

FORMACION CONTINUADA

Factores de crecimiento en la nefropatía diabética

B. Gallego, J. M. López-Novoa y F. Pérez-Barriocanal

Instituto Reina Sofía de Investigación Nefrológica. Departamento de Fisiología y Farmacología. Universidad de Salamanca.

Una de las complicaciones más graves y frecuentes que sufren los pacientes diabéticos, a pesar del tratamiento con insulina, es la insuficiencia renal¹. La nefropatía diabética (ND) se caracteriza histológicamente por engrosamiento y alteración de los componentes de las membranas basales glomerular y tubular y por expansión mesangial, debido a un aumento de las proteínas de la matriz extracelular, lo que acaba produciendo glomeruloesclerosis (GSC) y fibrosis túbulo-intersticial.

Además, tienen lugar una serie de lesiones no glomerulares que afectan la función glomerular y tubular. Entre estas lesiones se encuentra la hialinosis exudativa que provocará 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 GSC y la fibrosis e inversamente con el nivel de función renal. También el porcentaje de riñón ocupado por intersticio se correlaciona inversamente con el grado de función renal. Existen dudas acerca de si la fibrosis intersticial es paralela a la glomerulopatía estructural o inductora de la misma, ya que ambas están íntimamente relacionadas².

Desde hace años, se sabe que, funcionalmente, la diabetes mellitus cursa con hiperfiltración, aumento del flujo plasmático renal (FPR) y nefromegalia³. Pasado el tiempo, puede evolucionar a nefropatía diabética establecida, que se caracteriza por proteinuria, hipertensión y disminución de la tasa de filtración glomerular (TFG). De este estado es muy probable la progresión a insuficiencia renal terminal⁴.

La patogénesis de las múltiples anomalías estructurales y funcionales de la ND sigue siendo materia de discusión y es probable que sea multifactorial (fig. 1),

implicando tanto desórdenes metabólicos básicos debidos a la hiperglucemia como desórdenes hemodinámicos y determinantes genéticos. La influencia de la hiperglucemia en el desarrollo de las lesiones diabéticas ha sido ampliamente demostrada, tanto en estudios *in vivo* como *in vitro*⁵⁻⁷. Además, la hiperglucemia puede actuar a través de mecanismos bioquímicos como son: la vía del poliol, con consecuencias bioquímicas relevantes para el desarrollo de la ND⁸; la glicosilación no enzimática de las proteínas, ya sea temprana o avanzada, que por interacción con otras proteínas pueden formar uniones cruzadas con importantes efectos estructurales y funcionales en las proteínas de la matriz y en las células del entorno^{9,10}; síntesis de diacilglicerol (DAG)¹¹, activación de la proteína quinasa C (PKC)¹², activación de la fosfolipasa A2¹³, síntesis aumentada de prostanoides¹⁴; formación de especies reactivas de oxígeno y la consiguiente modificación oxidativa de proteínas, lípidos^{15,16}. También está alterado el sistema renina an-

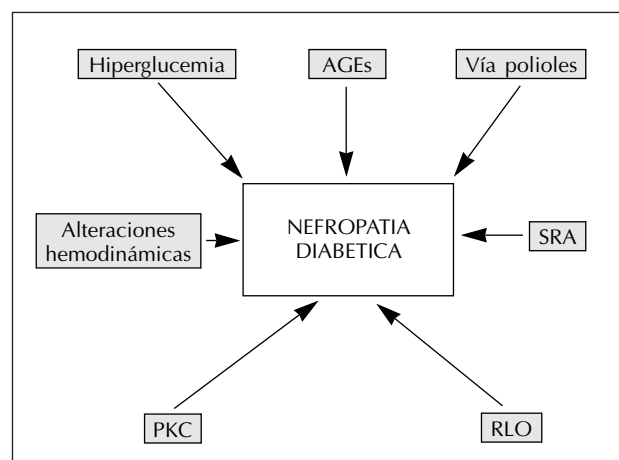


Fig. 1.—Desórdenes básicos que intervienen en la génesis de la nefropatía diabética. AGEs: productos de la glicosilación avanzada; PKC: proteína quinasa C; RLO: radicales libres de oxígeno; SRA: sistema renina angiotensina.

Correspondencia: Dr. F. Pérez Barriocanal.
Departamento de Fisiología y Farmacología.
Edificio Departamental.
Avda. Campo Charro, s/n.
37007 Salamanca.

giotensina (SRA)¹⁷ y la síntesis o liberación de citoquinas o factores de crecimiento (FC)¹⁸.

Todos estos factores no son excluyentes y, además, pueden influir unos en otros, de manera que prácticamente todos los mecanismos mencionados pueden ser estímulos para la síntesis de FC (fig. 2). Así, por ejemplo, los cambios hemodinámicos provocarán, debido al rozamiento y estiramiento de las células, la síntesis de factores como el factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) o el factor de crecimiento transformante β (TGF- β)^{19,20}. Aunque no directamente, la vía de los polioles también puede intervenir, ya que proporciona sustratos para la síntesis de DAG, que es un activador de la PKC²¹ y ésta es estímulo para el TGF- β o el factor de crecimiento fibroblástico básico (FGF-b)^{22,23}. La angiotensina II (Ang II) ejerce sus efectos tróficos a través del TGF- β ²⁴. Los procesos oxidativos se consideran como uno de los principales mecanismos de daño tisular en la diabetes⁸ y, como tales, provocan la síntesis de FC²⁵ como el factor de crecimiento epidérmico (EGF) o el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF-I). Los productos de la glicosilación avanzada (AGEs), a través de receptores específicos, actúan sobre distintas células como monocitos, macrófagos, fibroblastos, células endoteliales, mesangiales, sobre las que, además de ejercer efectos directos, provocan la síntesis de factores como factor de necrosis tumoral (TNF), interleuquina 1 (IL-1), IGF-I, PDGF o EGF²⁶⁻²⁸. La albuminuria, que siempre se ha considerado como un índice del daño renal (consecuencia), puede, a su vez, ser causa del mismo²⁹, ya que la célula tubular fagocita la albúmina y cambia su fenotipo, aumentando la produc-

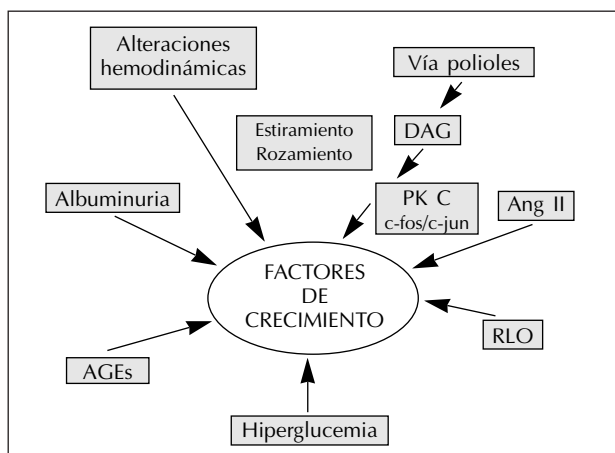


Fig. 2.—Relación de las anomalías que tienen lugar en la diabetes con la síntesis de factores de crecimiento. AGEs: productos de la glicosilación avanzada; Ang II: angiotensina II; DAG: diacilglicerol; PKC: proteína quinasa C; RLO: radicales libres de oxígeno.

ción de colágeno, la síntesis de FC como el PDGF y, además, produce factores quimiotácticos para macrófagos, que podrán producir más FC³⁰.

Además de todo lo descrito, en la diabetes, al igual que en otras patologías renales tiene lugar una activación autocrina o paracrina de las células del entorno intersticial, y todas ellas, a su vez, pueden modificar la respuesta de las demás a través de una complicada red de citoquinas o FC³¹. Dada la complejidad del tema, en esta revisión estudiaremos los factores de crecimiento más importantes que están implicados en la ND, teniendo en cuenta sus estímulos, sus acciones y los lugares en los que ejercen su efecto (tabla I).

IGF-I

El IGF-I es un péptido de 70 aminoácidos³². Se produce en el hígado dependiendo de factores como el nivel de hormona del crecimiento (GH) circulante, del estatus nutricional y del nivel de insulina. El IGF-I sintetizado en el hígado tiene una función endocrina, ya

Tabla I. Factores de crecimiento más importantes implicados en la nefropatía diabética.

Factor de crecimiento	Estímulo	Células productoras	Acciones
PDGF	Otros factores de crecimiento Hemodinámica RLO Albuminuria AGEs	Macrófagos Endoteliales Mesangiales	Proliferación celular Coagulación intravascular
FGF-b	Hemodinámica PK C	Endoteliales	Proliferativo (para fibroblastos y endoteliales) Angiogénico
IGF-I	AGEs Daño tubular tóxico	Macrófagos Linfocitos Fibroblastos Mesangiales Endoteliales Epiteliales	Proliferativo para mesangiales Síntesis de proteínas de la matriz
EGF	Daño tubular tóxico por AGEs o RLO PK C	Tubulares	Mitogénico para epiteliales Hipertrofia tubular Regenerador tubular (junto con IGF-I)
TGF- β	Hiperglucemia Ang II AGEs Estiramiento PK C	Macrófagos Linfocitos Fibroblastos Mesangiales Endoteliales Epiteliales	Síntesis de matriz Degradación Inhibe proliferación

AGEs: productos de la glicosilación avanzada; Ang II: angiotensina II; PKC: proteína quinasa C; RLO: radicales libres de oxígeno.

que está implicado en el crecimiento longitudinal del hueso. También hay una producción local de IGF-I, que no es dependiente de GH y tiene una función local específica, ya sea autocrina o paracrina³³.

Mediante estudios de inmunohistoquímica se ha visto que, en el riñón, se localiza en el tubo colector, la rama delgada del asa de Henle y el túbulo distal³⁴⁻³⁶ y mediante técnicas de hibridación *in situ* del ARNm se ha observado que es más abundante en los lugares mencionados, pero que también puede encontrarse en el túbulo proximal y en el glomérulo³⁷.

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 son: tubo colector (donde el ayuno y la restricción calórica inhiben su producción y factores de crecimiento como GH y EGF la estimulan), la rama ascendente gruesa medular del asa de Henle, túbulo proximal (en isquemia aguda) y en mesangiales de rata³³.

El receptor de IGF-I consta de dos subunidades α , extracelulares y dos subunidades β , con dominios transmembrana y tirosina quinasa en el citoplasma. Se distribuye ampliamente en el glomérulo (no se ha encontrado en glomérulos controles), en túbulo proximal, rama ascendente gruesa del asa de Henle y tubo colector. La unión específica a este receptor es mayor en la médula interna que en corteza o médula externa³⁸.

El IGF-I de la circulación está unido no covalentemente a proteínas de unión específica (IGFBP)³³. Estas proteínas pueden encontrarse circulantes de forma soluble, las cuales están asociadas con la inhibición de los efectos del IGF-I o asociadas a la superficie celular, que potenciarían las acciones del mismo. Tal variedad nos indica el papel tan complejo que deben jugar estas proteínas en la regulación *in vivo*. Entre las funciones que llevan a cabo las IGFBP podemos destacar que tienen un papel inactivador del IGF-I a través del secuestro, protegen al IGF-I de la degradación y por tanto aumentan su vida media (y si son de tejido «guardan» al IGF-I y aumentan su biodisponibilidad local), transportan a los IGFs fuera de la circulación, los liberan selectivamente en el sitio de acción. Algunas IGFBP pueden unirse a receptores de integrinas de la membrana de la superficie celular. En esta localización pueden servir para colocar al IGF-I cerca del receptor y así inhibir o aumentar el acceso del IGF-I a sus receptores o regular la potencia de traducción de la señal de IGF^{33,39}.

En la diabetes humana no se ha visto un patrón de descenso o aumento de IGF-I, pero sí se ha visto en ratas. Flyvbjerg⁴⁰ demostró un 77% de aumento del IGF-I renal, que fue máximo a las 48 horas después de la inducción y parece que precede al aumento de

tamaño renal. Los niveles decrecen hasta la normalidad a los cuatro días. También demostró que ese aumento de los niveles renales no se debe a una producción local sino a una recaptación del circulante. Por el contrario, Bach⁴¹ y Catanese⁴² han observado un aumento del ARNm. Además, los niveles hepáticos de ARNm de IGF-I se reducen en la diabetes, lo que indica que la expresión génica está claramente regulada de forma órgano-específica en la diabetes experimental. Estos resultados son difíciles de integrar, pero parece que la regulación de la expresión de IGF-I en el riñón está influida de forma muy compleja por la duración y la severidad de las anomalías metabólicas que acompañan al estado diabético³³. Recientemente se ha observado que el aumento de IGF-I en el riñón diabético a los dos días de la inducción de la diabetes es un fenómeno dependiente de GH y que hay una relación entre GH/IGF-I y el desarrollo de lesiones renales en la diabetes⁴³.

En la diabetes inducida por STZ, a los dos días se encuentran agrandamiento renal y cambios hemodinámicos, como un aumento de la TFG y del FPR, y esos mismos efectos se logran cuando se inyecta GH o IGF-I⁴⁴.

El mecanismo por el cual el IGF-I puede contribuir en el desarrollo de la patología diabética puede pensarse que es el siguiente: la acumulación renal de IGF-I, dependiente del nivel de glucosa en sangre, bien directamente, o bien a través de sistemas vasodilatadores como NO o eicosanoides^{45,46}, disminuye las resistencias vasculares renales y aumenta la función y el tamaño renal en el diabético. También el sistema calicreína-cinina puede estar involucrado, ya que los efectos hemodinámicos, reproducidos por infusión de IGF-I en ratas normales, pueden ser bloqueados por coinfusión de un antagonista de receptores de cininas⁴⁷. También la acumulación de IGF-I renal puede aumentar la actividad del intercambiador Na/H tubular y, este efecto en el túbulo renal podría conducir, secundariamente, a un aumento del FPR y de la TFG, a través de un mecanismo de retroalimentación túbulo-glomerular⁴⁸. Por otra parte, el IGF-I, al igual que la insulina, aumenta la síntesis de ADN en células mesangiales⁴⁹ y también aumenta la tasa de síntesis de componentes de la matriz extracelular como laminina, fibronectina y colágeno de tipo IV⁵⁰. Se ha comprobado, además, que apoya los efectos proliferativos de otros FC, por lo que podría considerarse un factor de progresión⁵¹.

Pese a todos estos efectos del IGF-I, se ha observado que ratones transgénicos para GH desarrollan un tipo de glomeruloesclerosis muy parecida a la diabética⁵², mientras que transgénicos para IGF-I no^{53,54} por lo que el IGF-I no parece fundamental

para el desarrollo de la nefropatía diabética. Sí parece fundamental el aumento del IGF-I local.

PDGF

El PDGF es un heterodímero de dos cadenas polipeptídicas A y B, unidas por puentes disulfuro. Existen tres formas diméricas posibles del PDGF: AA, AB y BB. Las dos cadenas se sintetizan como largos precursores que, posteriormente, son procesados hasta la molécula funcional⁵⁵. Los receptores del PDGF son codificados por dos genes distintos y los receptores ejercen distintas respuestas según el subtipo del PDGF que se una⁵⁶. En el glomérulo no se sabe cuáles son las células que expresan el receptor, aunque es probable que sean células mesangiales. Además, las citoquinas de los macrófagos activados desempeñan un papel importante en la inducción de la expresión del receptor B del PDGF⁵⁷.

Habitualmente se libera de los gránulos de las plaquetas, aunque también se produce en células epiteliales, monocitos, macrófagos, mesangiales y endoteliales. Se libera hacia el entorno extracelular en respuesta a numerosas sustancias: factor activador de plaquetas (PAF), trombina, colágeno e inmunocomplejos⁵⁸.

Es mitogénico para las células endoteliales, mesangiales, epiteliales y fibroblastos renales del túbulo-intersticio. En las células mesangiales no sólo induce proliferación, sino que regula positivamente su propia liberación⁵⁹. Puede, además, ser mediador de la acción de otros FC como EGF, TNF- α , FGF-b que inducen, en células mesangiales en cultivo, la expresión del ARNm que codifica PDGF y su liberación⁵⁹. Además, los anticuerpos anti-PDGF inhiben los efectos mitógenos del EGF en células mesangiales, lo que indica que la estimulación del crecimiento celular inducida por el EGF puede ser debida, al menos en parte, al PDGF⁶⁰. También puede estimular la liberación de otros FC como IGF-I desde los fibroblastos⁶¹.

El PDGF es, además, vasoconstrictor potente⁶², activador del metabolismo de prostaglandinas⁶³ y regulador de la síntesis de colágeno tipo III, IV y V⁶⁴. Existen estudios *in vitro* que sugieren un papel del PDGF como indicador de la expresión elevada de colágeno IV en respuesta al aumento de los productos glicosilados⁶⁵.

FGF

El factor de crecimiento fibroblástico ácido (FGF-a) y el básico (FGF-b) son miembros de una gran familia de proteínas relacionadas que se expresan en

distintos tejidos⁶⁶. De los dos, el FGF-b es el factor angiogénico más potente de los implicados en la angiogénesis diabética⁶⁷. Usando técnicas de radioinmunoensayo, se ha visto que el FGF-b se libera de células endoteliales de retina bovina en cultivo⁶⁸, pero parece que, normalmente, hay muy poca secreción de FGF-b en células en cultivo⁶⁹. Sin embargo, el FGF-b podría ser un factor angiogénico asociado a las células, que se libera sólo bajo circunstancias especiales como isquemia o muerte celular⁷⁰.

La concentración elevada de glucosa provoca un aumento del ARNm del FGF-b en ojo, corazón, pulmón y cerebro en diabetes experimental a corto plazo⁷¹ y también en células de músculo liso vascular en cultivo⁷². En ratas con diabetes inducida por estreptozotocina, a largo plazo, se ha observado un aumento del ARNm del FGF-b glomerular paralelamente al marcador de proliferación, PCNA⁷³. Schleicher y cols.⁴ estudiaron la presencia de FGF-b por técnicas de inmunohistoquímica en el riñón diabético y observaron que no hay expresión en la GSC difusa pero sí en los márgenes de nódulos glomeruloescleróticos. Dado que estos nódulos aparecen tardíamente en la progresión de la diabetes, podría pensarse que no está implicado en la GSC temprana pero sí puede jugar un papel importante en los estados avanzados de la ND.

El mecanismo por el que aumenta el FGF-b puede ser una estimulación de la PKC por la glucosa elevada²¹, ya que la PKC está activada en glomérulos de ratas diabéticas y la activación de la PKC estimula la expresión de FGF-b en células endoteliales humanas⁷⁴ y en otros modelos²³.

Estudios en cultivos celulares han demostrado que el FGF-b es un factor de competencia del ciclo celular y podría ser la unión entre los efectos permisivos de GH e IGF-I en la proliferación de células endoteliales de la retina⁷⁵.

El FGF-b también interacciona con un componente de la matriz extracelular, el proteoglicano heparán-sulfato⁷⁶.

EGF

El EGF de ratón se sintetiza como un proprecursor que se inserta como una proteína transmembrana⁷⁷. Después, la acción de proteasas específicas hace que se libere el péptido activo⁷⁸. El EGF se expresa en el glomérulo y en células tubulares⁷³. El receptor del EGF es una proteína con actividad tirosina quinasa⁷⁹ y se encuentra localizado en la membrana basal del túbulo proximal⁸⁰. Se ha comprobado que la hormona del crecimiento y las ti-

roideas inducen receptores hepáticos del EGF, lo que puede ser un mecanismo de cómo ciertas hormonas pueden modificar la acción de FC locales^{81,82}.

La excreción urinaria de EGF disminuye cuando empeora la función renal, tanto en la enfermedad diabética como en la no diabética⁸³⁻⁸⁵. Sin embargo, el mal control de la glucemia está asociado con el aumento de la excreción de EGF en orina en pacientes con función renal buena⁸³, aunque la excreción renal de EGF no se correlaciona con la de glucosa. La fuente del EGF urinario no está clara, aunque parece que el lugar principal de síntesis es la célula tubular⁸⁵.

Pese a todo lo dicho, el ARNm del EGF glomerular no se altera entre 4 y 24 semanas después de la instauración de la diabetes, lo que parece indicar que el EGF no tiene un papel muy importante en la ND⁷³. El EGF participa en la regeneración de las células tubulares después de un daño⁸⁶. Análogamente, en la diabetes podría tener también función protectora.

TGF- β

El factor de crecimiento transformante β pertenece a una familia de citoquinas multifuncionales que participan en la regulación del desarrollo y de la reparación de tejidos. Son proteínas diméricas y, en mamíferos existen 3 isoformas distintas (1, 2 y 3). La regulación de la expresión de los genes del TGF- β implica la transcripción de factores como el complejo AP-1 y la expresión de c-fos y c-jun⁸⁷.

La propiedad más importante del TGF- β 1 es la regulación de la síntesis de proteínas de la matriz y la inmunomodulación, mientras que el TGF β 2 coordina los procesos morfogenéticos⁸⁸.

El TGF- β 1 se produce principalmente en las células intersticiales y los macrófagos, aunque las células tubulares también contribuyen, pero en menor proporción. Inicialmente se secreta como una molécula latente, que requiere proteólisis para su activación⁸⁹.

Se une a receptores específicos de la superficie celular. Los receptores I y II (serina-treonina quinasas) están involucrados en la traducción de la señal y el receptor tipo III (betaglicano) y la endogлина son receptores no señalizantes^{90,91}. Para que el TGF- β ejerza sus acciones biológicas es necesario que se una a complejos heterodiméricos de los receptores I y II o a homodímeros del receptor de tipo II. La endogлина se une a las isoformas 1 y 3 del TGF- β y puede formar complejos con los receptores I y II⁹², lo que indica que la endogлина puede actuar como un modulador de las interacciones del TGF- β con sus receptores señalizantes.

La traducción de la señal inducida por TGF- β y mediada por el receptor lleva a procesos intracelulares como suspensión de la transcripción de c-myc, regulación a la baja de las tirosinas quinasas de la familia src, fosforilación de proteínas, inducción de erg-1, posiblemente mediada por H₂O₂ estimulada por TGF- β o inducción de otros factores de crecimiento como PDGF⁸⁸.

Se ha demostrado en estudios experimentales que factores como la Ang II, la hiperglucemia, las proteínas glicosiladas y el estiramiento de las células mesangiales estimulan directamente la expresión de TGF- β ^{24,93-95}.

El daño tisular, en general, provoca un aumento de la expresión del TGF- β por liberación en la degradación de las plaquetas, por liberación de los depósitos de TGF- β dentro de la matriz extracelular o por ambos^{87,96,97}. En el curso de la reparación tisular normal ese aumento se suprime, pero en la fibrosis, el proceso de supresión puede estar defectuoso. Una deficiencia del proteoglicano decorina puede contribuir a la sobreexpresión del TGF- β ⁹⁸. La síntesis de decorina se induce por TGF- β y, a su vez, la decorina puede neutralizar la acción del TGF- β ^{99,100}. A partir de diferentes experimentos realizados *in vitro* e *in vivo*, sobre todo en los modelos de glomerulonefritis inducida por anticuerpos antitimocitos¹⁰¹ y en fibrosis pulmonar inducida por bleomicina⁹⁸ puede concluirse que la decorina puede interrumpir el círculo de autoinducción de TGF- β y, por tanto, proteger frente a la acumulación de matriz que sigue el daño tisular. De este modo, la deficiencia en decorina de un determinado tejido puede ser un mecanismo importante en el desarrollo de la fibrosis progresiva⁸⁸.

La ND es un modelo que ha contribuido a la comprensión de la sobreexpresión sostenida de TGF- β en las enfermedades renales crónicas. En un estudio realizado *in vitro* se observó que el crecimiento de células mesangiales en suero con glucosa elevada, causa sobreexpresión de TGF- β directamente⁹³. El mecanismo por el que la hiperglucemia estimula la expresión de TGF- β no está claro, pero la prevención de los episodios de glucemia alta en pacientes diabéticos disminuye las complicaciones de la diabetes en distintos órganos¹⁰².

Además, la supresión del SRA por inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (IECAs) disminuye el deterioro de la función renal en pacientes con ND y también con otras glomerulopatías. La Ang II siempre se ha considerado como un mediador endógeno del daño renal progresivo, principalmente a través de sus efectos en la presión intraglomerular¹⁷. Son varios los autores que han confirmado que la Ang II es un inductor muy potente

de la expresión y actividad del TGF- β en células renales en cultivo^{24,103}. En células mesangiales en cultivo, la Ang II también provoca hipertrofia y producción de proteínas de la matriz a través de un mecanismo dependiente de TGF- β ²⁴. Este punto de vista ayuda a explicar el efecto superior de los IECAs en las enfermedades renales en comparación a otros antihipertensivos.

El TGF- β induce fibrogénesis a través de tres mecanismos distintos^{87,96,97}: Directamente, induce la expresión génica de proteínas de la matriz, como colágeno, fibronectina y proteoglicanos. También regula a la alta los inhibidores de proteinasas (PAI-1, TIMP-1) y, de esta forma, inhibe la degradación de la matriz acumulada. Además regula la expresión de integrinas implicadas en el control del ensamblaje de la matriz. La activación crónica del TGF- β contribuye a la acumulación patológica de la matriz extracelular en la fibrosis túbulo-intersticial progresiva que tiene lugar en la diabetes^{101,104-108}.

El TGF- β es, de todos los FC, el que mejor podría explicar la acumulación progresiva de matriz extracelular en la diabetes, dado que es único en estimular la síntesis de componentes de la matriz, en inhibir su degradación y en inhibir la proliferación de células mesangiales. Sin embargo, la acción del TGF- β no explica suficientemente hechos, tan característicos del daño diabético, como la hiperfiltración glomerular, la ausencia de colágeno I (el TGF- β normalmente también estimula la síntesis de colágeno intersticial) y la disminución en el contenido glomerular de perlecan en pacientes diabéticos (el TGF- β estimula la expresión del proteoglicano heparan sulfato perlecan)⁴.

En resumen, las citoquinas y FC implicados en la nefropatía diabética son muy numerosos y sus interacciones son muy complejas. Además, algunos de ellos como el factor de necrosis tumoral (TNF- α), interleukinas, endotelina o la propia Ang II no se han incluido en esta revisión, ya que se extendería demasiado.

BIBLIOGRAFIA

1. Krolewski AS, Warram JH, Rand LI, Kahn CR: Epidemiologic approach to the etiology of type I diabetes mellitus and its complication. *N Engl J Med* 317: 1390-1398, 1987.
2. Ziyadeh F: Diabetic renal hypertrophy. *Kidney Int* 49 (Suppl. 54): S10-S13, 1996.
3. Mogensen CE, Andersen NJF: Increase kidney size and glomerular filtration rate in early juvenile diabetes. *Diabetes* 22: 706-712, 1973.
4. Schleicher E, Kilm V, Ceol M, Nerlich A: Structural and functional changes in diabetic glomerulopathy. *Kidney Blood Press Res* 19: 305-315, 1996.
5. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group: The effect of intensive treatment of diabetes in the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 329: 977-986, 1993.
6. Ayo SH, Radnik RA, Glass IJWF, Garoni JA, Rampt ER, Appling DR, Kreisberg JJ: Increased extracellular matrix synthesis and mRNA in mesangial cells grown in high-glucose medium. *Am J Physiol* 260: F185-F191, 1990.
7. Danne T, Spiro MJ, Spiro RG: Effect of high glucose on type IV collagen production by cultured glomerular epithelial, endothelial, and mesangial cells. *Diabetes* 42: 170-177, 1993.
8. Larkins RG, Dunlop ME: The link between hyperglycaemia and diabetic nephropathy. *Diabetologia* 35: 499-504, 1992.
9. Brownlee M, Cerami A, Vlassara H: Advanced glycosylation end products in tissue and the biochemical basis of diabetic complications. *N Engl J Med* 318: 1315-1321, 1988.
10. Anderson SS, Kim Y, Tsilibary EC: Effects of matrix glycation on mesangial cell adhesion, spreading and proliferation. *Kidney Int* 46: 1359-1367, 1994.
11. Craven PA, Davidson CM, De Rubertis FR: Increase in diacylglycerol mass in isolated glomeruli by glucose from the novo synthesis of glycerolipids. *Diabetes* 39: 667-674, 1990.
12. Lee T-S, MacGregor LC, Fluharty SJ, King GL: Differential regulation of protein kinase C and (Na,K)-adenosine triphosphatase activities by elevated glucose levels in retinal capillary endothelial cells. *J Clin Invest* 83: 90-94, 1989.
13. Craven PA, Patterson MC, De Rubertis FR: Role of protein kinase C in the modulation of glomerular PGE2 production by angiotensin II. *Biochem Biophys Res Commun* 152: 1481-1489, 1988.
14. Chang WP, Aller T, Dunlop ME, Cooper M, Larkins RG: The effect of aldose reductase inhibitors on glomerular prostaglandin production and urinary albumin excretion in experimental diabetes mellitus. *Diabetologia* 34: 225-231, 1991.
15. Hunt JV, Smith CCT, Wolff SP: Autoxidative glycosylation and possible involvement of peroxides and free radicals in LDL modification by glucose. *Diabetes* 39: 1420-1424, 1990.
16. Wolff SP, Dean RT: Glucose autoxidation and protein modification: the potential role of autoxidative glycosylation in diabetes. *Biochem J* 245: 243-250, 1987.
17. Rosenberg ME, Smith LJ, Correa-Rotter R, Hostetter TH: The paradox of the renin-angiotensin system in chronic renal disease. *Kidney Int* 45: 403-410, 1994.
18. Pfeiffer A, Schatz H: Diabetic microvascular complications and growth factors. *Exp Clin Endocrinol* 103: 7-14, 1995.
19. Hsieh HJ, Li NQ, Frangos JA: Shear stress increases endothelial platelet-derived growth factor mRNA levels. *Am J Physiol* 260: H642-H646, 1991.
20. Riser BL, Grondin JM, Cortés P, Patterson D, Narins RG: Mesangial cell stretch stimulates the secretion and activation of transforming growth factor beta-1 (TGF- β 1), but not TGF β 2/TGF β 3. *J Am Soc Nephrol* 4: 663 (Abstract), 1993.
21. Craven PA, De Rubertis FR: Protein kinase C is activated in glomeruli from streptozotocin diabetic rats. *J Clin Invest* 83: 1667-1675, 1989.
22. Shankland SJ, Scholey JW, Ly H, Thai K: Expression of growth-related protooncogenes during diabetic renal hypertrophy. *Kidney Int* 47: 782-788, 1995.
23. Murphy PR, Sato Y, Sato R, Friesen HG: Regulation of multiple basic fibroblast growth factor messenger ribonucleic acid transcripts by protein kinase C activators. *Mol Endoc* 2: 1196-1201, 1988.
24. Kagami S, Border WA, Miller DE, Noble NA: Angiotensin II stimulates extracellular matrix protein synthesis through induction of transforming growth factor- β expression in rat glomerular mesangial cells. *J Clin Invest* 93: 2431-2437, 1994.

FACTORES DE CRECIMIENTO EN NEFROPATIA DIABETICA

25. Toback FG: Regeneration after acute tubular necrosis. *Kidney Int* 41: 226-246, 1992.
26. Hasegawa G, Nakano K, Sawada M, Uno K, Shibayama Y, Ienaga K, Kondo M: Possible role of tumour necrosis factor and interleukin-1 in the development of diabetic nephropathy. *Kidney Int* 40: 1007-1012, 1991.
27. Doi T, Vlassara H, Kirstein M, Yamada Y, Striker GE, Striker LJ: Receptor-specific increase in extracellular matrix production in mouse mesangial cells by advanced glycosylation end-products is mediated via platelet-derived growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 2873-2877, 1992.
28. Kirstein M, Aston C, Hintz R, Vlassara H: Receptor-specific induction of insulin-like growth factor I in human monocytes by advanced glycosylation end product-modified proteins. *J Clin Invest* 90: 439-446, 1992.
29. Remuzzi G, Bertani T: Is glomerulosclerosis a consequence of altered glomerular permeability to macromolecules? *Kidney Int* 38: 384-394, 1990.
30. Burton C, Harris KPG: The role of proteinuria in the progression of chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 27: 765-775, 1996.
31. Wolf G, Neilson EG: Molecular mechanisms of tubulointerstitial hypertrophy and hyperplasia. *Kidney Int* 39: 401-420, 1991.
32. Hammerman MR, O'Shea M, Miller SB: Roles of growth factors in regulation of renal growth. *Annu Rev Physiol* 55: 305-321, 1989.
33. Hammerman MR, Miller SB: The growth hormone insulin-like growth factor axis in kidney revisited. *Am J Physiol* 265: F1-F14, 1993.
34. Anderson GL, Skottner A, Jennische E: Immunocytochemical and biochemical localization of insulin-like growth factor I in the kidney of rats before and after uninephrectomy. *Acta Endocrinol* 119: 555-560, 1988.
35. Hansson HA, Nilsson A, Isgaard J, Billig H, Isaksson O, Skottner A, Andersson IK, Rozell B: Immunohistochemical localization of insulin-like growth factor I in the adult rat. *Histochemistry* 89: 403-410, 1988.
36. Kobayashi S, Clemmons DR, Venkatachalam MA: Colocalization of insulin-like growth factor-binding protein with insulin-like growth factor I. *Am J Physiol* 261: F22-F28, 1991.
37. Bortz JD, Rotwein P, Devol D, Bechtel PJ, Hansen VA, Hammerman MR: Focal expression of insulin-like growth factor I in rat kidney collecting duct. *J Cell Biol* 107: 811-819, 1988.
38. Le Roith D, Werner H, Phillip M, Roberts CT: The role of insulin-like growth factors in diabetic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 22 (55): 722-726, 1993.
39. Bach LA, Rechler MM: Insulin-like growth factors and diabetes. *Diabetes Metab Rev* 8: 229-257, 1992.
40. Flyvbjerg A, Thorlacius-Ussing R, Nearaa J, Ingerslev J, Orskov H: Kidney tissue somatomedin C and initial renal growth in diabetic and uninephrectomized rats. *Diabetologia* 31: 310-314, 1988.
41. Bach LA, Stevenson JL, Allen G, Jerums G, Herington AC: Kidney insulin-like growth factor-I mRNA levels are increased in postpubertal diabetic rats. *J Endocrinol* 129: 5-10, 1991.
42. Catanese VM, Scivolino PJ, Lango MN: Discordant, organ-specific regulation of insulin-like growth factor-I messenger ribonucleic acid in insulin-deficient diabetes in rats. *Endocrinology* 132: 496-503, 1993.
43. Jacobs ML, Chandrashekar V, Bartke A, Weber RFA: Early effects of streptozotocin-induced diabetes on insulin-like growth factor-I in the kidneys of growth hormone-transgenic and growth hormone-deficient dwarf mice. *Exp Nephrol* 5: 337-344, 1997.
44. Hirschberg R, Brunori G, Kipple JD, Guler H-P: Effects of insulin-like growth factor I on renal function in normal men. *Kidney Int* 43: 387-397, 1993.
45. Haylor J, Singh I, El Nahas AM: Nitric oxide synthesis inhibitor prevents vasodilation by insulin-like growth factor I. *Kidney Int* 39: 333-335, 1991.
46. Hirschberg R, Koppler JD: Evidence that insulin-like growth factor I increases renal plasma flow and glomerular filtration rate in fasted rats. *J Clin Invest* 83: 326-330, 1989.
47. Jaffa A, Le Roith D, Roberts CT Jr, Mayfield R: Insulin-like growth factor-I produces renal hyperfiltration by a kinin-mediated mechanism. *Am J Physiol* 266: F102-F107, 1994.
48. Briggs JP, Schermann J: The tubulo glomerular feed-back mechanism: functional and biochemical aspects. *Ann Rev Physiol* 47: 251-273, 1988.
49. Conti FG, Striker LJ, Lesniak MA, MacKay K, Roth J, Striker GE: Studies on binding and mitogenic effect of insulin-like growth factor I in glomerular mesangial cells. *Endocrinology* 122: 2788-2795, 1988.
50. Schreiber BD, Hughes ML, Groggel GC: Insulin-like growth factor-I stimulates production of mesangial cells matrix components. *Clin Nephrol* 43 (6): 368-374, 1995.
51. Doi T, Striker LJ, Elliot SJ, Conti FG, Striker GE: Insulin-like growth factor-I is a progression factor for human mesangial cells. *Am J Pathol* 134: 395-404, 1989.
52. Doi T, Striker LJ, Gibson CC, Agodoa LY, Brinster RL, Striker GE: Glomerular lesions in mice transgenic for growth hormone and insulin-like growth factor-I. Relationship between increased glomerular size and mesangial sclerosis. *Am J Pathol* 137: 541-442, 1990.
53. Quaipe CJ, Mathews CA, Pinkert RE, Hammer RE, Brinster RL, Palmiter RD: Histopathology associated with elevated levels of growth hormone and insulin-like growth factor I in transgenic mice. *Endocrinology* 124: 40-48, 1989.
54. Doi T, Striker LJ, Quaipe C, Conti FG, Palmiter R, Behringer R, Brinster R, Striker GE: Progressive glomerulosclerosis develops in transgenic mice chronically expressing growth hormone and growth hormone releasing factor but not in those expressing insulin-like growth factor I. *Am J Pathol* 131: 398-403, 1988.
55. Ross R, Raines EW, Bowen-Pope DF: The biology of platelet-derived growth factor. *Cell* 46: 155-169, 1986.
56. Heldin CH, Westermark B: Platelet-derived growth factors: A family of isoforms that bind to two distinct receptors. *Br Med Bull* 45: 438-452, 1989.
57. Fellstrom B, Klareskog L, Heldin CH: Platelet-derived growth factor receptors in the kidney. Upregulated expression in inflammation. *Kidney Int* 36: 1009-1012, 1989.
58. Pérez-Barriocanal F, Gallego-Oviedo B, López-Novoa JM: Papel de los factores de crecimiento en la insuficiencia renal crónica secundaria a la diabetes. Efecto del tratamiento antihipertensivo. *Endocrinología* 44 (3): 89-97, 1997.
59. Silver BJ, Jaffer FE, Abboud HE: Platelet-derived growth factor synthesis in mesangial cells: induction by multiple peptide mitogens. *Proc Natl Acad Sci USA* 86: 1056-1060, 1989.
60. Rubin K, Tingstrom A, Hansson GK: Induction of B-type receptors for platelet-derived growth factor in vascular inflammation: possible implications for development of vascular proliferative lesions. *Lancet* 1: 1353-1356, 1988.
61. Stiles CD: The molecular biology of platelet-derived growth factor. *Cell* 33: 653-655, 1983.
62. Beck BC, Alexander RW, Brock TA, Gimbrone MA, Webb CR: Vasoconstriction: a new activity for platelet-derived growth factor. *Science* 232: 87-90, 1986.
63. Habenicht AJR, Goerig M, Grulich J: Human platelet-derived growth factor stimulates prostaglandin synthesis by acti-

B. GALLEGO y cols.

- vation and by rapid de novo synthesis of cyclooxygenase. *J Clin Invest* 75: 1381-1387, 1985.
64. Narayanan AS, Page RC: Biosynthesis and regulation of type V collagen in diploid human fibroblasts. *J Biol Chem* 258: 11694-11699, 1983.
 65. Rojo P, Bover J, Moreno V, Ruiz Ginés JA, Rodríguez Puyol M, Rodríguez Puyol D, Bosch RJ: Citoquinas y patología renal. *Nefrología* Vol XVIII (1): 32-41, 1998.
 66. Baird A, Esch F, Mormede P, Ueno N, Ling N, Boehlen P, Ying SY, Wehrenberg WB, Guillemin R: Molecular characterization of fibroblast growth factor; distribution and biological activities in various tissues. *Rec Progr Horm Res* 42: 143-205, 1986.
 67. Klagsburn M, Folkman J: Angiogenesis. In Sporn MB, Roberts AB eds. Peptide growth factors and their receptors II. *Handbook of experimental pharmacology* (vol 95/II). Berlin: Springer-Verlag, 549-586, 1990.
 68. Brooks RA, Hyer SL, Burrin JM, Kohner EM: Measurements of basic fibroblast growth factor in bovine retinal endothelial cell conditioned medium. *Diabetic Med* 6 (Suppl. 1): A19 (Abstract), 1989.
 69. Klagsburn M, Sasse J, Sullivan R, Smith JA: Human tumour cells synthesize an endothelial cell growth factor that is structurally related to basic fibroblast growth factor. *Proc Natl Acad Sci USA* 53: 2448-2452, 1986.
 70. Flyvbjerg A: Growth factors and diabetic complications. *Diabetic Med* 7: 387-399, 1990.
 71. Karpen CW, Spanheimer RG, Randolph AL, Lowe WL Jr: Tissue specific regulation of basic fibroblast growth factor mRNA levels by diabetes. *Diabetes* 41: 222-226, 1992.
 72. McClain DA, Paterson AJ, Roos MD, Wei X, Kudlow JE: Glucose and glucosamine regulate growth factor gene expression in vascular smooth muscle cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 8150-8154, 1992.
 73. Nakamura T, Fukui M, Ebihara I, Osada S, Nagaoka I, Tomino Y, Koide H: mRNA expression of growth factors in glomeruli from diabetic rats. *Diabetes* 42: 450-456, 1993.
 74. Bikfalvi A, Alterio J, Inyang AL y cols.: Basic fibroblast growth factor expression in human omental microvascular endothelial cells and the effect of phorbol ester. *J Cell Physiol* 144: 151-158, 1990.
 75. Schweiger L, Neufeld G, Friedman J, Abraham JA, Fiddes JC, Gospodarowicz D: Capillary endothelial cells express basic fibroblast growth factor, a mitogen that promotes their own growth. *Nature* 325: 257-259, 1987.
 76. Baird A, Ling N: Fibroblastic growth factors are present in the extracellular matrix produced by endothelial cell in vitro: implications for a role of heparinase-like enzymes in the neovascular response. *Biochem Biophys Res Commun* 142: 428-435, 1987.
 77. Carpenter G, Zendejui JG: Epidermal growth factor, its receptor, and related proteins. *Exp Cell Res* 164: 1-10, 1986.
 78. Higuchi Y, Marimoto Y, Harinata A, Yasuoka N: Crystallization and preliminary X-ray studies of human epidermal growth factor. *J Biochem* 103: 905-906, 1988.
 79. Ushiro H, Cohen S: Identification of phosphotyrosine as a product of epidermal growth factor-activated protein kinase in A-431 cells. *J Biol Chem* 255: 8363-8369, 1980.
 80. Harris RC, Daniel TO: Epidermal growth factor binding, stimulation of phosphorylation, and inhibition of gluconeogenesis in rat proximal tubule. *J Cell Physiol* 139: 383-391, 1989.
 81. Jansson JO, Ekberg S, Hoath SB, Beamer WG, Frohman LA: Growth hormone enhances hepatic epidermal growth factor receptor concentration in mice. *J Clin Invest* 82: 1871-1876, 1988.
 82. Mukku VR: Regulation of epidermal growth factor receptor levels by thyroid hormones. *J Biol Chem* 259: 6543-6547, 1984.
 83. Kawaguchi M, Kamiya Y, Ito J y cols.: Excretion of urinary epidermal growth factor in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Life Sci* 52: 1181-1186, 1983.
 84. Mathiesen ER, Nexø E, Hommel E, Parving HH: Reduced urinary excretion of epidermal growth factor in incipient and overt diabetic nephropathy. *Diabetic Med* 6: 121-126, 1989.
 85. Mattila AL, Pasternack A, Viinikka L, Perheentupa J: Subnormal concentrations of urinary epidermal growth factor in patients with kidney disease. *J Clin Endocrinol Metab* 62: 1180-1183, 1986.
 86. Humes HD, Cieslinski DA, Coimbra RM, Messina JM, Galvao C: Epidermal growth factor enhances renal tubule cells regeneration and repair and accelerates the recovery of renal function in postischemic acute renal failure. *J Clin Invest* 84: 1757-1761, 1989.
 87. Roberts AB, Sporn MB: The transforming growth factor- β s. In: Sporn MB, Roberts AB, eds. *Handbook of experimental pharmacology: peptide growth factors and their receptors I* (vol. 95/I), New York: Springer Verlag 419-472, 1990.
 88. Ketteler M, Noble NA, Border WA: Transforming growth factor- β and the kidney. *J Nephrol* 8 (3): 143-147, 1995.
 89. Eddy AA: Expression of genes that promote renal interstitial fibrosis in rats with proteinuria. *Kidney Int* 49 (Suppl. 54): S49-S54, 1996.
 90. Cheifetz S, Bellon T, Scales C, Vera S, Bernabéu C, Masague J, Letarte M: Endoglin is a component of the transforming growth factor- β receptor system in human endothelial cells. *J Biol Chem* 267: 19027-19030, 1992.
 91. MacKay K, Striker LJ, Tauffer JW, Doi T, Agodoa LY, Striker GE: Transforming growth factor- β . Murine glomerular receptors and responses in isolated glomerular cells. *J Clin Invest* 83: 1160-1167, 1989.
 92. Yamashita H, Ichijo H, Grimsby S, Moren A, Ten Dijke P, Miyazono K: Endoglin forms a heterodimeric complex with the signalling receptors for transforming growth factor-beta. *J Biol Chem* 269: 1995-2001, 1994.
 93. Ziyadeh FN, Sharma K, Ericksen M, Wolf G: Stimulation of collagen gene expression and protein synthesis in murine mesangial cells by high glucose is mediated by autocrine activation of transforming growth factor- β . *J Clin Invest* 93: 536-542, 1994.
 94. Pankewycz OG, Guan JX, Bolton WK, Gómez A, Benedict JF. Renal TGF-beta regulation in spontaneously diabetic NOD mice with correlations in mesangial cells. *Kidney Int* 46 (Suppl. 3): 748-758, 1994.
 95. Riser BL, Grondin JM, Cortés P, Patterson D, Narins RG: Mesangial cell stretch stimulates the secretion and activation of transforming growth factor beta-1 (TGF- β 1), but not TGF β 2/TGF β 3. *J Am Soc Nephrol* 4: 663 (Abstract), 1993.
 96. Border WA, Ruoslahti E: Transforming growth factor- β in disease: the dark side of tissue repair. *J Clin Invest* 90: 1-7, 1992.
 97. Border WA, Noble NA: Transforming growth factor- β in tissue fibrosis. *N Engl J Med* 331: 1286-1292, 1994.
 98. Westergren-Thorson G, Hermaes S, Sarnstrand B, Olkberg A, Heinegard D, Malmstroem A: Altered expression of small proteoglycans, collagen and transforming growth factor β 1 in developing bleomycin-induced pulmonary fibrosis in rats. *J Clin Invest* 92: 632-637, 1993.
 99. Border WA, Okuda S, Languino LR, Ruoslahti E: Transforming growth factor- β regulates production of proteoglycans by mesangial cells. *Kidney Int* 37: 689-695, 1990.
 100. Yamaguchi Y, Mann DM, Ruoslahti E: Negative regulation or transforming growth factor- β by the proteoglycan decorin. *Nature* 346: 281-284, 1990.

B. GALLEGO y cols.

101. Border WA, Noble NA, Yamamoto T, Harper JR, Yamaguchi Y, Pierschbacher MD, Ruoslahti E: Natural inhibitor of transforming growth factor- β protects against scarring in experimental kidney disease. *Nature* 360: 361-364, 1992.
102. Molitch ME, Steffes MW, Cleary PA, Nathan DM: Baseline analysis of renal function in the diabetes control and complications trial. *Kidney Int* 43: 668-674, 1993.
103. Wolf G, Mueller E, Stahl RAK, Ziyadeh FN: Angiotensin II-induced hypertrophy of cultured murine proximal tubular cells is mediated by endogenous transforming growth factor- β . *J Clin Invest* 92: 1366-1372, 1993.
104. Border WA, Okuda S, Languino LR, Sporn MB, Ruoslahti E: Suppression of experimental glomerulonephritis by antiserum against transforming growth factor β 1. *Nature* 346: 371-374, 1990.
105. Border WA, Yamamoto T, Noble NA: Transforming growth factor in diabetic nephropathy. *Diabetes Metabol Rev* 12: 309-339, 1996.
106. Yamamoto T, Nakamura T, Noble NA, Ruoslahti E, Border WA: Expression of transforming growth factor- β is elevated in human and diabetic nephropathy. *Proc Natl Acad Sci USA* 90: 1814-1818, 1993.
107. Yamamoto T, Noble NA, Miller DE, Border WA: Sustained expression of TGF- β 1 underlies development of progressive kidney fibrosis. *Kidney Int* 45: 916-927, 1994.
108. Yamamoto T, Noble NA, Cohen AH, Nast CC, Hishida A, Gold LI, Border WA: Expression of transforming growth factor- β isoforms in human glomerular diseases. *Kidney Int* 49: 461-469, 1996.