

# Cambios morfológicos, celulares y moleculares en la fibrosis renal debido al envejecimiento

Miguel Alaga<sup>1</sup>, Paola Carzoglio<sup>1</sup>, Rodrigo Décima<sup>1</sup>, Ramiro Funes<sup>1</sup>, Cecilia Spiess<sup>1</sup>, Mercedes Rodríguez-Teja<sup>2\*</sup>

## Resumen

En los últimos 50 años se ha registrado un aumento gradual de la tasa de envejecimiento de la población uruguaya, reflejándose en un incremento de pacientes con enfermedad renal crónica mayores de 65 años. Este fenómeno plantea la interrogante de cómo el envejecimiento tisular afecta la función del riñón y, en particular cómo contribuye al desarrollo de la fibrosis renal. Con el envejecimiento se producen cambios morfológicos y funcionales en el riñón, tales como la esclerosis glomerular y la fibrosis intersticial. Estos cambios son consecuencia de alteraciones que ocurren a nivel celular. En este trabajo se profundizará en los mecanismos celulares que desencadenan la fibrosis intersticial y la glomerulosclerosis, describiendo el proceso de inflamación sostenida, la transformación fenotípica de las células epiteliales a miofibroblastos, así como los mecanismos de producción de matriz extracelular y la perpetuación de la fibrosis renal. Además, detallaremos las cascadas moleculares involucradas en el proceso de fibrosis, poniendo énfasis en las cascadas reguladas por TGF- $\beta$ 1 y sus vías de interacción, que regulan la producción factores pro- y anti-fibróticos. También veremos como el TGF- $\beta$ 1 modula la expresión de ARN pequeños no-codificantes (microARNs), potentes inhibidores de la expresión génica, y como el gen anti-envejecimiento Klotho inhibe el avance de la fibrosis renal. Finalmente, discutiremos terapias para frenar o entretener el proceso de fibrosis renal, especialmente aquellas que tengan como blanco las cascadas de señalización activadas por TGF- $\beta$ 1, los microRNAs y posibles terapias de activación del gen Klotho para prevenir la progresión de esta patología.

## Palabras clave

Fibrosis renal, envejecimiento, TEM, TEndoM, TGF- $\beta$ 1, Klotho.

## Title

Age-related morphological, cellular and molecular changes in renal fibrosis.

## Abstract

During the last 50 years the average age of the Uruguayan population has increased, coinciding with higher numbers of the population over 65 years old with chronic kidney disease. The pathological changes during ageing that affect kidney function are not very well understood. During ageing the kidney suffers morphological and functional changes, like interstitial fibrosis and glomerular sclerosis. These changes are the result of alterations that take place at the cellular level. Here, the cellular mecha-

---

1. Estudiante de Medicina, Ciclo de Metodología Científica II, Facultad de Medicina, Universidad de la República. Uruguay. La contribución en la realización del trabajo fue equivalente a la de los demás estudiantes.

2. Docente supervisor. Departamento de Genética, Facultad de Medicina, Universidad de la República, Uruguay.

\* Contacto: Mercedes Rodríguez - Teja. E-mail: mercedesrodriguez@fmed.edu.uy

nisms that trigger interstitial fibrosis and glomerulosclerosis, including sustained inflammation, transition from epithelial to myofibroblastic cellular phenotype, and the mechanism involved in extracellular matrix production and progression of kidney fibrosis, will be discussed. We also consider the molecular cascades involved in fibrosis, with an emphasis on the transforming growth factor-beta1 (TGF- $\beta$ 1) signalling pathway that modulates the production of pro- and anti-fibrotic factors. We will also explore how TGF- $\beta$ 1 modulates non-coding small RNA (micro-RNA) expression, which is a powerful mechanism for gene regulation, and how the anti-ageing gene Klotho inhibits kidney fibrosis progression. Finally, alternative therapies that target pathways modulated by TGF- $\beta$ 1, micro-RNAs and activation of Klotho will be considered as precautionary measures to help to prevent age-related kidney disease.

## Key Words

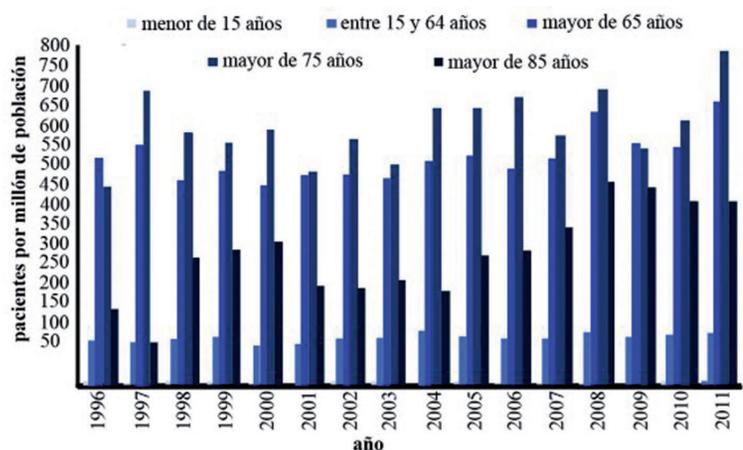
Kidney fibrosis, ageing, MET, MEndoT, TGF- $\beta$ 1, Klotho.

## Introducción

El envejecimiento demográfico es un proceso irreversible que están atravesando la mayoría de las poblaciones del mundo. El ritmo y velocidad con la que las poblaciones experimentan este proceso tienen relación con características demográficas y con fenómenos actuales que afectan sus dinámicas y estructuras. En la historia del Uruguay, se ha observado una transición demográfica de una población joven, que recibía fuertes contingentes migratorios desde fines del siglo XIX hasta las primeras décadas del siglo XX, a una estructura demográfica envejecida con una elevada tasa de emigrantes en segunda mitad del siglo XX [1]. Además, durante esta transición demográfica se observó un descenso en la tasa de mortalidad acompañado por una disminución en tasas de fecundidad y de crecimiento a lo largo de todo el siglo pasado [1]. Fruto de ello, la población del Uruguay presenta una estructura demográfica envejecida con una baja tasa de crecimiento [2]. A pesar de esta situación transicional, no se ha dado suficiente importancia a intervenciones que podrían prevenir la alta prevalencia de factores de riesgo de enfermedades crónicas,

sabiendo que en las próximas décadas es de esperar un incremento de enfermedades crónicas no transmisibles, a expensas del aumento de la población de mayores de 65 años [2].

Dentro de las enfermedades crónicas no transmisibles se encuentran las enfermedades renales, cuya tasa de crecimiento ha aumentado un 8% a nivel mundial [3]. Según el Programa de Salud Renal del Uruguay un 66% de los pacientes que ingresan al programa son mayores de 65 años [1]. Es así que, el aumento del promedio de edad de la población en diálisis se acompaña de una incidencia creciente de la población de mayor edad (Figura 1).



**Figura 1.** Gráfico que muestra que el aumento del promedio de edad de la población en diálisis se acompaña de una incidencia creciente de la población de mayor edad. Datos extraídos de tabla de informe anual de diálisis año 2013 [1].

El aumento de incidencia de la enfermedad renal crónica (ERC) con la edad del paciente, nos plantea la interrogante de cómo el envejecimiento afecta la función del riñón y, en particular, cómo contribuye con la fibrosis renal. Sin embargo, resulta difícil discernir cuánto el envejecimiento *per se* coopera con el proceso de fibrosis renal de cada paciente, debido a la presencia de enfermedades crónicas prevalentes en el adulto tales como la diabetes mellitus e hipertensión arterial, enfermedades que en su evolución natural, generan daño renal con la consiguiente fibrosis y progresión hacia la ERC. El objetivo de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica del efecto del envejecimiento en el proceso de fibrosis renal, poniendo énfasis en el estudio de los cambios morfológicos del riñón producidos durante el proceso de envejecimiento y su relación con la fibrosis renal; así como de los mecanismos celulares y moleculares que contribuyen con este proceso y las estrategias terapéuticas en desarrollo.

### *Cambios del riñón producidos por la edad*

Desde el punto de vista morfológico se observan diferencias entre el riñón de individuo joven y adulto. En 1976 Griffiths y colaboradores observaron en riñones obtenidos de necropsias de pacientes normotensos mayores de 50 años, una disminución significativa del tamaño del riñón con pérdida de tejido cortical que se correlaciona positivamente con el compromiso de la vasculatura renal [4]. El proceso de envejecimiento va acompañado de una pérdida progresiva de masa renal, donde el peso de los riñones disminuye desde el adulto joven hasta la octava década de vida [5-7].

El porcentaje de glomérulos esclerosantes aumenta con la edad [8] y lleva a la acumulación de matriz extracelular (MEC), dando lugar a la obliteración de algunas o todas las luces capilares en los glomérulos afectados, produciendo formación de adherencias fibrosas entre porciones escleróticas de glomérulos, epitelio parietal y cápsulas

de Bowman [9]. Abrass y colaboradores observaron un engrosamiento de la membrana basal glomerular por acumulación de sus componentes (laminina y colágeno tipo IV), acompañado por un aumento de cantidad de MEC en la membrana tubular e intersticio renal [10]. Más recientemente, Gagliano y colaboradores confirmaron un aumento progresivo de fibrosis en la corteza renal con acumulación de colágeno tipo I (componente principal de la MEC) durante el proceso de envejecimiento [11].

Los cambios en los vasos sanguíneos del riñón envejecido juegan un rol preponderante en el daño renal, produciendo un descenso del flujo sanguíneo renal del paciente con el pasaje de los años [9]. El aumento de la esclerosis vascular con el envejecimiento se evidencia por el aumento de la esclerosis en el sector intimal y capa medial de arterias humanas corticales de personas adultas mayores, comparado con niños [6]. Todos estos cambios morfológicos, que llevan a la fibrosis renal como consecuencia del envejecimiento tisular, son similares a los observados en modelos experimentales de falla renal progresiva y en pacientes con ERC [12] y se ven acentuados en pacientes con enfermedades como diabetes e hipertensión.

### *Mecanismos celulares de la fibrosis renal*

La fibrogénesis se considera un proceso de cicatrización fallida, en un intento de reparar y reconstruir el daño (ver revisión Liu et al. [13]). La inflamación sostenida produce un gradiente de citoquinas quimiotácticas que guían a las células inflamatorias para su infiltración en el tejido dañado [14]. Una vez allí se activan y producen moléculas que dañan aun más al tejido [13]. Los macrófagos juegan un rol importante en el desarrollo de fibrosis renal; la reducción sistémica de macrófagos luego de una injuria por isquemia y reperfusión reduce la inflamación, disminuyendo así algunos de los componentes celulares del sistema inmune que llegan al riñón (p. ej., los

neutrófilos) y atenuando los cambios histológicos, que en su conjunto reduce la fibrosis renal a largo plazo [15]. Sin embargo, algunos subtipos de macrófagos ayudan en la reparación y regeneración tisular [16]. El reclutamiento y activación de linfocitos es un acontecimiento temprano importante en el inicio de la fibrosis renal; los ratones que carecen de linfocitos B y T maduros están protegidos contra la fibrosis luego de una injuria obstructiva [17]. La inflamación no-resolutiva, producto de una injuria crónica, genera un círculo vicioso de inflamación, daño tisular y fibrosis.

La fibrogénesis se inicia en forma aleatoria en pequeñas áreas de inflamación y luego se expande difusamente si el estímulo profibrótico persiste [18]. El microambiente hostil que se genera en el riñón debido a la injuria sostenida y la inflamación, produce la activación de células fibroblásticas (principales productoras de MEC), paso fundamental en el desarrollo de la fibrosis renal [13] y es considerada un factor de riesgo de la misma [18]. Los fibroblastos pueden originarse a través de diferentes mecanismos [13], aquí nos centraremos en los procesos de transición del fenotipo endotelial a mesenquimal (transición endotelio-mesenquimal, TEndo-M) en los capilares y de transición del fenotipo epitelial a mesenquimal (transición epitelio-mesenquimal, TEM) en los túbulos renales, ya que ambos contribuyen con la progresión irreversible de la fibrosis renal produciendo rarefacción capilar y potenciando el proceso inflamatorio [19]. Durante la TEndo-M o TEM, las células endoteliales o epiteliales respectivamente, comienzan una transformación fenotípica en un proceso de embriogénesis reversa hacia una célula mesenquimatosa del tipo fibroblástica [20]. Estas transiciones están frecuentemente precedidas por una inflamación intersticial crónica y puede ser una respuesta adaptativa de las células epiteliales o endoteliales al ambiente hostil [20, 21]. Se ha estudiado la TEM *in vitro* exponiendo podocitos inmortalizados de ratón en un microambiente con altas concentraciones de la citoquina pro-fibrótica TGF- $\beta$ 1, observándose

una disminución en la expresión de proteínas de adhesión características del fenotipo epitelial podocitario y un aumento en la expresión de marcadores del fenotipo mesenquimal [21]. Es importante mencionar que esta transición se acompaña de una disminución de la función de barrera de filtración en dichos podocitos [21]. Los fibroblastos activados producen una gran cantidad de componentes de la MEC [19]. Esto lleva a una acumulación excesiva de matriz intersticial, particularmente de fibras de colágeno tipo I y III, como también de fibronectina [18]. La síntesis de proteínas de la MEC por parte de los fibroblastos está controlada a nivel de la transcripción génica en respuesta a señales pro-fibrogénicas extracelulares [22].

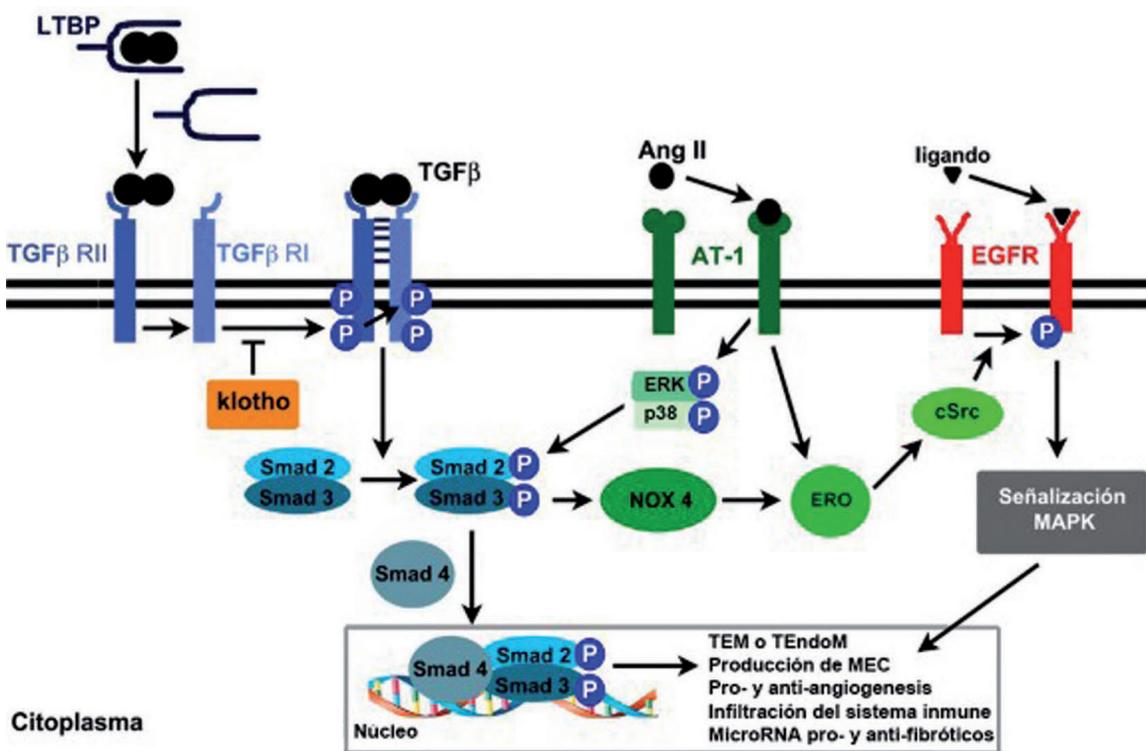
El proceso de fibrosis renal no es solo el resultado de acumulación excesiva de MEC, sino que se perpetúa mediante diversos procesos como son la rarefacción microvascular, la hipoxia crónica y la injuria tubular. La rarefacción microvascular, producto en parte de la TendoM, marca la irreversibilidad y perpetuación en el tiempo de la fibrosis [19]. A su vez produce hipoxia, lo que genera un círculo vicioso. La hipoxia crónica se ve como resultado también de la disminución de la difusión del oxígeno debido a la fibrosis y al aumento de las demandas metabólicas por las células tubulares. Tanto la hipoxia como el estrés oxidativo inducen la apoptosis de las células endoteliales contribuyendo con la injuria tubular [13]. La injuria tubulointersticial prolongada se asocia con la síntesis de citoquinas y quimioquinas que contribuyen con los procesos de inflamación, la TEM y la TendoM, llevando a la atrofia tubular y fibrosis intersticial [13, 18, 21]. En etapas tempranas la MEC es susceptible a la proteólisis, por lo tanto la fibrosis es potencialmente reversible, resultando en la cicatrización del tejido. Al perpetuarse la fibrosis se producen modificaciones bioquímicas en las proteínas de la MEC, generando productos finales de glicosilación avanzada (*advanced glycation end-products*, AGEs) y *cross-linking* entre los componentes de la misma, aumentando

su rigidez y otorgándole protección frente a la proteólisis [23].

### Bases moleculares de la fibrosis renal y estrategias terapéuticas

Entre las cascadas moleculares más estudiadas involucradas en la génesis de la fibrosis renal, se encuentra la vía de señalización de TGF- $\beta$ 1 (transforming growth factor beta1), implicada en los diferentes procesos que caracterizan a la fibrosis renal (infiltración leucocitaria, TEM, TEndoM, producción de MEC, angiogénesis) [22, 24]. TGF- $\beta$ 1 es una citoquina de la superfamilia TGF $\beta$  con un amplio espectro de funciones. Es secretada como precursor latente formando un complejo con su proteína de unión LTBP (latent TGF binding proteins, LTBP). Para activarse

TGF- $\beta$ 1 se disocia de LTBP mediante proteólisis y se une a sus receptores en la membrana celular, para luego actuar de manera parácrina y autócrina. Se conocen dos vías de señalización intracelulares activadas por TGF- $\beta$ 1: la vía canónica dependiente de los factores de transcripción Smad y la vía no-canónica o independiente de Smad. La vía canónica ha demostrado ser la más importante en muchos procesos fisiopatológicos del riñón, incluyendo la génesis de fibrosis túbulointersticial. Esta vía comienza cuando el TGF- $\beta$ 1 se une a su receptor TGF $\beta$ RII y activa al receptor tirosinquinasa TGF $\beta$ RI que fosforila a Smad 2 y Smad 3, induciendo su activación y promoviendo la interacción con Smad 4. Este complejo se transloca al núcleo para controlar la transcripción de genes profibróticos, como son los genes que



**Figura 2.** Vías moleculares de señalización involucradas en el proceso de fibrosis renal. El mecanismo más estudiado es la vía canónica TGF- $\beta$ 1/Smad. TGF- $\beta$ 1, al unirse a su receptor TGF $\beta$ RII, induce la dimerización de éste con TGF $\beta$ RI. Este heterodímero fosforila a los factores de transcripción Smad 2 y 3, los cuales posteriormente forman un complejo con Smad 4 que se transloca al núcleo y estimula la transcripción de genes profibróticos involucrados en la TEM, la producción de MEC, la angiogénesis, la infiltración del sistema inmune y la síntesis de microARNs. A su vez, la Ang II, al unirse a su receptor AT1, estimula la transactivación de EGFR. Estas interacciones promueven y perpetúan la fibrosis renal inducida por TGF- $\beta$ 1.

codifican para las proteínas de la MEC, las proteínas que caracterizan al fenotipo miofibroblástico, citoquinas implicadas en la infiltración al intersticio renal de las células del sistema inmune, factores pro- y anti-angiogénicos y microARNs implicados en la regulación de la fibrosis renal (Figura 2) (ver revisión de Lan HY [22]).

Se ha demostrado que TGF- $\beta$ 1 media la progresión de fibrosis renal al estimular la producción e inhibir la destrucción de MEC [22, 25]. Además, se sugiere que TGF- $\beta$ 1 induce la expresión de la isoforma 4 de las NOX (isoforma 4 de NADPH oxidasa C) a través de Smad 3, desencadenando que las especies reactivas de oxígeno (ERO) induzcan la TEM (26) (Figura 2). Por otra parte TGF- $\beta$ 1 es reconocida como una citoquina anti-inflamatoria; se ha demostrado que TGF- $\beta$ 1 unido a LTBP, tiene un papel protector

en la inflamación renal, reduciendo la infiltración leucocitaria en modelos murinos de fibrosis renal [22, 27]. En cuanto a la angiogénesis, se ha demostrado que TGF- $\beta$ 1 es un modulador del desarrollo de los vasos sanguíneos durante la progresión de las enfermedades crónicas y el envejecimiento [22, 28, 29]. La tabla 1 resume algunos de los estudios que relacionan a TGF- $\beta$ 1 con el proceso de fibrosis renal y la tabla 2 describe posibles estrategias terapéuticas desarrolladas para inhibir su función.

TGF- $\beta$ 1 regula la expresión de cuatro familias de microARNs: miR-21, miR-200, miR-29 y miR-433, potentes moduladores de la TEM, del proceso de remodelación de la MEC y de la progresión de la fibrosis renal (ver revisiones Patel V. et al. [30], Srivastava S.P. et al. [31] y Lee H.M. et al. [32]) (Tabla 3). Los microARNs

Función de TGF- $\beta$ 1	Mecanismo involucrado	Modelo	Referencias
Induce la TEM de manera dosis dependiente	-	Cultivos de células epiteliales renales de rata	Fan et al., 1999 [25]
Induce la síntesis del factor pro-angiogénicos VEGF	vía Smad 3	Cultivos de células epiteliales tubulares renales de rata	Nakagawa et al., 2004 [28]
Induce la síntesis del factor anti-angiogénicos TSP-1	vía Smad 2		
Incremento del complejo TGF- $\beta$ 1-LTBP, protege frente a la inflamación y fibrosis renal	vía Smad 7	Modelo murino de fibrosis renal en glomerulonefritis rápidamente progresiva	Wang et al., 2008 [27]
Inducción el gen PAI-1	inhibe la proteólisis de la MEC	Modelo murino de fibrosis renal	Samarakoon et al., 2013 [35]
<p>TGF-<math>\beta</math>1: Factor de crecimiento transformante <math>\beta</math>1 (Transforming Growth Factor <math>\beta</math>1)            VEGF: Factor de crecimiento vascular endotelial. (Vascular Endothelial Growth Factor)            TSP -1: Trombospondina 1            TEM: Transición epitelio mesenquimal            MEC: Matriz extracelular            PAI 1: Inhibidor del activador del plasminógeno 1 (Plasminogen Activator Inhibitor - 1)</p>			

**Tabla 1.** Función de TGF- $\beta$ 1 en la fibrosis renal

Nombre	Tipo	Resultado	Modelo	Referencias
Fresolimumab	anticuerpo monoclonal humano contra TGF- $\beta$ 1	Enlentecimiento de la progresión de la fibrosis renal, con disminución de la proteinuria en 3 de 16 pacientes	Estudio en fase 1 de pacientes con glomeruloesclerosis focal y segmentaria sin respuesta al tratamiento convencional	Trachtman et al., 2011 [44]
Clorhidrato de glucosamina	glucosaminoglicano	Disminución de la TEM y de la acumulación de MEC	Ratones sometidos a UOU tratados sulfato de glucosamina	Park et al., 2013 [45]

TGF- $\beta$ 1: factor de crecimiento transformante  $\beta$ 1 (Transforming Growth Factor  $\beta$ 1)  
 TEM: Transición epitelio mesenquimal  
 MEC: Matriz extracelular  
 UOU: Uropatía obstructiva unilateral por ligadura del ureter

**Tabla 2.** Estrategias terapéuticas de la fibrosis renal con inhibidores de TGF- $\beta$ 1

microARN	Función	Mecanismo involucrado	Referencias
miR21	Profibrótica	induce un aumento en los niveles de colágeno tipo 1 y fibronectina, mediante la vía canónica de TGF $\beta$ 1	Godwin et al., 2010 [46] Zhong et al., 2011 [47]
miR433	Profibrótico	genera un mecanismo de retroalimentación positiva de TGF $\beta$ 1, amplificando su la señal	Li et al., 2013 [48]
miR200	Antifibrótica	Inhibe la vía canónica de TGF $\beta$ 1 Inhibe la TEM mediante la inhibición de factores de transcripción Zeb (un represor de E-cadherina).	Korpál et al., 2008 [49] Oba et al., 2010 [50] Xiong et al., 2012 [51]
miR29	Antifibrótico	reprime síntesis de colágeno tipo I y III inducida por TGF $\beta$ 1 en células epiteliales tubulares renales	Qin et al., 2011 [52]

miR: microARN

**Tabla 3.** Principales hallazgos acerca del rol de los microARN en la fibrosis renal

son pequeñas moléculas de ARN simple cadena no codificante (19-24 pares de bases) que inhiben la traducción o facilitan la degradación de ARN mensajeros (ARNm) diana. Sus secuencias

codificantes se localizan en el ADN y son inicialmente producidos por la ARN polimerasa II y III, este transcrito primario es procesado y trasladado al citoplasma donde continúa su pro-

Rol del Ang II	Mecanismo involucrado	Modelo	Referencias
Induce la expresión de colágeno tipo I	mediante la activación de la vía ERK/p38 de las MAPK	Cultivo de células epiteliales renales	Yang et al., 2009 [38]
Enlentece el desarrollo de ERC	Inhibición del receptor de angiotensina II, AT-1, mediante la administración de omelsartán (ARA II). Nota: el uso de un antihipertensivo diferente no aplacó el desarrollo de ERC	Modelo del "riñón remanente" en ratones	Leelahavanichkul et al., 2010 [53]
Aumenta la actividad de TGF-β1	Transactivación de EGFR mediada por Ang II por una vía no dependiente de ligando  Utilización del Enalapril (antihipertensivo que actúa como Inhibidor la Enzima Convertidora de la Ang II) disminuye la acción profibrótica de TGF-β1		Chen et al., 2012 [34]

SRAA: Sistema Renina Angiotensina Aldosterona  
 Ang II: Angiotensina II  
 ERC: Enfermedad renal crónica  
 ARAII: Antagonista del Receptor de Angiotensina II  
 AT-1: Receptor de Angiotensina 1  
 ERK 1/2 : Extracellular Signal-Regulated Kinases 1 y 2  
 MAP K: Mitogen Activated Protein Kinases  
 EGFR: Receptor del factor de crecimiento epitelial

**Tabla 4.** Rol del Sistema renina angiotensina aldosterona (SRAA) en la fibrosis renal

cesamiento hasta su madurez. Los microARN maduros forman un complejo con proteínas que les permite aparearse con su ARNm blanco y así silenciar la traducción de éste. Los microARN regulan aproximadamente 60% de los genes codificantes de proteínas en humanos [30, 31] y son órgano-específicos. Un estudio reciente presentado por Chung y colaboradores propone que, tanto la sobreexpresión de miR-29, así como la inhibición de miR-21, podrían servir como futuras terapias contra la fibrosis renal [33]. Estos autores exploran el rol de Smad 7, un inhibidor del complejo Smad 2/Smad 3, cuya sobreexpresión bloquea la

inhibición de miR-29 e inhibe la estimulación de miR-21 [33], convirtiéndose en un potencial blanco terapéutico.

Otras cascadas que promueven el avance de la fibrosis renal son las activadas por el receptor del factor de crecimiento epidérmico (epidermal growth factor receptor, EGFR) [34, 35], demostrándose que la cascada del EGFR es necesaria para la expresión de genes profibróticos inducidos por TGF-β1 en ciertos modelos de fibrosis renal murinos [35]. Samarakoon y colaboradores demostraron que TGF-β1 transactiva a EGFR mediante la producción de ERO y la subsecuente

	Resultado	Modelo	Referencias
Descubrimiento de Klotho	La inhibición de su expresión genera fenotipos de envejecimiento prematuro	Ratones	Kuro-o et al., 1997 [54]
	Efecto antienvjecimiento en mamíferos, extendiendo expectativa de vida.	Sobreexpresión de Klotho en ratones transgénicos	Kurosu et al., 2005 [55]
Efecto de Klotho en la fibrosis renal	Inducción de la expresión de Klotho disminuye la fibrosis renal.	Ratones a los que se les induce glomerulonefritis	Haruna et al., 2007 [56]
	La administración de Klotho soluble disminuye la fibrosis túbulo intersticial	Inyección de Klotho soluble exógeno a ratones con UOU	Doi et al., 2011 [57]
	Klotho soluble se une a TGFβRII e inhibe la formación del complejo TGFβRII-TGFβRI, inhibiendo la inducción de la TEM y la fibrosis renal		
	La deficiencia de este gen aumenta la sensibilidad al daño renal luego de una injuria	Ratones KO para el gen Klotho	Hu et al., 2013 [58]

UOU: Uropatía obstructiva unilateral por ligadura del ureter  
TGFβRII: Receptor II de TGFβ  
TGFβRI: Receptor I de TGFβ  
TEM: Transición epitelio mesenquimal  
KO: Knockout

**Tabla 5-** El descubrimiento de Klotho y su rol en la fibrosis renal.

activación de la tirosinquinasa c-Src, que fosforila a EGFR, induciendo así la casacada de señalización mitogénica (mitogen activated protein kinases, MAPK [26]) (Figura 2).

Existen fuertes evidencias de que la angiotensina II (AngII) está involucrada en el desarrollo de la mesangioesclerosis y la fibrosis glomerular, sobre todo durante la ERC avanzada [36]. Nuevamente, TGF-β1 adquiere un papel protagónico, demostrándose que la Ang II estimula la vía canónica de TGF-β1 independientemente del ligan-

do, mediante la activación de las MAPKs: p38 y ERK1/2 (extracellular signal-regulated kinases 1 y 2, ERK1/2) [34, 36-39] (Figura 2). A su vez, mediante la producción de ERO y la subsecuente fosforilación de c-Src, la Ang II transactiva la cascada de EGFR de manera independiente de su ligando, induciendo así la vía de las MAPK y la progresión de la fibrosis túbulointersticial [34, 36-39] (Figura 2). Además, el aumento de la actividad de TGFβ-1 produce ERO, que activa c-Src produciendo así un círculo vicioso que

autoperpetua la fibrogénesis renal [34]. En la tabla 4 se resumen los principales hallazgos respecto a la vía de la Ang II y su relación con la fibrosis renal.

Los modelos hasta ahora mencionados en los estudios de las cascadas moleculares que modulan la fibrosis renal, se basan en la inducción de la ERC a través de distintos mecanismos patogénicos (modelos de diabetes, hipertensión y uropatía obstructiva unilateral). Sin embargo, la fibrosis renal también es un fenómeno del envejecimiento y, como tal, es importante conocer qué mecanismos vinculan a ambos sucesos. Dentro de los factores genéticos, Kuro-o y colegas en 1997 identificaron a Klotho como un gen anti-envejecimiento, debido a que la inhibición de su expresión lleva a fenotipos de envejecimiento prematuro en ratones (Tabla 5). La familia de proteínas Klotho consiste en tres proteínas transmembrana (a-, b- y g- Klotho). Específicamente, a-Klotho se expresa predominantemente en las células epiteliales del túbulo contorneado distal y proximal. El dominio extracelular puede ser clivado, lo cual hace que Klotho exista en dos isoformas: una secretada produciendo efectos sistémicos, y otra de transmembrana, que actúa como correceptor del factor de crecimiento de fibroblastos 23 (fibroblast growth factor 23, FGF 23) (ver revisión de Dermaku-Sopjani M.D. et al [40]). La Tabla 5 muestra los principales hallazgos sobre el rol de Klotho en la fibrosis renal. Se han estudiado varios factores capaces de aumentar la actividad de Klotho en el riñón y frenar el proceso de fibrosis renal, entre ellos se encuentran la activación de receptores gamma por los peroxisoma [41], la restricción del fosfato urinario [42] e inhibición del eje Ang II que favorece la estimulación de Klotho y disminuye el estrés oxidativo [43].

## Conclusiones

La enfermedad renal crónica es la consecuencia final de varias patologías renales, cuya incidencia va en aumento debido, en parte al envejecimiento de la población a nivel mundial. Dado el carácter

evolutivo de la falla renal terminal que presenta la fibrosis renal, se hace necesario el estudio de su patogenia y las distintas formas de influir en ella para detener o enlentecer este proceso. La fibrosis renal podría verse no sólo como el depósito de matriz extracelular en el intersticio sino también como producto de una serie de transformaciones celulares que genera un círculo vicioso que perpetúa la fibrosis. Es interesante el estudio del reclutamiento y la activación de fibroblastos, paso fundamental en la formación de fibrosis túbulo intersticial. De las vías moleculares implicadas en estos procesos, la vía TGF- $\beta$ 1/Smad es la más estudiada en el proceso de fibrosis renal. Esta vía, junto con su interacción con otras, como la de la AngII y el EGFR, modula la expresión de genes pro y anti-fibróticos. Estas interacciones hacen de la base molecular de este proceso, una compleja red de vías de señalización, cuyo estudio detallado es necesario para la creación de terapias que puedan frenar o enlentecer la fibrosis. Destacamos que muchos de los modelos de fibrosis renal utilizados son desencadenados por situaciones patológicas, las cuales, si bien acompañan frecuentemente al envejecimiento, no siempre están presentes. Creemos que utilizar modelos más representativos del envejecimiento junto con el estudio de Klotho podría permitir una mejor aproximación respecto al efecto del envejecimiento en la fibrosis renal.

## Referencias

1. González Bedat C, Ferreiro Fuentes A, Schwedt Celiberti E. Registro Uruguayo de Diálisis (RUD). Informe anual 2011 [Internet]. Montevideo: RDU; 2013 [consultado 2015 set 25]. Disponible en: <http://nefrouruguay.com/wp-content/uploads/2013/06/RU-Dinforme2011pdf.pdf>
2. Pellegrino A, Cabella W, Paredes M, Pollero R, Varela C. De una transición a otra: la dinámica demográfica en el Uruguay del siglo XX. En: Nahum B, director. El Uruguay del siglo XX. La Sociedad. Montevideo: Banda

- Oriental; 2008. p.13-35.
3. Chackiel J. La dinámica demográfica en América Latina [Internet]. Santiago de Chile: CEPAL; 2004 [consultado 2015 agos 31]. Disponible en: [http://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/7190/S045328\\_es.pdf?sequence=1](http://repositorio.cepal.org/bitstream/handle/11362/7190/S045328_es.pdf?sequence=1)
  4. Griffiths GJ, Robinson KB, Path MRC, Cartwright GO, McLachlan M. Loss of renal tissue in the elderly. *Br J Radiol.* 1976 Feb;49(578):111-17.
  5. McLachlan M, Wasserman P. Changes in sizes and distensibility of the aging kidney. *Br J Radiol.* 1981 Jun;54(642):488-91. <http://dx.doi.org/10.1259/0007-1285-54-642-488>
  6. Taal MW, Chertow GM, Marsden PA, Skorecki K, Lyu A, Brenner BM, editores. Brenner and Rector's the kidney. 9a ed. Philadelphia: Elsevier; 2012.
  7. Miletic D, Fuckar Z, Sustic A, Mozetic V, Stimac D, Zauhar G. Sonographic measurement of absolute and relative renal length in adults. *J Clin Ultrasound.* 1998 May;26(4):185-9. [http://dx.doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0096\(199805\)26:4<185::AID-JCU1>3.0.CO;2-9](http://dx.doi.org/10.1002/(SICI)1097-0096(199805)26:4<185::AID-JCU1>3.0.CO;2-9)
  8. Hoy WE, Douglas-Denton RN, Hughson MD, Cass A, Johnson K, Bertram JF. A stereological study of glomerular number and volume: preliminary findings in a multiracial study of kidneys at autopsy. *Kidney Int Suppl.* 2003 Feb;(83):S31-7. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1523-1755.63.s83.8.x>
  9. Kumar V, Abbas AK, Fausto N, Aster JC, editores. Robbins y Cotran. Patología estructural y funcional. 8a ed. Barcelona: Elsevier; 2010.
  10. Abrass CK, Adcox MJ, Raugi GJ. Aging-associated changes in renal extracellular matrix. *Am J Pathol.* 1995 Mar;146(3):742-52.
  11. Gagliano N, Arosio B, Santambrogio D, Balestrieri MR, Padoani G, Tagliabue J, et al. Age-dependent expression of fibrosis-related genes and collagen deposition in rat kidney cortex. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2000 Aug;55(8):B365-72. <http://dx.doi.org/10.1093/gerona/55.8.B365>
  12. Čukuranović R, Vljakovic S. Age related anatomical and functional characteristics of human kidney. *FU Med Biol.* 2005;12(2):61-9.
  13. Liu Y. Cellular and molecular mechanisms of renal fibrosis. *Nat Rev Nephrol.* 2011 Oct 18;7(12):684-96. <http://dx.doi.org/10.1038/nrneph.2011.149>
  14. Moser B, Willimann K. Chemokines: role in inflammation and immune surveillance. *Ann Rheum Dis.* 2004 Nov;63(Suppl 2):ii84-ii89. <http://dx.doi.org/10.1136/ard.2004.028316>
  15. Ko GJ, Boo CS, Jo SK, Cho WY, Kim HK. Macrophages contribute to the development of renal fibrosis following ischaemia/reperfusion-induced acute kidney injury. *Nephrol Dial Transplant.* 2008 Mar;23(3):842-52. <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfm694>
  16. Eardley S, Cockwell P. Macrophages and progressive tubulointerstitial disease. *Kidney Int.* 2005 Aug;68(2):437-55. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1523-1755.2005.00422.x>
  17. Tapmeier TT, Fearn A, Brown K, Chowdhury P, Sacks SH, Sheerin NS, et al. Pivotal role of CD4+ T cells in renal fibrosis following ureteric obstruction. *Kidney Int.* 2010 Aug;78(4):351-62. <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2010.177>
  18. Zeisberg M, Neilson EG. Mechanisms of tubulointerstitial fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 2010 Nov;21(11):1819-34. <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2010080793>
  19. Campanholle G, Ligresti G, Gharib SA, Duffield JS. Cellular mechanisms of tissue fibrosis. 3. Novel mechanisms of kidney fibrosis. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2013 Apr 1;304(7):C591-C603. <http://dx.doi.org/10.1152/ajpcell.00414.2012>
  20. Liu Y. New insights into epithelial-mesenchymal transition in kidney fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 2010 Feb;21(2):212-22. <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2008121226>

21. Li Y, Kang YS, Dai C, Kiss LP, Wen X, Liu Y. Epithelial-to-mesenchymal transition is a potential pathway leading to podocyte dysfunction and proteinuria. *Am J Pathol.* 2008 Feb;172(2):299–308. <http://dx.doi.org/10.2353/ajpath.2008.070057>
22. Lan HY. Diverse roles of TGF- $\beta$ /Smads in renal fibrosis and inflammation. *Int J Biol Sci.* 2011;7(7):1056–67.
23. Eddy AA. Progression in chronic kidney disease. *Adv Chronic Kidney Dis.* 2005 Oct;12(4):353-65. <http://dx.doi.org/10.1053/j.ackd.2005.07.011>
24. Liu Y. Epithelial to mesenchymal transition in renal fibrogenesis: pathologic significance, molecular mechanism, and therapeutic intervention. *J Am Soc Nephrol.* 2004 Jan;15(1):1-12. <http://dx.doi.org/10.1097/01.ASN.0000106015.29070.E7>
25. Fan JM, Ng YY, Hill PA, Nikolic-Paterson DJ, Mu W, Atkins RC, et al. Transforming growth factor-beta regulates tubular epithelial-myofibroblast transdifferentiation in vitro. *Kidney Int.* 1999 Oct;56(4):1455-67. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1523-1755.1999.00656.x>
26. Samarakoon R, Overstreet JM, Higgins PJ. TGF-beta signaling in tissue fibrosis: redox controls, target genes and therapeutic opportunities. *Cell Signal.* 2013 Jan;25(1):264-8. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cellsig.2012.10.003>
27. Wang W, Huang XR, Li AG, Liu F, Li JH, Truong LD, et al. Signaling mechanism of TGF-beta1 in prevention of renal inflammation: role of Smad7. *J Am Soc Nephrol.* 2005 May;16(5):1371-83. <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2004121070>
28. Nakagawa T, Li JH, Garcia G, Mu W, Piek E, Ttinger E, et al. TGF-b induces proangiogenic and antiangiogenic factors via parallel but distinct Smad pathways. *Kidney Int.* 2004 Aug;66(2):605-13. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1523-1755.2004.00780.x>
29. Bertolino P, Deckers M, Lebrin F, ten Dijke P. Transforming growth factor-beta signal transduction in angiogenesis and vascular disorders. *Chest.* 2005 Dec;128(6 Suppl):585S-590S. [http://dx.doi.org/10.1378/chest.128.6\\_suppl.585S](http://dx.doi.org/10.1378/chest.128.6_suppl.585S)
30. Patel V, Noureddine L. MicroRNAs and fibrosis. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2012;21(4):410-6. <http://dx.doi.org/10.1097/MNH.0b013e328354e559>
31. Srivastava SP, Koya D, Kanasaki K. MicroRNAs in kidney fibrosis and diabetic nephropathy: roles on EMT and EndMT. *Biomed Res Int.* 2013;2013:125469. <http://dx.doi.org/10.1155/2013/125469>
32. Lee HM, Nguyen DT, Lu LF. Progress and challenge of microRNA research in immunity. *Front Genet.* 2014 Jun 12;5:178. <http://dx.doi.org/10.3389/fgene.2014.00178.eCollection2014>.
33. Chung AC, Dong Y, Yang W, Zhong X, Li R, Lan HY. Smad7 suppresses renal fibrosis via altering expression of TGF-beta/Smad3-regulated microRNAs. *Mol Ther.* 2013 Feb;21(2):388-98. <http://dx.doi.org/10.1038/mt.2012.251>
34. Chen J, Chen JK, Nagai K, Plieth D, Tan M, Lee TC, et al. EGFR signaling promotes TGFbeta-dependent renal fibrosis. *J Am Soc Nephrol.* 2012 Feb;23(2):215-24. <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2011070645>
35. Samarakoon R, Dobberfuhr AD, Cooley C, Overstreet JM, Patel S, Goldschmeding R, et al. Induction of renal fibrotic genes by TGF- $\beta$ 1 requires EGFR activation, p53 and reactive oxygen species. *Cell Signal.* 2013 Nov;25(11):2198-209. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cellsig.2013.07.007>
36. Luzardo L, Seija M, Gadola L. Insuficiencia renal aguda. En: Boggia J, Bianchi S, Noboa O, Gadola L, Brida A, Hurtado J, coordinadores. *Fisiopatología. 2. 2a ed.* Montevideo: Oficina del Libro - FEFMUR; 2011. p. 217-309.
37. Rodríguez-Vita J, Sánchez-López E, Esteban V, Rupérez M, Egido J, Ruiz-Ortega M. An-

- giotensin II activates the Smad pathway in vascular smooth muscle cells by a transforming growth factor-beta-independent mechanism. *Circulation*. 2005;111(19):2509-17. <http://dx.doi.org/10.1161/01.CIR.0000165133.84978.E2>
38. Yang F, Chung AC, Huang XR, Lan HY. Angiotensin II induces connective tissue growth factor and collagen I expression via transforming growth factor-beta-dependent and -independent Smad pathways: the role of Smad 3. *Hypertension*. 2009;54(4):877-84. <http://dx.doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.109.136531>
39. Wang W, Huang XR, Canlas E, Oka K, Truong LD, Deng C, et al. Essential role of Smad 3 in angiotensin II-induced vascular fibrosis. *Circ Res*. 2006 Apr 28;98(8):1032-9. <http://dx.doi.org/10.1161/01.RES.0000218782.52610.dc>
40. Dermaku-Sopjani M, Kolgeci S, Abazi S, Sopjani M. Significance of the anti-aging protein Klotho. *Mol Membr Biol*. 2013 Dec;30(8):369-85. <http://dx.doi.org/10.3109/09687688.2013.837518>
41. Zhang H, Li Y, Fan Y, Wu J, Zhao B, Guan Y, et al. Klotho is a target gene of PPAR-gamma. *Kidney Int*. 2008 Sep;74(6):732-9. <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2008.244>
42. Tsujikawa H, Kurotaki Y, Fujimori T, Fukuda K, Nabeshima Y. Klotho, a gene related to a syndrome resembling human premature aging, functions in a negative regulatory circuit of vitamin D endocrine system. *Mol Endocrinol*. 2003 Dec;17(12):2393-403. <http://dx.doi.org/10.1210/me.2003-0048>
43. Yoon HE, Ghee JY, Piao S, Song JH, Han DH, Kim S, et al. Angiotensin II blockade upregulates the expression of Klotho, the anti-ageing gene, in an experimental model of chronic cyclosporine nephropathy. *Nephrol Dial Transplant*. 2011;26(3):800-13. <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfq537>