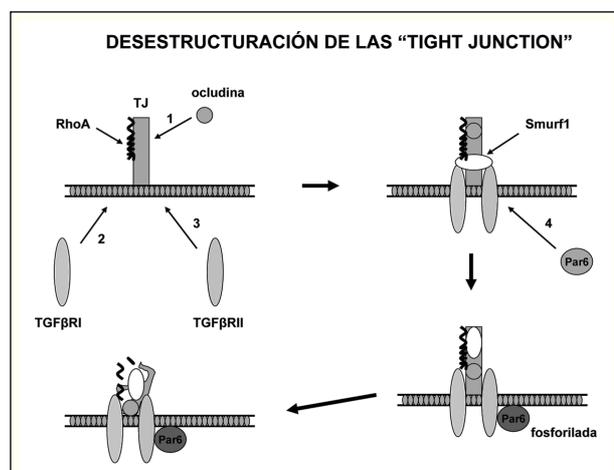


Fig. 3.—Esquema de los mecanismos de la pérdida de adherencia de las «tight junction» tras la unión del TGF-β a sus receptores específicos.

servaciones sugieren que el desensamblaje de las TJ es un primer paso en la EMT y está mediada por una serie de mecanismos que incluyen la fosforilación de Par6, el reclutamiento de Smurf1 a las TJ y la modulación de la degradación localizada de RhoA⁴³.

DESTRUCCIÓN DE LA MEMBRANA BASAL TUBULAR

Una vez que se ha producido la pérdida de la adhesión de las células epiteliales tubulares por los mecanismos descritos en el apartado anterior, se iniciaría el siguiente proceso que consiste en la desestructuración de la membrana basal tubular. Son las metaloproteinasas (MMP) o inhibidores del ensamblaje de la membrana, las que inician el proceso a nivel local⁴⁴. La MMP-2 actúa específicamente sobre el colágeno tipo IV y la laminina, que son las principales proteínas de la membrana basal⁴⁵. La expresión de MMP-2 y MMP-9 aumenta en presencia de FGF-2 y TGF- β 1¹⁷. Yang y Liu³ han visto que la inducción de la expresión de MMP-2 ocurre 48 horas después de la incubación *in vitro* con TGF- β 1 y tres días después de la obstrucción ureteral unilateral *in vivo*.

Las MMP también actúan a nivel de las E-cadherinas. La E-cadherina es convertida en cadherina soluble lo que favorece la invasión⁴⁶. La MMP-7 (matrilisina) rompe la E-cadherina y libera la β -catenina del complejo E-cadherina/catenina. La β -catenina libre puede activar la proteína de unión al DNA T-cell factor (Tcf), la cual acelera la proliferación celular y la expresión de matrilisina⁴⁷.

MIGRACIÓN E INVASIÓN DE LAS CÉLULAS

El siguiente paso en el proceso de la EMT es el desplazamiento de las células transformadas para penetrar en los compartimentos intersticiales. Para ello es esencial que adquieran la motilidad y la capacidad invasiva que les permita migrar al intersticio peritubular. La reorganización del citoesqueleto de la actina y la inducción de la α -SMA, le aportan unas características estructurales que definen la morfología de las células transformadas y que les permite migrar, invadir e incluso adquirir la capacidad de contraerse⁴⁸. Estas células transformadas son más móviles lo que les permite migrar a través de la membrana basal degradada⁴⁴. Además, los miofibroblastos, desde el punto de vista morfológico, son células intermedias entre los fibroblastos y las células del músculo liso^{49,50}. Como fibroblastos, producen componentes de la matriz intersticial tales como colágenos tipo I y III y fibronectina; y como células del músculo liso ex-

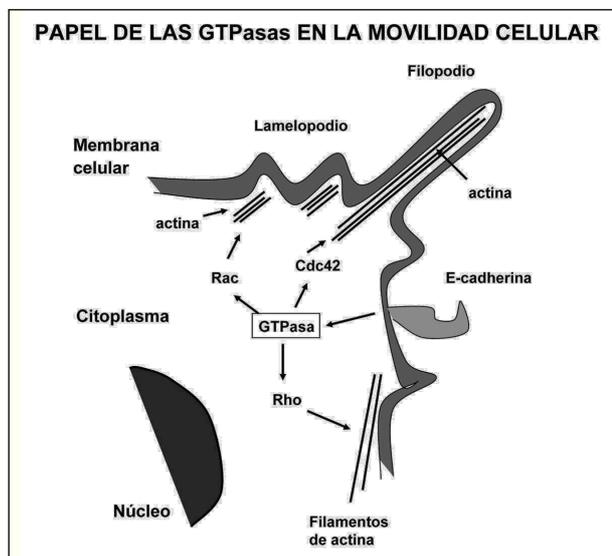


Fig. 4.—Las GTPasas son la unión señalizante entre la activación de los receptores de la superficie celular y el citoesqueleto de actina.

presan α -SMA y tienen la capacidad de contraerse^{51,52}. Esta posibilidad de tener contractilidad implica que la contracción podría ser otra propiedad que permitiera a las células transformadas dirigirse hacia el intersticio³.

Este proceso de conversión del epitelio depende de activaciones moleculares que están bajo el control de la superfamilia de Ras de las pequeñas GTPasas⁵³. Las familias Ras y Rho de pequeñas GTPasas son activadas por los factores de intercambio de los nucleótidos de guanina (Guanine exchange factors, GEFs) y desactivados por las proteínas activadoras GTPasas (o Guanine releasing factors, GRFs)⁵⁴. Las pequeñas GTPasas de la superfamilia Ras son la conexión señalizante entre la activación de los receptores de la superficie celular y el citoesqueleto de actina. Tres de las pequeñas GTPasas mejor estudiadas son Rho, Rac y Cdc42. Los cruces entre ellas sugieren que pueden ser activadas independientemente o en serie: Ras o Cdc42 pueden activar a Rac y Rac puede inhibir o activar Rho⁵⁵. Rho ayuda a reconfigurar las fibras de actina y estimula la contracción actina-miosina en las células; Rac induce el ensamblaje de la actina en las protrusiones de la superficie llamadas lamelopodios y Cdc42 promueve la formación de extensiones digitales ricas en actina llamadas filopodios y modula la asimetría celular⁵³ (fig. 4). Aparte de las propiedades celulares de contracción y migración, la proliferación y fagocitosis también están bajo el control de las GTPasas⁵⁶. Las acciones celulares de estas pequeñas GTPasas enlazan con las MAP kinasas, alteran la transcripción de genes y cambian el fenotipo celular durante la EMT.

PRODUCCIÓN DE MATRIZ EXTRACELULAR POR LOS MIOFIBROBLASTOS

La fibrosis tubulointersticial es el resultado de un desequilibrio entre la síntesis y la degradación de la matriz extracelular (MEC). La MEC tubular patológica está compuesta de colágeno I, III, IV, V, VII y XV y de laminina y fibronectina⁵⁷. La degradación de la MEC se cree que es dependiente del sistema del plasminógeno, en principio por la vía de la activación de las MMP latentes. La plasmina se genera de su precursor, el plasminógeno, por dos clases diferentes de activadores del plasminógeno: la uroquinasa y el de tipo tisular. La plasmina puede degradar directamente la fibronectina, la laminina⁵⁸, el proteoglicano⁵⁹ y el colágeno tipo IV⁶⁰ y activar la pro-MMP-1 (colagenasa intersticial)⁶¹ y la pro-MMP-3 (estromelisin-1)⁶². Posteriormente la MMP-3 activa a la MMP-9. En teoría, la actividad combinada de estas enzimas sería suficiente para degradar la MEC, pero se ha visto en ratones «knockout» para algunas de esas enzimas que pueden tener otras acciones.

Los miofibroblastos se caracterizan por tener unos filamentos de actina estrechos bajo la membrana plasmática⁶³. El retículo endoplásmico rugoso bien desarrollado refleja una tasa alta de síntesis de proteínas extracelulares de colágeno y de otro tipo⁶⁴. Los fibroblastos activados producen cantidades significativas de proteínas de la matriz, siendo la fibronectina la producida inicialmente. Esta glicoproteína adhesiva se cree que forma un núcleo para la deposición de otras proteínas y funciona como un quimioatractor para amplificar la respuesta fibrótica. Expresan algunos receptores de diferentes factores de crecimiento, integrinas, incluyendo las $\alpha 1$, $\alpha 4$, $\alpha 5$ y $\beta 1$ ⁶³, moléculas de adhesión celular y otros tipos de receptores de matriz tales como la discoidina. Por ello son susceptibles de una gran variedad de estímulos diferentes que al final se comunican con proteínas de la MEC tales como colágeno, fibronectina y proteoglicanos.

ESTUDIOS DE LA EMT EN LA ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA *IN VIVO*

¿Existe realmente la EMT durante la lesión tisular que provoca la fibrosis en los órganos? Hay un gran número de evidencias que asocian a la EMT con la enfermedad renal progresiva⁶⁵ pero la mayor parte de los estudios experimentales más rigurosos han sido realizados *in vitro*, y hay que tener en cuenta que el seguimiento del proceso *in vivo* es bastante más complicado que en los experimentos *in vitro*. Por ello mucha de la información existente en este sentido

está basada en estudios realizados en biopsias de pacientes con patologías renales⁶⁶.

Como modelo experimental de fibrosis renal en ratas también se ha usado la obstrucción ureteral unilateral que progresa rápidamente a una fibrosis tubulointersticial^{67,68}. En este modelo se ha observado la aparición de un gran número de miofibroblastos intersticiales, que derivan probablemente de células epiteliales por EMT aunque también pueden derivar de la activación de fibroblastos residentes. Otro de estos modelos es la administración crónica del inmunosupresor ciclosporina A (CsA), que a largo plazo provoca un fracaso renal irreversible con fibrosis tubulointersticial⁶⁹ caracterizada por una atrofia tubular, acumulación de matriz extracelular y estrechamiento de la membrana basal con la consiguiente pérdida de la función tubular. Uno de los mecanismos propuestos para el desarrollo de esta fibrosis es que la CsA induce un aumento de la expresión de TGF- β lo que facilitaría el desarrollo de la EMT⁷⁰.

En un modelo murino de ligadura unilateral del uréter se ha visto que la supresión de la expresión de E-cadherina no es un paso previo a las otras alteraciones³. Esta discrepancia entre los estudios *in vitro* e *in vivo* posiblemente se debe a la heterogeneidad en la población celular de los riñones lesionados. Esta heterogeneidad hace que la respuesta de las células tubulares *in vivo* sea más compleja y que la pérdida de la E-cadherina ocurra tan solo en un pequeño porcentaje de la población celular y por ello no pueda ser detectado en un homogenado renal. Sin embargo, cuando se tiñe la E-cadherina en áreas de epitelio renal se observa una disminución de la tinción lo que sugiere que la pérdida de adhesión puede ser también un primer paso en los modelos *in vivo*. Por lo tanto, es posible que *in vivo*, una vez que las células epiteliales tubulares han iniciado el proceso de EMT, estén programadas para inducir simultáneamente la supresión de E-cadherina, la expresión de α -SMA y la destrucción de la membrana basal tubular³.

Hay estudios que demuestran que la EMT, que ocurre durante la fibrosis renal, se correlaciona con la expresión de una proteína específica de fibroblastos (FSP1)^{15,71}. La FSP1 identifica a las células epiteliales que están experimentando la transición en las nefronas alteradas por una lesión intersticial y se correlaciona con el aumento en el número de fibroblastos que empeoran por la fibrosis¹⁵. Estas células epiteliales FSP1+ atraviesan la membrana basal tubular degradada y se acumulan en el intersticio del riñón⁷² donde pierden sus marcadores epiteliales y adquieren un fenotipo típico de fibroblastos^{15,73}.

En los riñones normales los fibroblastos no son particularmente abundantes. Cuando se inicia la fibrogenesis renal, alrededor del 36% de los fibroblastos

nuevos proceden de la EMT local, entre el 14-15% de la médula ósea y el resto de la proliferación local⁶⁵. Estos datos refuerzan la idea de que la fibrogénesis es un evento epitelial local.

¿Por qué son susceptibles de EMT las células del epitelio tubular? La lesión del riñón está asociada con algunas células inflamatorias que inducen EMT por medio de factores de crecimiento como el TGF- β 1, el EGF y el FGF-2¹⁷. Los receptores de TGF- β 1 de las células epiteliales tubulares se sobreexpresan rápida y específicamente en enfermedades renales⁷⁴ lo que sugiere que estas células son el blanco natural del TGF- β 1 en condiciones patológicas *in vivo*. Bajo la influencia de estos factores de crecimiento, los fibroblastos residentes y las células epiteliales tubulares inducen a las enzimas de degradación de la membrana basal, las MMP-2 y MMP-9⁴. La degradación de la membrana basal provoca la desorganización de los túbulos de las nefronas y las células epiteliales descamadas o bien caen al fluido tubular o migran hacia el intersticio bajo la influencia de gradientes crecientes de factores de crecimiento y de quimioatrayentes⁴⁴. Este reclutamiento inicial de las células epiteliales tubulares para la EMT se puede inhibir bloqueando la expresión de MMP-9 por medio de la retirada del activador tisular del plasminógeno (un activador de MMP-9)⁷⁵. Otros estudios han demostrado que HGF también puede disminuir los niveles de TGF- β 1, que media la pérdida de E-cadherina, y disminuye las cantidades de MMP-9 activo⁵.

La importancia del TGF- β 1 en la inducción de EMT para progresar a fibrosis renal se ha puesto de manifiesto en estudios con BMP-7, un competidor intracelular de la señalización del TGF- β 1^{19,76}. BMP-7 es el antagonista endógeno del TGF- β 1 en el riñón y en otros tejidos, y revierte el descenso de E-cadherina provocado por TGF- β 1¹⁹. La restauración de E-cadherina por BMP-7 esta mediada por sus receptores ALK3/6 y por Smad5. Esta capacidad de BMP-7 para revertir la EMT inducida por el TGF- β 1 en cultivo, se ha puesto de manifiesto también en modelos murinos de fibrosis renal. La administración sistémica de BMP-7 recombinante en ratones con fibrosis renal tras obstrucción ureteral provoca la reversión de la EMT y la reparación de las estructuras tubulares dañadas con células epiteliales tubulares sanas^{76,77}. Esta reversión está asociada con la recuperación de la función renal, un descenso significativo de FSP1 de los fibroblastos intersticiales y una activación «de novo» de la señalización de BMP-7¹⁹. La protección del daño renal por BMP-7 se ha visto también en modelos murinos de nefropatía diabética⁷⁸.

¿Todos estos datos tienen relevancia para los clínicos? Todavía no, pero la importancia se podrá ver muy pronto con la llegada de nuevas terapias antifibróticas.

Es evidente que la profundización en el conocimiento de los mecanismos implicados en el proceso de EMT puede tener una importancia trascendental como futuras vías para tratar de neutralizar tanto el inicio como el desarrollo de la fibrosis renal lo que supondría un extraordinario avance desde el punto de vista económico y social. Hay que tener en cuenta que muchos de los enfermos renales están sujetos a procesos rutinarios de diálisis y en muchos casos su única esperanza es el trasplante renal. Ambos tratamientos tienen un coste económico muy elevado y la calidad de vida de estos pacientes es manifiestamente mejorable.

AGRADECIMIENTOS

El Dr. Pérez Barriocanal es el receptor de una ayuda del Programa de Estancias de Profesores de Universidad y de Escuelas Universitarias Españolas en centros de enseñanza superior y de investigación extranjeros y españoles.

BIBLIOGRAFÍA

1. Strutz F, Müller GA: Renal fibrosis and the origin of the renal fibroblast. *Nephrol Dial Transplant* 21: 3368-3370, 2006.
2. Port FK, Fenton SSA, Mazzuchi N: ESRD throughout the world: morbidity, mortality and quality of life. *Kidney Int* 57: S1-S2, 2000.
3. Yang J, Liu Y: Dissection of key events in tubular epithelial to myofibroblast transition and its implications in renal interstitial fibrosis. *Am J Pathol* 159: 1465-1475, 2001.
4. Zeisberg M, Bonner G, Maeshima Y, Colorado P, Müller GA, Strutz F, Kalluri R: Renal fibrosis: collagen composition and assembly regulates epithelial-mesenchymal transdifferentiation. *Am J Pathol* 159: 1313-1321, 2001.
5. Yang J, Liu Y: Blockage of tubular epithelial to myofibroblast transition by hepatocyte growth factor prevents renal interstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol* 13: 96-107, 2002.
6. Kalluri R, Neilson EG: Epithelial-mesenchymal transition and its implications for fibrosis. *J Clin Invest* 112: 1776-1784, 2003.
7. Yamashita S, Maeshima A, Nojima Y: Involvement of renal progenitor tubular cells in epithelial-to-mesenchymal transition in fibrotic rat kidneys. *J Am Soc Nephrol* 16: 2044-2051, 2005.
8. Li Y, Yang J, Dai C, Wu C, Liu Y: Role for integrin-linked kinase in mediating tubular epithelial to mesenchymal transition and renal interstitial fibrogenesis. *J Clin Invest* 112: 503-516, 2003.
9. Rastaldi MP, Ferrario F, Giardino L, Dell'Antonio G, Grillo C, Grillo P, Strutz F, Müller GA, Colasanti G, D'Amico G: Epithelial-mesenchymal transition of tubular epithelial cells in human renal biopsies. *Kidney Int* 62: 137-146, 2002.
10. Thiery JP: Epithelial-mesenchymal transition in development and pathologies. *Curr Opin Cell Biol* 15: 740-746, 2003.
11. Falanga V, Qian SW, Danielpour M, Katz MHD, Roberts AB, Sporn MB: Hypoxia upregulates the synthesis of TGF β 1 by human dermal fibroblasts. *J Invest Dermatol* 97: 634-637, 1991.

TRANSICIÓN DE CÉLULAS EPITELIALES A FIBROMIOBLASTOS

12. Manotham K, Tanaka T, Matsumoto M, Ohse T, Inagi R, Miyata T, Kurokawa K, Fujita T, Ingelfinger JR, Nangaku M: Transdifferentiation of cultured tubular cells induced by hypoxia. *Kidney Int* 65: 871-880, 2004.
13. Sato M, Muragaki Y, Saika S, Roberts AB, Ooshima A: Targeted disruption of TGF-beta1/Smad3 signaling protects against renal tubulointerstitial fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction. *J Clin Invest* 112(10): 1486-1494, 2003.
14. Fan JM, Ng YY, Hill PA, Nikolic-Paterson DJ, Mu W, Atkins RC, Lan HY: Transforming growth factor-beta regulates tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation *in vitro*. *Kidney Int* 56: 1455-1467, 1999.
15. Okada H, Danoff TM, Kalluri R, Neilson EG: The early role of FSP1 in epithelial-mesenchymal transformation. *Am J Physiol* 273: 563-574, 1997.
16. Morali OG, Delmas V, Moore R, Jeanney C, Thiery JP, Larue L: IGF-II induces rapid beta-catenin relocation to the nucleus during epithelium to mesenchyme transition. *Oncogene* 20: 4942-4950, 2001.
17. Strutz F, Zeisberg M, Ziyadeh FN, Yang CQ, Kalluri R, Muller GA, Neilson EG: Role of basic fibroblast growth factor-2 in epithelial-mesenchymal transformation. *Kidney Int* 61: 1714-1728, 2002.
18. Bhowmick NA, Zent R, Ghiassi M, McDonnell M, Moses HL: Integrin beta 1 signaling is necessary for transforming growth factor-beta activation of p38MAPK and epithelial plasticity. *J Biol Chem* 276: 46707-46713, 2001.
19. Zeisberg M, Hanai J, Sugimoto H, Mammoto T, Charytan D, Strutz F, Kalluri R: BMP-7 counteracts TGF-beta 1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and reverses chronic renal injury. *Nat Med* 9: 964-968, 2003.
20. Yu L, Hebert MC, Zhang YE: TGF-beta receptor-activated p38 MAP kinase mediates Smad-independent TGF-beta responses. *EMBO J* 21: 3749-3759, 2002.
21. Boyer AS, Ayerinkas II, Vincent EB, McKinney LA, Weeks DL, Runyan RB: TGFbeta2 and TGFbeta3 have separate and sequential activities during epithelial-mesenchymal cell transformation in the embryonic heart. *Dev Biol* 208: 530-545, 1999.
22. Derynck R, Zhang YE: Smad-dependent and Smad-independent pathways in TGF-beta family signalling. *Nature* 425: 577-584, 2003.
23. Tsukita S, Furuse M, Itoh M: Multifunctional strands in tight junctions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2: 285-293, 2001.
24. Gibson MC, Perrimon N: Apical-basal polarization: epithelial form and function. *Curr Opin Cell Biol* 15: 747-752, 2003.
25. Bilder D: Epithelial polarity and proliferation control: links from the Drosophila neoplastic tumor suppressors. *Genes Dev* 18: 1909-1925, 2004.
26. Reichert M, Muller T, Hunziker W: The PDZ domains of zonula occludens-1 induce an epithelial to mesenchymal transition of Madin-Darby canine kidney I cells. Evidence for a role of beta-catenin/Tcf/Lef signalling. *J Biol Chem* 275: 9492-9500, 2000.
27. Pérez-Moreno M, Jamora C, Fuchs E: Sticky business: orchestrating cellular signals at adherens junction. *Cell* 112: 535-548, 2003.
28. Knust E: Regulation of epithelial cell shape and polarity by cell-cell adhesion. *Mol Membr Biol* 19: 113-120, 2002.
29. Lee DBN, Huang E, Ward HJ: Tight junction biology and kidney dysfunction. *Am J Physiol Renal Physiol* 290: F20-F34, 2006.
30. Lan M, Kojima T, Osanai M, Chiba H, Sawada N: Oncogenic Raf-1 regulates epithelial to mesenchymal transition via distinct signal transduction pathways in an immortalized mouse hepatic cell line. *Carcinogenesis* 25: 2385-2395, 2004.
31. Batlle E, Sancho E, Franci C, Dominguez D, Monfar M, Baulida J, García de Herreros A: The transcription factor snail is a repressor of E-cadherin gene expression in epithelial tumour cells. *Nat Cell Biol* 2: 84-89, 2000.
32. Ohkubo T, Ozawa M: The transcription factor Snail downregulates the tight junction components independently of E-cadherin downregulation. *J Cell Sci* 117: 1675-1685, 2004.
33. Nieto MA: The snail superfamily of zinc-finger transcription factors. *Nat Rev Mol Cell Biol* 3: 155-166, 2002.
34. Peinado H, Quintanilla M, Cano A: Transforming growth factor beta 1 induces snail transcription factor in epithelial cell lines. Mechanisms for epithelial-mesenchymal transitions. *J Biol Chem* 278: 21113-21123, 2003.
35. Miyoshi A, Kitajima Y, Sumi K, Sato K, Hagiwara A, Koga Y, Miyazaki K: Snail and SIP1 increase cancer invasion by upregulating MMP family in hepatocellular carcinoma cells. *Br J Cancer* 90: 1265-1273, 2004.
36. Kim K, Lu Z, Hay ED: Direct evidence for a role of beta-catenin/LEF-1 signaling pathway in induction of EMT. *Cell Biol Int* 26: 463-476, 2002.
37. Masszi A, Fan L, Rosivall L, McCulloch CA, Rotstein OD, Mucci I, Kapus A: Integrity of cell-cell contacts is a critical regulator of TGF-beta1-induced epithelial-to-myofibroblast transition. Role for beta-catenin. *Am J Pathol* 165: 1955-1967, 2004.
38. Behrens J, Von Kries JP, Kuhl M, Bruhn L, Wedlich D, Grosschedl R, Birchmeier W: Functional interaction of beta-catenin with the transcription factor LEF-1. *Nature* 382: 638-642, 1996.
39. Tian YC, Fraser D, Attisano L, Phillips AO: TGF-beta1-mediated alterations of renal proximal tubular epithelial cell phenotype. *Am J Physiol* 285: F130-F142, 2003.
40. Labbe E, Letamendia A, Attisano L: Association of Smads with lymphoid enhancer binding factor 1/T cell-specific factor mediates cooperative signaling by the transforming growth factor-beta and wnt pathways. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 8358-8363, 2000.
41. Tian YC, Phillips AO: Interaction between the transforming growth factor-beta type II receptor/Smad pathway and beta-catenin during transforming growth factor-beta1-mediated adherens junction disassembly. *Am J Pathol* 160: 1619-1628, 2002.
42. Barrios-Rodiles M, Brown KR, Ozdamar B, Bosé R, Liu Z, Donovan RS, Shinjo F, Liu Y, Dembowy J, Taylor IW, Luga V, Przulj N, Robinson M, Suzuki H, Hayashizaki Y, Jurisica I, Wrana JL: High-throughput mapping of a dynamic signalling network in mammalian cells. *Science* 307: 1621-1625, 2005.
43. Ozdamar B, Bosé R, Barrios-Rodiles M, Wang HR, Zhang Y, Wrana JL: Regulation of the polarity protein Par6 by TGF-beta receptors controls epithelial cell plasticity. *Science* 307: 1603-1609, 2005.
44. Zeisberg M, Maeshima Y, Mosterman B, Kalluri R: Renal fibrosis. Extracellular matrix microenvironment regulates migratory behavior of activated tubular epithelial cells. *Am J Pathol* 160: 2001-2008, 2002.
45. Lenz O, Elliot SJ, Stetler-Stevenson WG: Matrix metalloproteinases in renal development and disease. *J Am Soc Nephrol* 11: 574-581, 2000.
46. Li M, Yamamoto H, Adachi Y, Maruyama Y, Shinomura Y: Role of matrix metalloproteinase-7 (matrilysin) in human cancer invasion, apoptosis, growth, and angiogenesis. *Exp Biol Med* 231: 20-27, 2006.
47. Ichikawa Y, Ishikawa T, Momiyama N, Kamiyama M, Sakurada H, Matsuyama R, Hasegawa S, Chishima T, Hamaguchi Y, Fujii S, Saito S, Kubota K, Hasegawa S, Ike H, Oki S, Shimada H: Matrilysin (MMP-7) degrades VE-cadherin and accelerates accumulation of beta-catenin in the nucleus of human umbilical vein endothelial cells. *Oncol Rep* 15: 311-315, 2006.
48. Krizbai IA, Bauer H, Amberger A, Henning B, Szabo H, Fuchs R, Baue HC: Growth factor-induced morphological and molecular characteristics in cerebral endothelial cells. *Eur J Cell Biol* 79: 594-600, 2000.

49. Essawy M, Soylemezoglu O, Muchaneta-Kubara EC, Shortland J, Brown CB, El Nahas AM: Myofibroblasts and the progression of diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 12: 43-50, 1997.
50. Roberts IS, Burrows C, Shanks JH, Venning M, McWilliam LJ. Interstitial myofibroblasts: predictors of progression in membranous nephropathy. *J Clin Pathol* 50: 123-127, 1997.
51. Kropp BP, Zhang Y, Tomasek JJ, Cowan R, Furness PD, Vaughan MB, Parizi M, Cheng EY: Characterization of cultured bladder smooth muscle cells: assessment of *in vitro* contractility. *J Urol* 162: 1779-1784, 1999.
52. Powell DW, Mifflin RC, Valentich JD, Crowe SE, Saada JJ, West AB: Myofibroblasts. I. Paracrine cells important in health and disease. *Am J Physiol* 277: C1-C19, 1999.
53. Bar-Sagi D, Hall A: Ras and Rho GTPases: a family reunion. *Cell* 103: 227-238, 2000.
54. Bernards A: GAPs galore! A survey of putative Ras superfamily GTPase activating proteins in man and drosophila. *Biochim Biophys Acta* 1603: 47-82, 2003.
55. Sander EE, Ten Klooster JP, Van Delft S, Van der Kammen RA, Collard JG: Rac downregulates Rho activity: reciprocal balance between both GTPases determines cellular morphology and migratory behavior. *J Cell Biol* 147: 1009-1022, 1999.
56. Etienne-Manneville S, Hall A: Rho GTPases in cell biology. *Nature* 420: 629-635, 2002.
57. Eddy AA: Molecular basis of renal fibrosis. *Pediatr Nephrol* 15: 290-301, 2000.
58. Liotta LA, Goldfarb RH, Brundage R, Siegal GP, Terranova V, Garbisa S: Effect of plasminogen activator (urokinase), plasmin, and thrombin on glycoprotein and collagenous components of basement membrane. *Cancer Res* 41: 4629-4636, 1981.
59. Mochan E, Keler T: Plasmin degradation of cartilage proteoglycan. *Biochim Biophys Acta* 800: 312-315, 1984.
60. Mackay AR, Corbitt RH, Hartzler JL, Thorgeirsson UP: Basement membrane type IV collagen degradation: evidence for the involvement of a proteolytic cascade independent of metalloproteinases. *Cancer Res* 50: 5997-6001, 1990.
61. He CS, Wilhelm SM, Pentland AP, Marmor BL, Grant GA, Eisen AZ, Goldberg GI: Tissue cooperation in a proteolytic cascade activating human interstitial collagenase. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 2632-2636, 1989.
62. Nagase H, Engchild JJ, Suzuki K, Salvesen G: Stepwise activation mechanisms of the precursor of matrix metalloproteinase 3 (stromelysin) by proteinases and (4-aminophenyl) mercuric acetate. *Biochemistry* 29: 5783-5789, 1990.
63. Norman JT, Orphanides C, García P, Fine LG: Hypoxia-induced changes in extracellular matrix metabolism in renal cells. *Exp Nephrol* 7: 463-469, 1999.
64. Qi W, Twigg S, Chen X, Polhill TS, Poronnik P, Gilbert RE, Pollock CA: Integrated actions of transforming growth factor- β 1 and connective tissue growth factor in renal fibrosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 288: F800-F809, 2005.
65. Iwano M, Plieth D, Danoff TM, Xue C, Okada H, Neilson EG: Evidence that fibroblasts derive from epithelium during tissue fibrosis. *J Clin Invest* 110: 341-350, 2002.
66. Vongwivatana A, Tasanarong A, Rayner DC, Melk A, Halloran PF: Epithelial to mesenchymal transition during late deterioration of human kidney transplants: the role of tubular cells in fibrogenesis. *Am J Transplant* 5(6): 1367-1374, 2005.
67. Diamond JR, Ricardo SD, Klahr S: Mechanisms of interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. *Semin Nephrol* 18: 594-602, 1998.
68. Rodríguez-Peña A, Eleno N, Düwell A, Arévalo M, Pérez-Barriocanal F, Flores O, Docherty N, Bernabéu C, Letarte M, López-Novoa JM: Endoglin upregulation during experimental renal interstitial fibrosis in mice. *Hypertension* 40: 712-720, 2002.
69. Myers BD, Ross J, Newton L, Luetscher J, Perloth M: Cyclosporine-associated chronic nephropathy. *N Engl J Med* 311: 699-705, 1984.
70. Slattery C, Campbell E, McMorrow T, Ryan MP: Cyclosporine A-induced renal fibrosis: a role for epithelial-mesenchymal transition. *Am J Pathol* 167: 395-407, 2005.
71. Strutz F, Okada H, Lo CW, Danoff T, Carone RL, Tomaszewski JE, Neilson EG: Identification and characterization of fibroblast-specific protein 1 (FSP1). *J Cell Biol* 130: 393-405, 1995.
72. Okada H, Strutz F, Danoff TM, Kalluri R, Neilson EG: Possible mechanisms of renal fibrosis. *Contrib Nephrol* 118: 147-154, 1996.
73. Okada H, Ban S, Nagao S, Takahashi H, Suzuki H, Neilson EG: Progressive renal fibrosis in murine polycystic kidney disease: an immunohistochemical observation. *Kidney Int* 58: 587-597, 2000.
74. Sutaria PM, Ohebshalom M, McCaffrey TA, Vaughan Jr ED, Felsen D: Transforming growth factor- β receptor type I and II are expressed in renal tubules and are increased after chronic unilateral ureteral obstruction. *Life Sci* 62: 1965-1972, 1998.
75. Yang J, Shultz RW, Mars WM, Wegner RE, Li Y, Dai C, Nejak K, Liu Y: Disruption of tissue-type plasminogen activator gene in mice reduces renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. *J Clin Invest* 110: 1525-1538, 2002.
76. Zeisberg M, Bottiglio C, Kumar N, Maeshima Y, Strutz F, Muller GA, Kalluri R: Bone morphogenetic protein-7 inhibits progression of chronic renal fibrosis associated with two genetic mouse models. *Am J Physiol Renal Physiol* 285: F1060-F1067, 2003 A.
77. Morrissey J, Hruska K, Guo G, Wang S, Chen Q, Klahr S: Bone morphogenetic protein-7 improves renal fibrosis and accelerates the return of renal function. *J Am Soc Nephrol* 13(1): S14-S21, 2002.
78. Wang S, Chen Q, Simon TC, Strebeck F, Chaudhary L, Morrissey J, Liapis H, Klahr S, Hruska KA: Bone morphogenetic protein-7 (BMP-7), a novel therapy for diabetic nephropathy. *Kidney Int* 63: 2037-2049, 2003.