

## Trabajo Fin de Grado

Productos finales de glicosilación avanzada:  
efectos sobre el túbulo proximal renal y  
aplicación clínica

Advanced glycation end-products: effects on  
the kidney proximal tubule and clinical  
approach

Autor

Pablo Lozano Martínez

Director

Ignacio Giménez López

Facultad de Medicina  
2020-2021

# ÍNDICE

---

Índice .....	2
1 Resumen .....	3
2 Abstract .....	4
3 Introducción .....	5
4 Material y métodos .....	7
5 Resultados .....	8
5.1 AGEs .....	8
5.1.1 ¿Qué son los AGEs? .....	8
5.1.2 Efectos de los AGEs en el túbulo proximal: Receptor de AGEs (RAGE).....	11
Receptor de AGEs o RAGE .....	12
5.1.3 Consecuencias de la activación del RAGE .....	14
5.1.4 Otros efectos no RAGE-dependientes.....	18
5.2 AGEs y endotelio tubular en la progresión de la ND.....	19
5.3 Transición epitelial-mesenquimal y fibrosis tubulointersticial .....	20
5.4 Aplicación clínica .....	21
5.4.1 AGEs como predictores de progresión a ND.....	21
5.4.2 Posibles dianas terapéuticas .....	22
6 Discusión .....	26
7 Conclusiones.....	28
8 Bibliografía .....	29
Anexos.....	33

# 1 RESUMEN

---

Los productos de glicosilación avanzada (AGEs) son unas moléculas que se forman mediante reacciones no enzimáticas de glicación y oxidación de proteínas, a través de un proceso conocido como reacción de Maillard. En condiciones de hiperglucemia como la Diabetes Mellitus (DM) su producción se ve incrementada. Se ha demostrado que los AGEs son capaces de producir daño en el túbulo proximal renal (TP), estructura cada vez más estudiada en relación con el desarrollo de nefropatía diabética (ND).

Entre los distintos mecanismos fisiopatológicos de los AGEs sobre el TP destaca su interacción con el receptor de AGEs (RAGE). De esta forma se van a activar distintas vías de señalización intracelular, que van a provocar un incremento del estrés oxidativo, traslocación nuclear del NF- $\kappa$ B y expresión de factores proinflamatorios y profibróticos como el factor de crecimiento transformante B (TGF- $\beta$ ), factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF) y otras citocinas. Además, las mayores concentraciones de AGEs y su acúmulo tisular van a ejercer un efecto directo sobre las proteínas de la matriz extracelular (MEC) entre las que destaca el colágeno, produciendo el llamado entrecruzamiento o "crosslinking". También alterarán la actividad del retículo endoplasmático (RE) y el manejo de las proteínas de la célula. El endotelio de los vasos peritubulares también va a verse afectado, principalmente al alterar la vía de producción del NO y el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF). Como consecuencia, el riñón va a sufrir el proceso de transición epitelial-mesenquimal (EMT) y finalmente evolucionará a fibrosis, la vía última del daño renal. Viendo la importancia de los AGEs, se ha propuesto emplearlos junto con la porción soluble del RAGE (sRAGE) como factor predictor de la evolución hacia ND.

Se han descrito numerosas intervenciones terapéuticas que podrían frenar los efectos de los AGEs. Entre ellas, podemos destacar elementos enfocados en prevenir la formación e inhibir la acción de los AGEs (principalmente antioxidantes, intervenciones dietéticas y los conocidos como "AGE-breakers"), moduladores directos del RAGE (como los aptámeros y el FPS-ZM1), anticuerpos monoclonales anti-TGF- $\beta$ 1 y otros fármacos ya conocidos como inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs) y antagonistas del receptor de angiotensina II (ARA II).

**Palabras clave:** Productos finales de glicación avanzada; Nefropatía diabética; Túbulos renales proximales; Receptor para productos finales de glicación avanzada; Fibrosis renal.

## 2 ABSTRACT

---

Advanced glycation end-products (AGEs) are molecules formed by non-enzymatic glycation and oxidation reactions of proteins through the reaction known as “Maillard reaction”. In hyperglycaemia conditions such as Diabetes Mellitus (DM) their production is increased. AGEs have been proved to be able to cause injury in the kidney proximal tubule (TP), a structure increasingly studied for involvement in the progression of diabetic nephropathy (ND).

Among the different physiopathological mechanisms of AGEs on the TP, their interaction with the AGEs receptor (RAGE) holds great importance. This interaction leads to the activation of several intracellular signalling pathways, causing an increase in oxidative stress, nuclear translocation of NF- $\kappa$ B and expression of proinflammatory and profibrotic factors, such as transforming growth factor B (TGF-B), connective tissue growth factor (CTGF) and other cytokines. Besides, AGEs accumulation and higher concentration has a direct effect on extracellular matrix proteins (MEC), producing collagen crosslinking, and the activity of the endoplasmic reticulum (RE) and the cell's protein management. The peritubular vascular endothelium is also affected, mainly through the alteration of NO production and expression of vascular endothelium growth factor (VEGF). As a result, the kidney will suffer the epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) and will finally progress to fibrosis, the ultimate kidney damage pathway. Considering the relevance of AGEs, they have been proposed -besides the soluble portion of RAGE (sRAGE), as a predictor of ND progression.

A great number of possible therapeutic interventions modulating AGEs effects have been studied. On the one hand, we have some products capable of preventing or inhibiting AGEs, such as dietary antioxidants, diet interventions and AGE-breakers. On the other hand, direct RAGE modulators (such as aptamers and FPS-ZM1), anti-TGF-B1 antibodies or the well-known angiotensin converting enzyme inhibitors (IECAs) and angiotensin II receptor antagonists (ARA II) could also have beneficial effects.

**Key words:** Advanced glycation end products; Diabetic nephropathy; Proximal kidney tubules;; Receptor for advanced glycation end products; Renal fibrosis.

## 3 INTRODUCCIÓN

---

### Enfermedad renal crónica

La **enfermedad renal crónica (ERC)** supone uno de los principales problemas de salud a nivel mundial y nacional. En España, se calcula que su prevalencia se encuentra en torno al 15,1% (1), incrementándose con la edad y siendo hasta tres veces más prevalente en varones que en mujeres.

La ERC supone un gran gasto de recursos sanitarios y se traduce en un gran aumento de morbimortalidad cardiovascular y mortalidad global en los pacientes que la padecen (llegando a requerir en un 1% terapia renal sustitutiva, que además de suponer un 5% del presupuesto de los sistemas sanitarios, se traduce en una importante disminución de la esperanza y calidad de vida de estos pacientes) (1).

Por estos motivos, es de especial importancia su detección precoz y tratamiento, ya que la prevención de su progresión a estadios más avanzados supone una gran serie de ventajas para los pacientes que sufran esta patología.

### Nefropatía diabética

Dentro de las principales causas de ERC encontramos la **nefropatía diabética (ND)**, responsable del 30-47% de los casos de ERC (2). La incidencia de Diabetes Mellitus tipo 2 (DM2) se está incrementando a nivel mundial a un ritmo alarmante, y de forma paralela lo hacen sus complicaciones, entre las que se encuentran, además de la ND, la retinopatía diabética, neuropatía diabética y otros problemas vasculares. Según algunas estimaciones, unos 382 millones de personas padecen diabetes mellitus (DM), y se calcula que para el año 2035 este número podría aumentar hasta los 592 millones (3). En estos pacientes, la ND es la principal causa de ERC avanzada (hasta un 40% de pacientes con DM tanto tipo 1 como tipo 2 la desarrollarán en el futuro).

El diagnóstico de la ND es clínico, principalmente mediante la detección de una disminución del filtrado glomerular (empleando fórmulas como el CKD-EPI) y/o la presencia de proteinuria (medida con el cociente albúmina/creatinina) de forma persistente. Aunque generalmente se desarrolla tras años de evolución de la DM, es cierto que, en muchos pacientes, sobre todo con DM2, puede estar presente desde el momento del diagnóstico (4).

El resultado final de la ND conduce a la fibrosis renal mediante distintos mecanismos: cambios hemodinámicos, isquemia, alteraciones del metabolismo de la glucosa asociadas a incrementos del estrés oxidativo, procesos inflamatorios e hiperactividad del sistema renina-angiotensina-aldosterona (3).

### Papel del Túbulo proximal renal

De forma clásica se ha puesto el foco en el glomérulo como principal causante de la ND mediante alteraciones de la membrana basal glomerular y el mesangio. Sin embargo, en los últimos años se está estudiando además el papel que juega el **túbulo proximal renal (TP)** en la evolución de la ND. Aunque la importancia del daño glomerular es innegable en la patogénesis de la ND, se ha demostrado que no es el único determinante de la progresión del daño renal en la ND. En la ND, el TP desarrolla una serie de cambios entre los que se encuentran la atrofia tubular, fibrosis

intersticial y rarefacción capilar peritubular, que se han relacionado estrechamente con el empeoramiento de la función renal (5).

En el TP se llevan a cabo una serie de mecanismos de adaptación y regulación para mantener una correcta homeostasis. Cuando alguno de estos procesos se ve alterado, se ponen en marcha mecanismos que tendrán como consecuencia un proceso de daño renal, maladaptación y reparación, evolucionando hacia la fibrosis. Mediante activación celular se producen una serie de mediadores inflamatorios y fibrogénicos que favorecerán la transición epitelial-mesenquimal (EMT), además de otra serie de mecanismos de retroalimentación tubuloglomerular (entre los que se encuentra el mononucleótido de nicotinamida o NMN, que produce daño en los podocitos, o el eje renina-angiotensina-aldosterona) y otra serie de cambios metabólicos. De esta forma queda en evidencia la importancia del TP en la progresión de la ERC (6).

Entre los factores implicados en la progresión de la ND se encuentra la formación de productos finales de glicosilación avanzada (AGEs). El TP es un importante sitio de acción de los AGEs, siendo la principal localización en la cual son reabsorbidos una vez filtrados en el glomérulo. Estos van a tener una serie de efectos sobre las células del TP, entre las que se encuentran la regulación de distintas proteínas, la activación de numerosos mediadores celulares o la producción de factores de inflamación, favoreciendo de esta forma al modelo de daño propuesto sobre esta localización (3). Por tanto, al conocer los mecanismos mediante los cuales los AGEs provocan este efecto, podrían proponerse nuevos mecanismos terapéuticos para la ND.

### **Papel del endotelio vascular en el daño renal**

El endotelio vascular es un elemento que también tiene un papel de gran importancia en la patogenia de la ND. Por su estrecha relación con el TP y el resto de las estructuras del riñón, separar su estudio a la hora de entender esta patología sería ciertamente artificial.

Por un lado, en el ovillo capilar glomerular se puede observar un aumento en la permeabilidad endotelial y alteración del glucocálix, provocando un hiperfiltrado glomerular, que acaba evolucionando en apoptosis endotelial, engrosamiento de la membrana basal y glomeruloesclerosis. Por otro lado, las células endoteliales de la red de capilares peritubulares también van a ver alterada su permeabilidad, afectando a su función de secreción y reabsorción de sustancias, y llevando a la atrofia y fibrosis tubular.

Las alteraciones descritas en el párrafo anterior se producen por distintos mecanismos: se ha visto que tanto la hiperglucemia como los AGEs afectan a la síntesis de factores como el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), promueven la formación de factor de crecimiento transformante B (TGF-B), reducen la formación de NO y aumentan la producción de especies reactivas del oxígeno (ROS), favoreciendo de forma global la inflamación y la transición a fibrosis, entre otros (7).

### **Objetivo de este estudio**

Teniendo en cuenta lo expuesto anteriormente, el objetivo de este estudio se basa en describir los mecanismos implicados en el daño que producen los AGEs sobre el TP como vía de progresión hacia la ND, y valorar posibles aplicaciones clínicas y terapéuticas que puedan ser útiles para evitar su aparición y progresión.

## 4 MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se ha llevado a cabo una revisión sistemática de la bibliografía sobre el tema empleando la base de datos PubMed. También fueron de ayuda a la hora de acceder a las publicaciones los recursos facilitados por el portal de la Biblioteca de la Universidad de Zaragoza y el portal Dialnet de la Universidad de La Rioja.

He estructurado la búsqueda de la siguiente manera:

- Una primera fase de búsqueda de revisiones sistemáticas ya existentes publicadas en los últimos 5 años.
- Una segunda fase de lectura de la bibliografía incluida en las revisiones de la primera fase.
- Una tercera fase de búsqueda de artículos originales recientes.
- Una cuarta fase de lectura e integración de los artículos seleccionados.

Para esta labor se han empleado los siguientes **términos relevantes o palabras clave**: “AGEs”, “Advanced glycation end-products”, “Kidney”, “Proximal Tubule”, “Receptor for Advanced Glycation End Products”, “Epithelial-Mesenchymal Transition” y “Extracellular Matrix Proteins”. Para traducirlos al lenguaje controlado, se empleó la plataforma MeSH, quedando recogido en la siguiente tabla (**Tabla 1**).

**Tabla 1** Palabras clave empleadas en la búsqueda bibliográfica

Lenguaje libre	DeCS	MeSH
Productos Finales de Glicación Avanzada /AGEs	Español: Productos Finales de Glicación Avanzada Inglés: “Glycation End Products, Advanced”	“Glycation End Products, Advanced”
Riñón	Español: Riñón Inglés: “Kidney”	“Kidney”
Túbulo renal proximal	Español: Túbulos Renales Proximales Inglés: “Kidney Tubules, Proximal”	“Kidney Tubules, Proximal”
Receptor para Productos Finales de Glicación Avanzada /RAGE	Español: Receptor para Productos Finales de Glicación Avanzada Inglés: “Receptor for Advanced Glycation End Products”	“Receptor for Advanced Glycation End Products”
Transición epitelial-mesenquimal	Español: Transición Epitelial-Mesenquimal Inglés: “Epithelial-Mesenchymal Transition”	“Epithelial-Mesenchymal Transition”
Proteínas de la matriz extracelular	Español: Proteínas de la Matriz Extracelular Inglés: “Extracellular Matrix Proteins”	“Extracellular Matrix Proteins”

*DeCS: Descriptores en Ciencias de la Salud. MeSH: Medical Subject Headings*

Los criterios de selección de los estudios fueron los siguientes: idiomas inglés y español y límite temporal de publicación en los últimos 10 años. En la búsqueda empleé tanto términos de lenguaje libre como MeSH, combinándolos con operadores booleanos AND y OR.

Las búsquedas realizadas fueron las siguientes (**Tabla 2**):

**Tabla 2 Búsquedas realizadas**

Búsqueda	Filtros	Resultados
“(advanced glycation end-products) AND (proximal tubule)”	Últimos 5 años Revisiones	2
	Últimos 10 años Revisiones	3
“(advanced glycation end-products) AND (kidney)”	Últimos 5 años Revisiones	86
("Glycation End Products, Advanced"[Mesh]) AND "Kidney Tubules, Proximal"[Mesh]	Últimos 5 años	8
	Últimos 10 años	24
("Kidney Tubules, Proximal"[Mesh]) AND "Receptor for Advanced Glycation End Products"[Mesh]	Últimos 5 años	3
	Últimos 10 años	12
(("Glycation End Products, Advanced"[Mesh]) OR "Receptor for Advanced Glycation End Products"[Mesh]) AND "Epithelial-Mesenchymal Transition"[Mesh]	Últimos 5 años	15
	Últimos 10 años	31
Mesh ("Glycation End Products, Advanced"[Mesh]) AND "Extracellular Matrix Proteins"[Mesh]	Últimos 5 años	91
("Receptor for Advanced Glycation End Products/pharmacology"[Mesh]) AND "Kidney"[Mesh]	Últimos 10 años	9

Además de estas búsquedas, también fue de utilidad la función de PubMed de “artículos similares” para ampliar los artículos utilizados.

Para seleccionar la bibliografía que pudiese resultar de interés, primero hice una selección según el título y posteriormente revisé los resúmenes y la introducción de los artículos seleccionados, empleando el gestor bibliográfico “Mendeley”.

## 5 RESULTADOS

---

### 5.1 AGES

#### 5.1.1 ¿Qué son los AGes?

Los **AGES** son una serie de moléculas que se generan mediante reacciones no enzimáticas de glicación y oxidación de proteínas. Estos productos se forman en nuestro organismo de forma habitual en individuos sanos. Sin embargo, se ha visto que su producción se encuentra incrementada en sujetos con DM (8).

Los AGes se crean mediante la conocida como **reacción de Maillard**. Esta consiste en la reacción entre el grupo carbonilo de un azúcar reductor y el grupo amino libre de una proteína. La reacción emplea generalmente la glucosa, aunque otros glúcidos como la fructosa, galactosa, manosa y xilulosa pueden estar involucrados. Este es un dato de importancia, ya que en los sujetos con DM la glucosa (y no otros azúcares) se encuentra elevada, facilitando la formación de AGes.

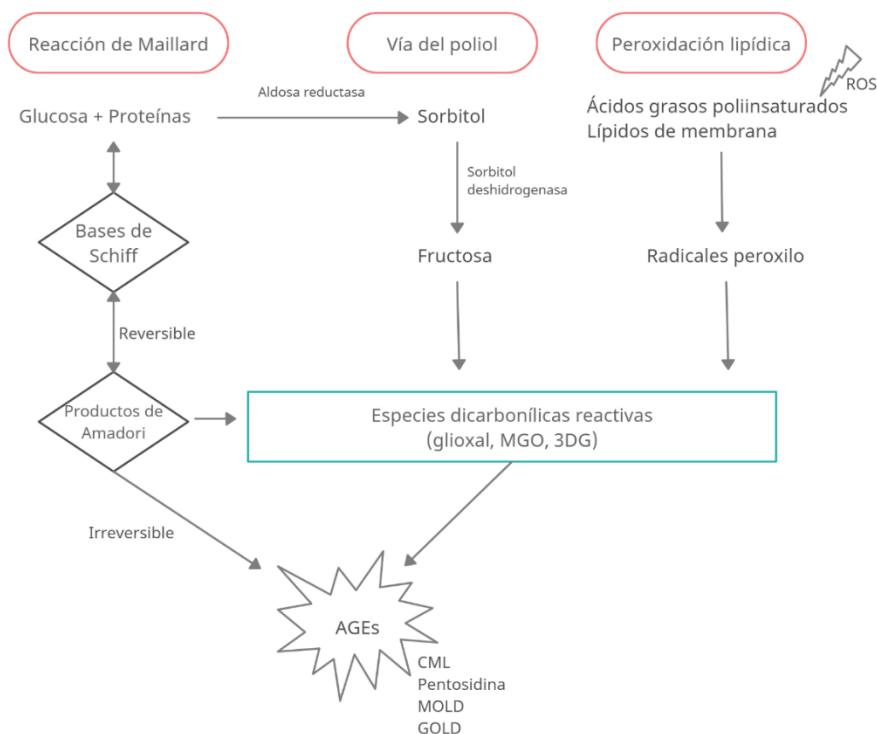


Mediante esta reacción, que es reversible, se forman bases de Schiff inestables. Con el paso del tiempo (semanas), estos compuestos forman los productos de Amadori, que son más estables, también de forma reversible. Finalmente, con el paso de meses o años, estos productos formarán los AGEs, muy estables, de una forma ya irreversible (9). Algunos de ellos son la carboximetil lisina (CML), pentosidina, 2-(2-furoyl)-4(5)-furanil-1H-imidazolona, dímero glioxal-lisina (GOLD), dímero metilglioxal-lisina (MOLD), entre otros.

Además de esta vía, mediante la degradación oxidativa de los productos de Amadori se pueden llegar a formar especies dicarbonílicas reactivas como el glioxal, metilglioxal (MGO) y 3-desoxiglucosona (3DG), que son capaces de reaccionar con grupos amino libres de otras proteínas formando productos de glicosilación intermedia, que a su vez terminarán formando de forma irreversible AGEs (10).

Estas especies dicarbonílicas que derivan de la glucosa son muy reactivas, por lo que se han descrito como los intermediarios precursores de la mayoría de AGEs. Dentro de estas, el MGO va a ser el más reactivo de todas. Mediante la modificación de residuos proteicos, va a producir AGEs derivados del MGO, principalmente modificando los aminoácidos arginina y en menor medida lisina (11).

Las proteínas no son los únicos sustratos susceptibles para transformarse en AGEs, ya que los ácidos nucleicos y lípidos pueden sufrir el mismo destino. Además de esta vía no enzimática, también se han descrito reacciones alternativas mediante las cuales se producen AGEs como productos finales, entre las que se encuentran la **vía del polirol y la peroxidación lipídica**. En la vía del polirol, la glucosa va a pasar a sorbitol por acción de la aldosa reductasa. La sorbitol deshidrogenasa transforma el sorbitol en fructosa, y esto acabará formando especies dicarbonílicas reactivas, que terminarán formando AGEs. Por otro lado, mediante la vía de peroxidación lipídica, los ácidos grasos poliinsaturados y lípidos de membrana van a formar radicales peroxilo (principalmente por la acción de ROS y metales), produciendo también compuestos dicarbonílicos (12). Estas reacciones quedan recogidas en la **Figura 1**.



**Figura 1 Mecanismos de formación de AGEs**

Además de esta formación endógena, también puede haber una **incorporación exógena de AGEs** al organismo a través de los alimentos de nuestra dieta. Aproximadamente, entre el 10 y el 30% de los AGEs y productos de Amadori se absorben en el intestino. Los distintos tipos de alimentos no van a tener la misma cantidad de AGEs. Por un lado, los alimentos grasos y carnes, con mayor cantidad de lípidos y proteínas, van a tener mayor probabilidad de presentar concentraciones de AGEs más altas. Estas presentan mayores cantidades de lisina y arginina que, entre otros, van a ser objetivos favorables de glicación. Por el contrario, vegetales como las legumbres, frutas, cereales y verduras, a pesar de tener altas concentraciones de carbohidratos, contendrían menores cantidades de AGEs. También influye la técnica de cocinado, ya que tanto la temperatura como la humedad empleada van a afectar a la formación de AGEs, siendo esta mayor al emplear temperaturas más altas y menor humedad. El tipo de carbohidratos presentes también parece tener relación, ya que se ha visto que la fructosa es hasta 8-10 veces más reactiva que la glucosa (13).

### **Defensa frente a la glicación**

Los AGEs son en parte eliminados por vía urinaria, pero además de este mecanismo, los niveles de AGEs en el organismo van a ser controlados mediante dos sistemas: enzimas antiglicativas o sistema glioxalasa y aclaramiento mediante el receptor de superficie de AGEs (AGER).

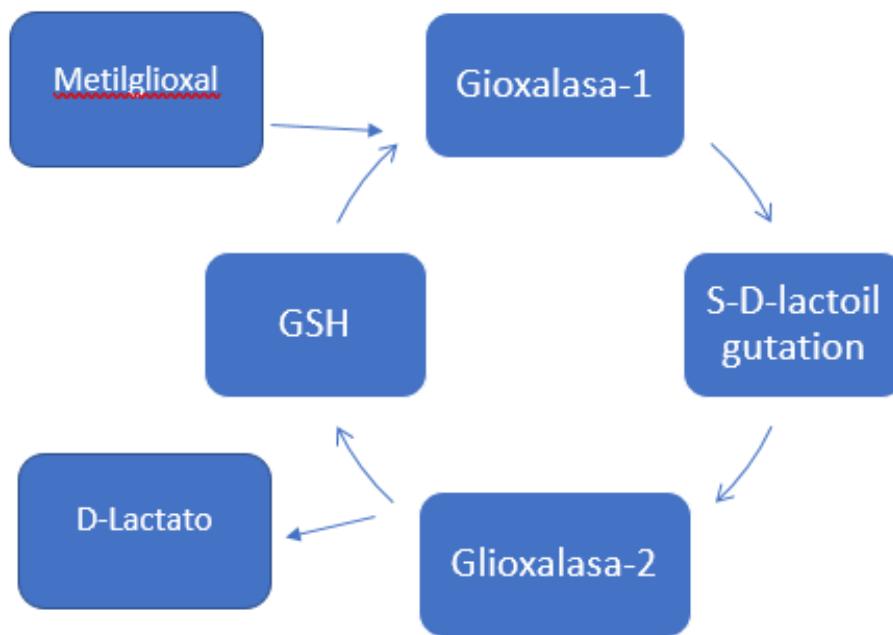
Tanto el equilibrio en la formación de AGEs como su filtrado glomerular y excreción por orina pueden verse alterados en la DM. Por ejemplo, la propia formación de AGEs puede verse aumentada en condiciones de hiperglucemia o al disminuir la actividad de las enzimas antiglicativas (la actividad de estas enzimas se puede alterar por condiciones como el propio envejecimiento o el estrés oxidativo). Además de esto, con el deterioro de la función renal que se ve en la ND, precursores de AGEs como el MGO y 3DG se van a poder acumular en el organismo. Siguiendo cualquiera de estas vías, lo que vamos a tener al final es un aumento del estrés glicativo y como consecuencia final un acúmulo de AGEs (14).

El principal sistema enzimático de defensa contra el estrés glicativo es el **sistema glioxalasa**. Se trata de un sistema presente en el citoplasma de todas las células de mamíferos, y va a convertir el MGO en D-lactato, eliminando este importante precursor de AGEs. Consta de tres elementos:

- Glioxalasa-1 o GLO1: expresado en todos los organismos eucariotas y procariotas.
- Glioxalasa-2 o GLO2: presente en casi todos los organismos vivos, excepto algunos mamíferos.
- Glutation reducido (GSH), necesario como cofactor.

En condiciones normales, casi la totalidad del MGO se metaboliza mediante este sistema (**Figura 2**). Niveles aumentados de MGO o disfunción del sistema glioxalasa han sido relacionados con diversas patologías entre las que se encuentra la ND (11).

En laboratorio, se ha visto que el sistema glioxalasa tiene un papel protector sobre las células del TP tanto en daño renal agudo (donde se produce un mayor estrés glicativo por mecanismos de isquemia-reperfusión), como en la ND y nefropatía con normoglucemia. En células endoteliales *in vitro* que sobreexpresaron GLO1 se vio que, en condiciones de hiperglucemia, eran capaces de reducir los niveles de compuestos dicarbonilo. Además, en situaciones de daño crónico, se observó que en pacientes con DM2 con incremento de actividad de la GLO1 se obtenían efectos beneficiosos sobre el metabolismo del MGO (14).



**Figura 2 Sistema glioxalasa**

En la superficie celular, existen unos **AGER** que van a estar involucrados en la metabolización y aclaramiento de los AGEs. Estos AGER son los siguientes (15):

- AGER1: el primero en descubrirse, está conectado con la endocitosis de AGEs.
- AGER2: no se une a los AGEs directamente, sino que es necesaria para la estabilización de la unión a AGEs, teniendo su función en las primeras etapas de señalización.
- AGER3: con alta afinidad por los AGEs, su papel no está aún definido completamente.

De estos receptores, el más estudiado ha sido el **AGER1**. Este se encuentra en la superficie de células de la mayoría de los tejidos, entre los que destacan los macrófagos y células mesangiales. Se cree que realiza la función de aclaramiento de AGEs principalmente captándolos y degradándolos. De esta forma, es capaz de disminuir los AGEs circulantes y consecuentemente la unión con otros receptores. Sin embargo, el mecanismo exacto mediante el cual esto ocurre no es del todo conocido. Cuando los AGEs interactúan con el receptor AGER1 son internalizados en la célula mediante endocitosis (donde intervienen la megalina), y posteriormente degradados en los lisosomas, produciendo unos péptidos como productos de degradación de los AGEs. Además, el AGER1 puede alterar la actividad de la sirtuina 1 (SIRT1), una enzima desacetilasa de histonas NAD-dependiente. Se cree que la SIRT1 está relacionada con la señalización, secreción y resistencia a la insulina, y se ha visto que se encuentra suprimida en la DM, dietas altas en grasas y envejecimiento. Este mecanismo, más que relacionarse con el daño renal, podría indicarnos un estado metabólico general del paciente con ND. Niveles de AGEs más altos en sangre se han relacionado con una menor función renal, así como con una menor expresión del receptor AGER1, pudiendo contribuir así al avance de las complicaciones propias de la diabetes (15,16).

### 5.1.2 Efectos de los AGEs en el túbulo proximal: Receptor de AGEs (RAGE)

Los AGEs de bajo peso molecular son filtrados en el glomérulo y como muchas otras sustancias son reabsorbidos en el TP. Además de este transporte presente en condiciones de normalidad, cuando aparece proteinuria en las primeras fases de la ND, estas proteínas glicosiladas filtradas, esencialmente la albúmina, llegan al TP, donde pueden ejercer su efecto de forma directa. Por

otro lado, a medida que disminuye el filtrado glomerular, se producirá un aumento de los AGEs circulantes en sangre por su menor eliminación. De esta forma, los efectos producidos por la proteinuria, el deterioro del filtrado glomerular y el daño tubulointersticial podrían estar involucrados en la acumulación de AGEs en pacientes con ND (8).

Se ha descrito que el acúmulo de AGEs en el riñón es un factor que contribuye a los cambios que se producen en la arquitectura renal y en la pérdida de función renal. Además del efecto de glicación de componentes de la barrera de filtración glomerular (vía ampliamente estudiada), también se va a ver afectado el TP tanto de forma directa como mediante la activación de vías intracelulares a través de la activación del receptor de AGEs (RAGE) (9).

### Receptor de AGEs o RAGE

Una de las principales vías de acción de los AGEs en el riñón es la **interacción con el RAGE**. Este se trata de un receptor de superficie perteneciente a la superfamilia de las inmunoglobulinas que se encuentra en un gran número de tipos celulares: monocitos, macrófagos, linfocitos T, células endoteliales, células dendríticas, fibroblastos, músculo liso y células epiteliales, entre otros. A pesar de lo que puede dar a entender por su nombre, el RAGE no tiene como único ligando los AGEs, sino que también puede interactuar con otros ligandos, entre los que se encuentran proteínas de alta movilidad de tipo 1 (HMGB1), proteína de unión al calcio S-100, proteína B-amiloide, Mac-1 y fosfatidilserina (17).

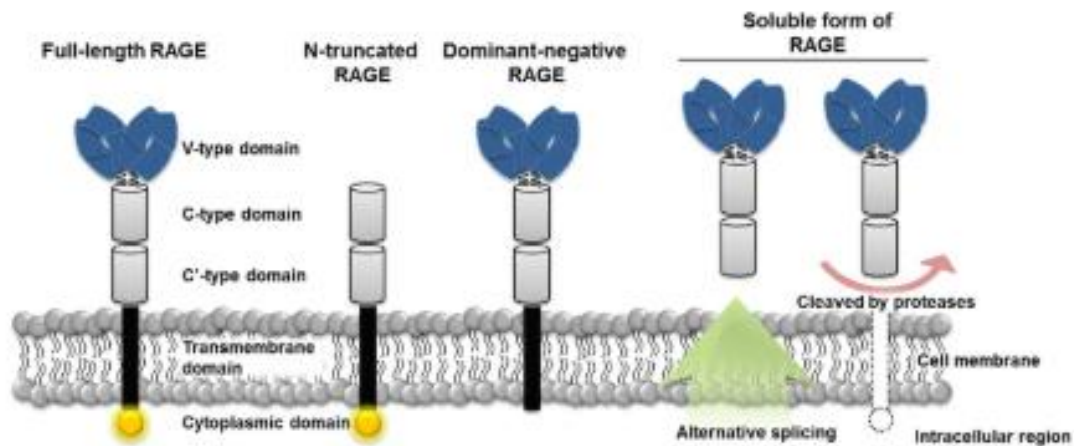
El RAGE está compuesto por distintas partes o dominios:

- Un dominio tipo V (variable), extracelular, responsable de la interacción con los ligandos
- Dos dominios tipo C (constantes, C1 y C2), extracelulares
- Un dominio transmembrana, que ancla el receptor a la membrana celular.
- Un dominio citoplasmático, encargado de la transducción de las señales a la célula.

El mecanismo exacto por el que va a transducir la señal intracelular no está del todo claro. Se cree que el dominio citoplasmático no cuenta con actividad endógena tirosín-quinasa, sino que interacciona con proteínas citoplasmáticas como la *diaphanous 1* de mamíferos (DIAPH1) o la proteína de leucocitos de 76kDa (SLP76) como proteína adaptadora para la transducción de señales celulares mediadas por RAGE. El DIAPH1 puede activar a la familia Rho de GTPasas Cdc42 y Rac, que han mostrado ser críticas para la respuesta inducida por RAGE. Además, el ERK1/2 también es capaz de unirse al dominio citoplasmático del RAGE (18).

Se han descrito una serie de **variantes del RAGE** (17) que pueden formarse por splicing alternativo de forma natural o mediante acción de proteasas asociadas a membrana (**Figura 3**):

- Full length RAGE (FL-RAGE), o forma completa.
- N-truncated RAGE (Nt-RAGE), que no tiene dominio V y no interacciona con ligandos.
- RAGE dominante-negativo (DN-RAGE), que no tiene dominio citoplasmático, pudiendo unirse a sus ligandos pero sin producir señales intracelulares.
- RAGE soluble (sRAGE), que circula fuera de la célula, se une con ligandos y evita que interaccionen con el RAGE (pudiendo neutralizar el efecto de los ligandos del RAGE, y algunos estudios señalan que podría usarse para inhibir la señal del RAGE en algunas enfermedades).



**Figura 3. RAGE: sus partes y variantes (17)**

Viendo esta clasificación, podemos dividir las variantes de estos receptores en dos grupos:

- Receptores capaces de activar señalización celular: FL-RAGE
- Receptores incapaces de activar señalización celular: Nt-RAGE (al no ser capaz de interactuar con ligandos) y DN-RAGE y sRAGE (que pueden unir ligandos pero al no tener dominio citosólico no transducen ninguna señal).

Teniendo esto en cuenta, se piensa que tanto el DN-RAGE como el sRAGE puede tener un papel protector para la célula. Por un lado, el DN-RAGE podría competir con el FL-RAGE por la unión a los AGEs. Aunque en los periodos iniciales de la unión de los AGEs al DN-RAGE sí que se podría evitar la transducción de señal del FL-RAGE, a más largo plazo la presencia de AGEs en la superficie celular unidos al DN-RAGE podría favorecer la oxidación de otros compuestos y en definitiva favorecer la activación del FL-RAGE (19). Por otro lado, el sRAGE podría actuar de forma similar compitiendo por los AGEs con el FL-RAGE. Paradójicamente, en sujetos con ND y otras complicaciones derivadas de la diabetes se han observado niveles de sRAGE más elevados de lo considerado normal sin que se frene la progresión de la enfermedad, y esta discrepancia es posiblemente debida a que, en proporción, los niveles séricos de AGEs se encuentran más elevados aún que los de sRAGE (15).

En lo que respecta a la **regulación del RAGE**, sus propios ligandos han demostrado tener un papel primordial. En un estudio (Grossin, 2009) realizado con dos tipos de AGEs (hemoglobina ligada a CML o CML-HSA y albúmina ligada a MGO o MGO-HSA) se vio que mediante la interacción con el RAGE eran capaces de regular de forma distinta la expresión de distintas isoformas del receptor. Mientras que la MG-HSA estimuló la expresión de las tres isoformas de RAGE (FL-RAGE, Nt-RAGE y sRAGE), CML-HSA solo estimuló la forma FL-RAGE y Nt-RAGE (20).

Estas conclusiones nos pueden hacer pensar que los AGEs tienen un papel importante en su propia regulación, ya que la expresión del sRAGE podría contarse como una forma de retroalimentación negativa (ya que los ligandos unidos al sRAGE no van a ser capaces de unirse al RAGE y producir una señal). También puede hacernos entender cómo ante exposiciones anómalas a AGEs puede producirse una sobreexpresión de RAGE que acabe activando vías que terminarán produciendo daño tisular.

Encuadrándolo en la ND, debido al rol del riñón para el aclaramiento de los AGEs, al dañar las estructuras renales se dificulta la eliminación de los AGEs, teniendo como consecuencia su mayor acumulación tisular y producción de más daño, acelerando la ND. El RAGE se encuentra

en la superficie celular no solo en el riñón, sino en células inmunes como macrófagos y células dendríticas, estando involucrado en los procesos de inflamación. Con la producción de factores proinflamatorios acaba produciendo inflamación, proliferación celular, migración celular y fibrosis en diversos órganos en condiciones de diabetes (21).

### 5.1.3 Consecuencias de la activación del RAGE

Como ya se ha visto en el apartado anterior, la unión de ligandos a la variante FL-RAGE (a partir de ahora, solo RAGE) va a ser capaz de activar vías de señalización celular, entre las que se encuentran reacciones inflamatorias e inmunes, crecimiento celular, migración, apoptosis y regeneración a nivel de diversos tejidos (17).

Aunque nos vamos a centrar en su papel en relación con el daño celular que se produce en el TP englobado en la ND, el RAGE no solo va a verse implicado en la ND, sino también en otras patologías como la nefropatía hipertensiva, glomerulopatía relacionada con la obesidad, nefritis lúpica, amiloidosis renal, poliquistosis renal autosómica dominante (ADPKD) y daño renal agudo por sepsis. En relación con estas patologías, además de los AGEs, va a haber otros sustratos capaces de interactuar con el RAGE y potenciar su acción, mostrando una vía común de daño (21). Esto queda plasmado en la **Tabla 3**:

**Tabla 3 Ligandos del RAGE y patología asociada**

Ligandos implicados	Patología asociada
AGEs	Nefropatía diabética Glomerulopatía relacionada con obesidad Nefropatía hipertensiva
HMGB1 Lipopolisacárido	Insuficiencia renal aguda por sepsis
AGEs HMGB1	Nefritis lúpica
Proteína B-amiloide AGEs	Amiloidosis renal
S100	ADPKD

*HMGB1: Proteínas de alta movilidad de tipo 1 (High-morbidity group protein (B) 1)*

Centrándonos en la ND, la unión de los AGEs al RAGE va a tener como consecuencia distintos procesos, entre los que se encuentran una mayor producción de ROS y estrés oxidativo que provocará respuestas inflamatorias y de fibrosis no solo a nivel glomerular (células mesangiales y podocitos) sino también tubular (células tubulointersticiales). Además, estimulará la formación de factores de crecimiento profibróticos mediante diferentes vías.

### Estrés oxidativo y NF-κB

Mediante la activación del RAGE, se llevan a cabo una serie de señalizaciones intracelulares entre las que se incluyen vías como MAPK, PKC, Erk 1 y 2, fosfatidil-inositol 3 (IP<sub>3</sub>), p21 RAS y Janus kinasas. Estas van a terminar en la activación del factor nuclear-κB (NF-κB), producción de estrés oxidativo e inflamación.

El estrés oxidativo inducido por **especies reactivas de oxígeno (ROS)** está asociado con un gran número de patologías. Dentro de la ND, los AGEs pueden aumentar los niveles de ROS mediante formas tanto dependientes como independientes del RAGE. En ambos casos, las vías de producción de ROS son mediante la activación de NADPH oxidasa y vías de fosforilación oxidativa mitocondrial. Algunas de las ROS que producen daño renal son el anión superóxido O<sub>2</sub><sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>,

radicales hidroxilos y peroxinitrito. La célula también cuenta con enzimas que reducen las ROS, como distintos tipos de superóxido dismutasa (CuZnSOD y MnSOD) y la hemo-oxigenasa 1 (22,23).

En el proceso de fosforilación oxidativa mitocondrial, donantes de electrones como el NADH y FADH<sub>2</sub> generan un potencial transmembrana bombeando protones a través de la membrana mitocondrial interna. La activación de vías como la PKC en relación con la hiperglucemia y los AGEs puede afectar al transporte de los electrones de la mitocondria, causando que la vida media de intermediarios de radicales libres de la coenzima Q aumente y el O<sub>2</sub> molecular sea reducido a O<sub>2</sub><sup>-</sup> (23).

Por otro lado, la producción de ROS extramitocondrial se lleva a cabo mediante el sistema NADPH-oxidasa. Este sistema se activa en las células renales por distintos estímulos, entre los que se encuentran la PKC, IP<sub>3</sub>, diacilglicerol y AGEs, y tras su estimulación acabará produciendo O<sub>2</sub><sup>-</sup> y H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Viendo esto, se ha sugerido que el sistema NADPH oxidasa juega un papel principal en el daño renal producido por ROS en relación con el RAGE (23).

Este incremento del estrés oxidativo descrito se ha relacionado con la activación del **factor nuclear-kB (NF-kB)**. El NF-kB, al translocarse del citoplasma al núcleo, promueve la inflamación y el daño tisular a través de la producción de una serie de mediadores proinflamatorios, entre los que se encuentran: molécula de adhesión intracelular-1 (ICAM-1), molécula de adhesión celular vascular 1 (VCAM-1), E-selectina, endotelina-1, factor tisular, factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PGDF), factor de crecimiento insulín-like 1 (IGF-1) y citocinas proinflamatorias (IL-1a, IL-6, TNF-a) (22,24). Otra posible acción que tiene el NF-kB es la de unirse al GLO1, suprimiendo su acción inhibitoria sobre la producción de AGEs (17).

Este estrés oxidativo también ha mostrado ser capaz de incrementar la expresión de **angiotensinógeno** en las células del TP, llegando a considerarse como su principal fuente de producción intrarrenal (ya que, de forma global, se produce de forma mayoritaria en el hígado). El angiotensinógeno es un compuesto esencial para la activación del eje renina-angiotensina-aldosterona en el riñón, que al final llevará a aumentar los niveles de angiotensina II y favorecer la hiperfiltración glomerular, entre otros efectos (25).

Considerando lo expuesto anteriormente, en pacientes con DM2 se han relacionado los niveles de AGEs circulantes con la expresión de marcadores de inflamación, estrés oxidativo, productos de proteínas de oxidación avanzada y peroxidación lipídica. Además, de forma recíproca, los altos niveles de ROS pueden aumentar los niveles de AGEs (al estimular la autooxidación de azúcares), así como estimular la expresión y activación del RAGE. Este estado de estrés oxidativo acaba afectando a los distintos tejidos a través de la producción de citocinas inflamatorias, disfunción endotelial, afectación de la MEC y alteraciones vasculares. Esto no ocurre exclusivamente en las células del TP, sino que también se da en otras líneas celulares como monocitos, células endoteliales, microglía, podocitos... (22,24). De esta forma, este estado proinflamatorio asociado a una persistente activación de monocitos/macrófagos y su migración al espacio subendotelial, además de otros grupos celulares involucrados en este proceso juegan un rol cardinal en la progresión de la ND.

## Smad, TGF-B y CTGF: camino de la fibrosis

Entre los factores estimulados mediante la activación del RAGE, el **TGF-B** va a tener notable relevancia, en especial el TGF-B1. El TGF-B es un mediador multifuncional, que regula la proliferación, diferenciación, apoptosis, adhesión y migración de numerosas líneas celulares. Además, va a ser un importante mediador en la progresión hacia la fibrosis renal al estimular la producción y suprimir la degradación de la matriz extracelular (MEC), al mediar la transformación de fibroblastos locales en miofibroblastos y estimular de forma directa la producción de colágeno por los fibrocitos. Su mayor producción no va a ocurrir exclusivamente en las células del TP, sino que también va a darse en otros tejidos como el endotelio o células del sistema inmune (pudiendo hablar de una regulación tanto autocrina como paracrina) (26).

La acción del TGF-B en la célula tubular va a estar mediada por una vía dependiente de **Smad** y por otra vía independiente (induciendo las vías de MAPK, fosfatidilinositol 3 quinasa y Rho-like GTPasas). La vía dependiente de Smad ha sido estudiada en mayor profundidad. Esta familia de mediadores puede dividirse en 3 clases (26):

- Smad reguladas por receptores (Smad1, Smad2, Smad3, Smad5, Smad8)
- Smad de mediadores comunes (Smad4)
- Smad inhibitorias (Smad6, Smad7)

Se ha visto que las **Smad2 y Smad3** son las principales implicadas en la acción fibrogénica del TGF-B. Muchos genes fibrogénicos entre los que destacan el inhibidor del activador de plasminógeno 1 (PAI-1), factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF) y distintos tipos de colágeno, proteoglicanos e integrinas son genes diana de la interacción TGF-B/Smad3. El TGF-B produce la fosforilación del Smad3, que inhibirá la fosforilación del dominio pSmad1L. La función de este es inhibir la expresión de Col I, Col III y Col IV, importantes componentes de depósito de proteínas en la matriz extracelular (MEC). Al inhibir su fosforilación, la expresión de estos tipos de colágeno aumenta, y de esta forma se acaba llegando a la hiperexpresión de proteínas de MEC (26,27).

El Smad4 simultáneamente promueve la fibrosis mediada por Smad3 (formando un complejo con el Smad2/Smad3 y translocándose al núcleo, activando los genes profibróticos) y atenúa la inflamación inhibiendo el NF-kB de forma Smad7 dependiente. El Smad7 sirve como regulador por retroalimentación negativa de la vía TGF-B/Smad, protegiendo de la acción del TGF-B mediante la degradación de su receptor.

La vía Smad no se estimula solo por el TGF-B, sino que también hay una vía independiente, entre la que se encuentra el estímulo por los AGEs/RAGE. El RAGE puede activar el Smad2 y Smad3 por mecanismo del ERK/p38MAPK. Este mecanismo afecta a la expresión del Smad1 de forma similar a la acción del TGF-B, siendo capaz de regular la expresión de Col IV, y otras proteínas como Col I y Col III (26,28).

Todas estas vías quedan resumidas en la **Figura 4**:



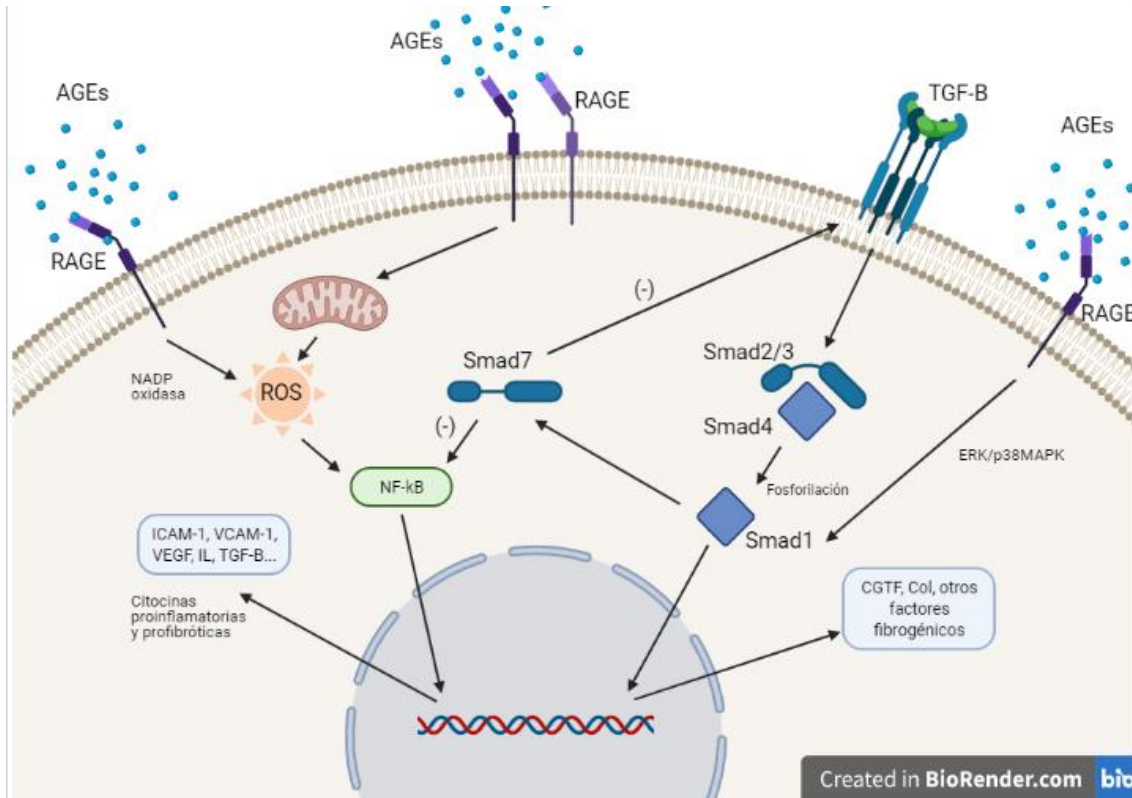


Figura 4 Activación del RAGE

### Procesos de autofagia y actividad lisosomal

La **actividad lisosomal y los procesos de autofagia** en las células del TP suponen la principal vía de reabsorción y degradación de macromoléculas como proteínas y otros componentes celulares. Cuando los AGEs se unen al RAGE, el complejo AGE-RAGE que se forma es internalizado en la célula para su correcta eliminación tras activar su señal celular. Este proceso se lleva a cabo mediante la formación de un autofagosoma con una doble membrana, que se unirá a un lisosoma formando el autofagolisosoma. Así se pondrán en contacto las enzimas del lisosoma con los materiales a degradar. La actividad de estas enzimas, entre los que destaca la catepsina B, va a ser clave para realizar este proceso de degradación. Se ha demostrado que la biogénesis lisosomal y su función en células tubulares cultivadas en medios imitando condiciones de DM (alta concentración de glucosa y exposición a AGEs) se estimulaba para contrarrestar esa sobreexposición a AGEs. Además, esos AGEs finalmente acababan alterando el proceso de autofagia, disminuyendo su eliminación y favoreciendo su acumulación. Estas alteraciones finalmente acabarían favoreciendo la inflamación y fibrosis. En medios de cultivo con células de TP expuestas por un lado a altas concentraciones de glucosa y por otro a albúmina glicada (AGE-BSA) se ha observado cómo ante la exposición a AGE-BSA mostraron una menor actividad de la catepsina B (y consecuentemente menor actividad lisosomal), no siendo así en las expuestas a altas concentraciones de glucosa (29).

Esta disrupción de la actividad del **autofagolisosoma** que conlleva una disfunción lisosomal tiene entre sus principales causas la pérdida de actividad de catepsinas, expresión irregular de la proteína de membrana asociada al lisosoma (LAMP1) y permeabilización de la membrana lisosomal, siendo esta última especialmente susceptible al estrés oxidativo (papel importante como daño por los ROS formados). Aunque puedan surgir dudas sobre si el acúmulo de vacuolas

de autofagia en las células tubulares pudiera deberse a una mayor producción o a una menor eliminación de las mismas, los estudios realizados dan un mayor peso a la alteración en la vía de degradación de estas vacuolas (30).

Esta situación de alteración de los procesos de autofagia va a provocar un incremento del **estrés del retículo endoplasmático (RE)**. En algunas investigaciones (Liu, 2014) se ha estudiado el papel del RAGE sobre la **senescencia celular prematura en las células del TP** de una forma mediada por el estrés del RE. Mediante el estudio de muestras de biopsia “in vivo” y experimentación con medios de células epiteliales del TP de ratones en laboratorio, se observó un incremento significativo en la actividad de marcadores clásicos de senescencia celular como el SA-B-gal en las muestras que contaban con un mayor acúmulo de AGEs y expresión aumentada de RAGE. Dentro del fenotipo de senescencia prematura se incluyó una expresión elevada de p16, p21 y p27. Entre ellos, el p21 se encuentra relacionado con el estrés del RE. Una mayor expresión de p21 se correlacionó positivamente con mayor presencia de SA-B-Gal en las células epiteliales de TP de pacientes con ND. De esta forma, se llegó a la conclusión de que la señalización p21 dependiente del estrés del RE mediada por RAGE se relaciona con la senescencia prematura de las células del TP en el desarrollo de la ND, aunque los mecanismos subyacentes no han sido descritos (31).

#### 5.1.4 Otros efectos no RAGE-dependientes

Dentro de los mecanismos de daño más directos, tenemos la glicación directa de proteínas, entre las que se encuentran las **proteínas de matriz extracelular (MEC)**. Además de servir como soporte físico para las distintas células del riñón, induce señales de vital importancia para la morfogénesis, diferenciación y homeostasis de los tejidos.

El proceso de glicación de las proteínas de MEC se conoce como **entrecruzamiento o crosslinking**. Este daño sobre el colágeno se ha relacionado directamente con la patogénesis de distintas complicaciones de la diabetes, entre las que se encuentra la ND. El colágeno, como proteína de larga vida media que es, es especialmente susceptible al daño provocado por la glicación y los AGEs. Este proceso de *crosslinking* intermolecular no enzimático va a tener las siguientes implicaciones (32):

- La reacción de la glucosa con los residuos de aminoácidos de las cadenas de colágeno, y su posterior reacción formando enlaces con otras cadenas de colágeno, va a modificar las cualidades físicas del colágeno, entre las que destaca una mayor rigidez.
- La glicación de aminoácidos específicos involucrados en el reconocimiento intermolecular podría provocar una alteración de la interacción del colágeno con otras moléculas como proteoglicanos, enzimas o integrinas celulares.

De los entrecruzamientos propuestos, el que parece tener mayor relevancia es el glucosepano (una interacción entre residuos de lisina y arginina). Otro, con menor presencia, es el llamado MOLD (entre dos lisinas) (32).

En el riñón, cobra especial importancia el colágeno tipo IV, además de laminina y proteoglicanos de heparán-sulfato (HS). Entre las estructuras vulnerables al acúmulo de AGEs se encuentran las membranas basales, túbulos, células mesangiales, podocitos y células endoteliales. La fibrosis que se produce en la ND se caracteriza por un importante acúmulo de MEC, que acaba derivando en expansión mesangial y engrosamiento de la membrana basal, todo esto afectado por los AGEs. Al dañar las proteínas formadoras de la MEC, se va a alterar su homeostasis y afectar a su estructura. Como consecuencia, esto va a producir una disminución de la adhesión celular,

afectando tanto a estructuras podocitarias como tubulares y endoteliales capilares, disminuyendo el flujo sanguíneo y resultando en esclerosis glomerular y tubular (33).

Además de estos daños directos sobre la MEC, los AGEs también han mostrado capacidad de regular la actividad de la **enzima endo-B-D-glucuronidasa específica para HS o heparanasa (HPSE)**, que participa en el remodelado, degradación y regulación de muchas moléculas unidas al HS (factores de crecimiento, citoquinas, enzimas inflamatorias...). La expresión de HPSE se encuentra aumentada en las biopsias de pacientes con ND, y se ha relacionado con disminución del HS tubular. En un estudio (Masola, 2011) in vitro con células epiteliales de TP, se comprobó que, ante la exposición de estas líneas celulares a albúmina, y especialmente a albúmina glicada (no siendo así en la exposición a altas concentraciones de glucosa), se produjo no solo un aumento de la expresión de HPSE sino también un aumento de su actividad tanto intra como extracelular, provocando pérdida de HS (34).

Otro mecanismo de daño directo que van a tener los AGEs y el incremento del estrés glicativo va a ser sobre el **RE y el manejo de proteínas** de la célula. El RE es el principal encargado de la homeostasis de las proteínas en la célula, por lo que el incremento del estrés glicativo puede tener efectos deletéreos sobre este control. La formación de proteínas sigue una serie de procesos que incluyen modificaciones en su plegamiento y reacciones de glicosilación, fosforilación o acetilación, hasta llegar a ser proteínas maduras. Con la glicación como mecanismo patológico de modificación postraducciona no enzimático, se puede llegar a perder la actividad de esas proteínas, acumulándose y produciendo daño celular (14).

El control de la calidad de estas proteínas se hace mediante la vía de **respuesta a proteínas desplegadas (unfolded protein response o UPR)**. Esta vía refleja el estado de homeostasis del RE. En condiciones normales, las chaperonas del RE pliegan las proteínas recién sintetizadas y posteriormente se producen las modificaciones postraduccionales. Cuando se acumulan proteínas desplegadas en el RE, estas son transferidas al citoplasma y degradadas por autofagia por el sistema ubiquitín-proteasoma. Todo esto se produce bajo el control del UPR. Por este motivo, en casos de estrés glicativo se terminarán produciendo proteínas anómalas, que en caso de afectar a las proteínas relacionadas con el proteasoma o los sistemas de autofagia podrían perder su capacidad enzimática, llevando así a la acumulación de AGEs y proteínas defectuosas (35).

## 5.2 AGEs Y ENDOTELIO TUBULAR EN LA PROGRESIÓN DE LA ND

El riñón presenta distintos tipos de endotelio en su arquitectura. Además del endotelio capilar glomerular, cuya principal función consiste en producir el filtrado glomerular, cuenta con el endotelio capilar peritubular, que contribuye a la función de la secreción y reabsorción tubular de solutos. Las **células endoteliales capilares peritubulares** tienen unas pequeñas fenestraciones que se observan en microscopía electrónica cubiertas por un diafragma compuesto por una serie de glicoproteínas que modulan sus propiedades. Estas células están rodeadas por un fino estroma, formando la membrana basal, y al lado opuesto se encuentran los pericitos, esenciales en la constricción capilar para regular el flujo sanguíneo medular y cortical. Además de regular la permeabilidad capilar, los pericitos participan en la angiogénesis y son fuente de miofibroblastos en la fibrogénesis renal (36).

Las células endoteliales, que son metabólicamente activas, producen distintas sustancias como factores vasoactivos (endotelina 1, prostaciclina, óxido nítrico (NO)), factores reguladores de trombosis, moléculas de adhesión intracelular (ICAM1, ICAM2, VCAM1, PECAM1...) y

moduladores inflamatorios. Ante situaciones de estrés, se va a inducir la expresión de moléculas de adhesión mientras que se disminuyen los componentes protectores del endotelio. Además de citoquinas inflamatorias, otros compuestos como la histamina, trombina, bradiquinina, C5a y VEGF van a aumentar la permeabilidad y alterar la función de la barrera endotelial (36).

Los AGEs van a producir una serie de alteraciones en las células endoteliales. Por un lado, se va a alterar la regulación vascular mediante una de las principales sustancias vasodilatadoras a nivel local, el **NO**. Al aumentar el estrés oxidativo, va a disminuir la biodisponibilidad de NO de las células endoteliales mediante la menor activación de la NO sintetasa (eNOS), además de aumentar la expresión de COX-2 (aumentando la formación de prostanoïdes vasoconstrictores) y, en estadios más tardíos, promover la fibrosis a través del TGF-B1 y angiotensina II (25,40,41).

Otra molécula implicada y afectada por la interacción de los AGEs es el **VEGF**. En el riñón se produce tanto en las células endoteliales glomerulares como peritubulares. Aunque necesario para la homeostasis del riñón, se ha visto que su disregulación podría ser responsable de parte del daño que ocurre en el desarrollo de ND, habiéndose relacionado con daño sobre todo glomerular, favoreciendo también a la fibrosis tubulointersticial, aunque los estudios son controvertidos (37).

Además de sobre las propias células endoteliales, los AGEs también afectan a la viabilidad de las **células progenitoras endoteliales (EPC)**. Se ha visto una menor función de estas células, disminuyendo la proliferación, capacidad de adhesión y habilidad de incorporación para formar capilares in vitro, asociando esta menor función con una mayor tasa de apoptosis, todo esto relacionado con una expresión reducida de eNOS y menor producción de NO. Estos efectos se encuentran relacionados con la activación del NF-kB vía MAPK inducida por el RAGE en las EPC, señalando el rol fisiopatológico de estos productos en la inflamación y disfunción endotelial (38).

Lo anteriormente expuesto queda recogido en la **Tabla 4**.

**Tabla 4 Elementos implicados en el daño endotelial**

Elemento afectado	Cómo se afecta	Qué provoca
NO (óxido nítrico)	Disminuye por: - Menor activación eNOS - Aumento expresión COX-2	Vasoconstricción Fibrosis
Angiotensinógeno	Aumenta	Activación eje renina-angiotensina-aldosterona Progresión de ND
VEGF	Disregulación	Daño glomerular Fibrosis tubulointersticial
EPC	Menor viabilidad	Menor proliferación Menor capacidad de adhesión Menor formación de capilares

### 5.3 TRANSICIÓN EPITELIAL-MESENQUIMAL Y FIBROSIS TUBULOINTERSTICIAL

La **fibrosis tubulointersticial** es la vía final del daño renal. En la nefropatía progresiva, se considera que los miofibroblastos son unas de las principales células efectoras responsables de este proceso (33, 34). La **EMT** está implicada en la fibrosis producida en la nefropatía diabética. Las células tubulares renales, como respuesta a agresiones, pierden su fenotipo epitelial para

adquirir características profibróticas típicas de células mesenquimales (fibroblastos). Este proceso se encuentra regulado por una serie de factores de crecimiento y citocinas, entre las que se incluyen el TGF-B1, FGF, IL-1, EGF y angiotensina II. Además, los AGEs también pueden inducir EMT mediante la activación del RAGE, aparentemente tanto por vía dependiente del TGF-B y de forma independiente, involucrando vías de señalización intracelular como Smad y MAPK (39).

Como hemos visto en apartados anteriores, dentro de los genes fibrogénicos que van a activarse mediante la activación del RAGE encontramos el **CTGF**. El CTGF va a tener diferentes acciones en la célula tubular proximal renal, contribuyendo finalmente a cambiar el fenotipo de las células epiteliales renales y al proceso de fibrosis. El CTGF se encarga de la homeostasis del tejido conectivo, la proliferación, migración, adhesión de fibroblastos y la expresión de la matriz celular, ya que es capaz de promover la expresión de varias proteínas de MEC como la fibronectina y colágeno tipo IV (característica ya conocida de los AGEs y el TGF-B). Su expresión en pacientes con ND está aumentada y se relaciona con el grado de albuminuria, además de demostrar en biopsia que su expresión aumenta el daño glomerular y tubulointerstitial con acumulación de células de músculo liso. La relación entre los depósitos de AGEs y la expresión aumentada de CTGF en riñón se ve apoyada por su co-localización y por la supresión de la formación de CTGF y reducción de fibrosis renal con inhibidores de AGEs en modelos animales, haciendo ver la importancia del CTGF en la ND (40).

Al estudiar el efecto de algunos mediadores de la EMT (TGF-B, AGEs, CTGF) sobre células tubulares renales in vitro, se observó una regulación al alza del  $\alpha$ -SMA (marcador de fibroblastos) y vimentina y regulación a la baja de E-cadherina (marcador de células epiteliales, importante para mantener las uniones estrechas entre células epiteliales y estabilizarlas). En contraste al TGF-B1 y los AGEs, el CTGF no redujo la expresión del gen de E-cadherina, aunque sí que modificó su patrón de expresión de un patrón asociado a la membrana (característico de células epiteliales) a un patrón perinuclear, adquiriendo un fenotipo más mesenquimal. Además, se ha observado que no solo la EMT inducida por el CTGF, sino también la producida por AGEs o el TGF-B1 pueden atenuarse bloqueando el CTGF. Sin embargo, la EMT inducida por el CTGF no se redujo bloqueando el TGF-B, lo que sugiere que el CTGF es un importante estímulo independiente para la EMT, y sugiriendo que la regulación del CTGF en respuesta a los AGEs es parcialmente independiente del TGF-B1 (41).

## 5.4 APLICACIÓN CLÍNICA

### 5.4.1 AGEs como predictores de progresión a ND

De forma clásica, el principal marcador para medir la progresión de ND es la presencia de microalbuminuria y el deterioro de la función renal (filtrado glomerular). Sin embargo, cuando aparecen estos marcadores en los pacientes con diabetes ya existe un cierto grado de daño renal irreversible. Por este motivo, y viendo la relación que se ha establecido entre la presencia de AGEs en el organismo y el desarrollo de ND, se ha planteado su uso como predictor del desarrollo de enfermedad en un estadio en el que todavía no se haya producido daño.

En una investigación (Beisswegner, 2013) se ha estudiado principalmente el papel del **MGO** como predictor del desarrollo de ND. En él se dividió a los participantes en progresores rápidos y progresores lentos según la presencia de cambios en la biopsia renal (grosor de la membrana basal glomerular y proliferación mesangial). De los marcadores medidos en plasma (distintos tipos de AGEs), tres de ellos mostraron encontrarse significativamente más elevados en

progresores rápidos que en progresores lentos (MGO, carboxietil lisina y CML). Además, al combinar sus niveles con la HbA1c a 5 años, se vio que aumentó su valor predictivo (de 7,9% a 11,6%). Sin embargo, a pesar de estos resultados, es necesaria una investigación más exhaustiva antes de poder considerar estos marcadores como predictores de una peor evolución hacia ND (42).

Otra propuesta ha sido la ratio **AGEs/sRAGE** como marcador de la enfermedad. En pacientes con diabetes y ND los niveles de sRAGE se encuentran generalmente elevados. En teoría este mecanismo debería ser protector al unirse a AGEs sin poder producir ninguna señal, sin embargo, en la realidad esto no es así, posiblemente porque tanto los AGEs como el sRAGE se encuentran elevados en estas patologías, siendo mayor la de AGEs en este caso. Por este motivo la ratio AGEs/sRAGE sería más adecuado que sus niveles aislados para ser valorado como marcador. En un estudio (Prasad, 2019) se midieron los niveles de AGEs y sRAGE en diferentes patologías (síndrome coronario agudo sin elevación de ST (SCASEST), aneurisma aórtico, hipertiroidismo, hipercolesterolemia, ERC). Se observó que en ellas tanto los AGEs como la ratio AGEs/sRAGE se encontraban elevadas, independientemente del nivel de sRAGE (que solo se elevó en la ERC), concluyendo que estos dos sí podrían ser un potencial biomarcador. Sin embargo, lo ideal sería tener también en cuenta el RAGE en esta ecuación, ya que el eje completo de acción incluye a estos tres elementos. De esta forma, el biomarcador más adecuado quedaría como  $(AGE + RAGE)/sRAGE$ . Aquí surge la complicación de que el RAGE no puede detectarse en sangre, siendo necesaria biopsia de tejido para su medición, lo que hace de esta ecuación poco útil en la práctica clínica (43).

El significado de estos resultados es que, en definitiva, en estas patologías estudiadas hay grandes cantidades de AGEs libres para interactuar con el RAGE (al encontrarse la ratio AGEs/sRAGE elevada), pudiendo iniciar y progresar el daño producido. En pacientes todavía asintomáticos, este marcador podría emplearse para predecir la progresión hacia la enfermedad (no solo en la ND sino también en otras en las que este eje se encuentra implicado), tratándose de un marcador de riesgo.

#### 5.4.2 Posibles dianas terapéuticas

Viendo la relevancia que tienen los AGEs en el desarrollo no solo de la ND, sino también de numerosas complicaciones relacionadas con la DM, no son pocas las investigaciones que se han comenzado a llevar a cabo buscando una forma de frenar esta vía.

#### Prevención e inhibición de AGEs

La prevención de la formación de AGEs podría ser una interesante diana terapéutica, ya que de esta forma se podrían evitar los daños derivados de su actividad. Entre los compuestos que pueden actuar en esta vía, se encuentran **antioxidantes presentes en la dieta** como la vitamina C, vitamina E, benfotiamina y piridoxamina (familia del complejo vitamínico B). Aunque no se conoce del todo su función, podrían unirse a los azúcares y proteínas e inhibir la formación de productos de Amadori. Además, su función antioxidante también disminuye la formación de ROS, que estimulan la autooxidación de azúcares (44,45).

- **Vitaminas C y E:** la vitamina C ha demostrado competir con la glucosa para unirse a las proteínas y actuar también sobre la vía del sorbitol, mientras que la vitamina E tiene propiedades inhibitorias sobre la peroxidación lipídica y frena la glicación de la hemoglobina in vitro. De forma sinérgica son más eficaces que de forma aislada

inhibiendo la glicación y acúmulo de AGEs, debido a sus propiedades antioxidantes, inhibiendo la oxidación de los productos de Amadori.

- La **tiamina y benfotiamina (derivados de la vitamina B1)** también han sido estudiados, reduciendo la incidencia de complicaciones entre las que se encuentran nefropatía y dislipemia en ratas, y están siendo estudiadas en humanos. Estas van a actuar sobre intermediarios de glicólisis como el gliceraldehído-3-fosfato. Mediante la activación de la transcetolasa, van a favorecer que este compuesto se metabolice por la vía las pentosas fosfato en lugar de mediante la vía glicolítica. Además, la benfotiamina también podría revertir los AGEs derivados del MGO, y en pacientes con DM2 que consumían dietas con altas cantidades de AGEs, el tratamiento con benfotiamina demostró niveles más bajos de AGEs circulantes y menores niveles de ROS.
- **Nicotinamida o vitamina B3:** potente antioxidante, sirve para generar NAD y emplearse como cofactor en las reacciones mitocondriales.
- **Piridoxal, piridoxamina o vitamina B6:** inhibidor competitivo que se une a las proteínas por su grupo aldehído, usado en altas dosis se ha probado para reducir la hemoglobina glicada. En ratas ha demostrado prevenir la nefropatía y retinopatía, siendo un potencial fármaco para estudiar en humanos.
- **Carnosina:** dipéptido inhibidor de la formación de AGEs posiblemente como antioxidante, quelante de metales, mimético de la superóxido dismutasa y captador de radicales libres.
- **Resveratrol:** un fitoestrógeno presente en las uvas, inhibe la proliferación y acúmulo de AGEs además de la síntesis de colágeno.
- **Curcumina:** propiedades antiinflamatorias y antioxidantes con potencial de inhibir la formación de AGEs (44)(45).

Otra intervención que se ha propuesto dado que parte de los AGEs pueden aportarse de forma exógena a través de la dieta ha sido prescribir **dietas bajas en AGEs**. Un ejemplo sería el de dieta mediterránea, que es rica en ácidos grasos monoinsaturados, vitaminas, moléculas antioxidantes y alimentos mínimamente procesados. Con ella podríamos reducir los niveles de AGEs circulantes y prevenir el aumento crónico de la inflamación y el estrés oxidativo (13).

Existe un importante número de compuestos que se han estudiado o están siendo estudiados y cuya principal acción consiste en inhibir el efecto de los AGEs. Uno de ellos es la **aminoguanidina**, el primero en describirse, que aunque mostró efectividad in vitro formando aductos con el glioxal, MGO y 3DG, in vivo no mostró beneficios principalmente por sus efectos secundarios (44).

Algunos fármacos ya conocidos, como la **metformina** y el **ácido acetil-salicílico**, también han mostrado ser capaces de atrapar grupos carbonilo reactivos y disminuir los niveles de AGEs mediante quelación del cobre y otros metales que pueden contribuir a la producción de ROS (45).

Otros ensayos clínicos se están desarrollando con **AGE-breakers**. Estos compuestos serían capaces de romper las uniones de AGEs a otras moléculas, revirtiendo el “crosslinking” que se produce en las proteínas y permitiendo su normal funcionamiento. El primero en describirse fue el bromuro de feniltiazolio, pero por su naturaleza inestable se desarrollaron otros derivados. Entre ellos se encuentran:

- Alagebrium (o ALT-711) es un compuesto que alcanzó la fase III de ensayo clínico, aunque posteriormente fracasó por problemas de la empresa que lo desarrollaba. En

ellos mostró un buen perfil de seguridad, con resultados prometedores. En ratones diabéticos mostró una reducción de AGEs en suero y menos CML y RAGE en riñón. Además, en el grupo que recibió tratamiento temprano, se redujo el índice de glomerulosclerosis y esclerosis tubulointersticial, la expresión renal de colágeno y el TG(46)F-B1.

- LR-90, que además de esta actividad como AGE-breaker puede reducir la acumulación de AGEs por su capacidad para quelar metales e interactuar con especies dicarbonílicas reactivas. En modelos experimentales de diabetes ha demostrado potencial renoprotector, atenuando la glomerulosclerosis y albuminuria (45).
- ALT-946, que además de actuar como AGE-breakers cuentan con otras propiedades como quelantes de metales, antioxidantes, captantes de radicales libres y antiinflamatorias (47,48).

Una alternativa estudiada para reducir los niveles de especies dicarbonílicas reactivas es el **aumento de la expresión o actividad del GLO-1**. Aquí interviene el Nrf2, un factor de transcripción capaz de regular la transcripción del GLO-1. Inductores del Nrf2 como el sulforafano han demostrado ser capaces de interactuar con la región reguladora del gen de GLO-1. En ensayos clínicos también se ha probado la terapia de trans-resveratrol con hesperetina, que ha demostrado incrementar la actividad GLO-1 reduciendo los niveles de MGO en plasma (45).

### **Moduladores directos del RAGE**

Siendo el RAGE el principal mecanismo mediante el cual los AGEs producen su daño, se ha demostrado que su inhibición podría retardar la progresión de la nefropatía diabética. Esto se observó en investigaciones con ratones que presentaban una delección del RAGE, observando una disminución de la progresión de esta enfermedad (48).

Un potencial fármaco que podemos englobar en este grupo son los **aptámeros**. Estos son ácidos nucleicos de cadena sencilla (ADN y ARN) que pueden unirse con gran afinidad y especificidad a proteínas. En un estudio se probó con un aptámero de ADN de alta afinidad contra RAGE (RAGE-aptamer) in vitro y en ratones con ND. Los RAGE-aptamers se unen específicamente al RAGE, bloqueando la unión de AGEs al RAGE in vivo. En concreto, la forma *phosphorothioate-modified* RAGE-aptamer es más estable in vivo, por lo que esta podría ser más adecuada como estrategia terapéutica en infusión continua contra la ND. Tras la infusión continua durante 4 semanas de este compuesto, no se observó ninguna mejoría en los niveles de glucemia, lipemia o presión sanguínea. Sin embargo, sí que atenuó el infiltrado de macrófagos en el riñón, la acumulación de MEC en el glomérulo y el daño podocitario, asociado a una reducción del estrés oxidativo renal y niveles de AGEs, RAGE, marcadores inflamatorios y fibrogénicos (MCP-1, ICAM-1, VCAM-1 TGF-B, CTGF, colágeno tipo I, III y IV) y albuminuria. Entre los resultados se midió también un descenso significativo de los componentes del NADPH oxidasa y su actividad enzimática, asociado a una disminución en suero y orina del 8-OHdG (marcador de estrés oxidativo) y nitrotirosina. Mediante estos mecanismos se entiende que podría bloquear el desarrollo y progresión de ND al suprimir el eje AGEs-RAGE en el riñón (49).

Otro compuesto con este papel que ha sido estudiado en ratas es el **FPS-ZM1**, capaz de inhibir específicamente al RAGE. Se ha visto que, especialmente en combinación con Valsartán (antagonista del receptor de angiotensina II), se consigue una reducción de marcadores inflamatorios (TNF- $\alpha$ , IL-6) y profibróticos (TGF-B, colágeno tipo IV y fibronectina), además de aumentar la ratio NAD<sup>+</sup>/NADH y la actividad de Sirt1 y disminuir los niveles de NF- $\kappa$ B p65 (efecto



principalmente atribuido al Valsartán). Adicionalmente, esta combinación demostró disminuir los niveles de malondialdehído, aumentando la actividad de la SOD y glutatión peroxidasa, disminuyendo consecuentemente la respuesta oxidativa. También mostró una disminución de marcadores de daño tubular. En todos los casos el efecto producido por el valsartán fue mayor que el del FPS-ZM1, pero al emplearlos en combinación se observó una mayor eficacia que de forma aislada (50).

### Otros fármacos

Considerando el importante papel que tiene el TGF- $\beta$  en la patogénesis de la fibrosis renal, se han desarrollado investigaciones sobre el uso de **anticuerpos monoclonales anti-TGF- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1 mAb)** para neutralizar el TGF- $\beta$ 1 y regular así la progresión de la enfermedad.

El TGF- $\beta$ 1 mAb se estudió en un ensayo clínico aleatorizado en fase 2, tras administrar diferentes dosis a los grupos de estudio (2mg, 10mg y 50mg de forma mensual subcutánea) frente al placebo. Los pacientes incluidos en él se encontraban a su vez en tratamiento adecuado con IECAs o ARAII, además de control adecuado de la presión arterial. El análisis de los datos obtenidos mostró que, contra todo pronóstico, no se observaron diferencias estadísticamente significativas de las tres dosis administradas frente al placebo en la creatinina plasmática, filtrado glomerular y excreción de proteínas en orina. Aún queda investigación por llevar a cabo sobre este mecanismo para establecer posibles marcadores farmacodinámicos y estudiar su eficacia en la ND (51).

Unos fármacos ampliamente conocidos y considerados hoy en día como la principal intervención farmacológica para los pacientes con ND son los **IECAs y ARA II**. Estos van a actuar sobre el eje renina-angiotensina-aldosterona, inhibiendo la enzima convertidora de angiotensina (IECAs) o antagonizando el receptor de angiotensina II (ARA II). Este eje tiene un papel esencial en la homeostasis del riñón, actuando principalmente en la arteriola eferente. En un estudio se ha investigado el papel de los IECAs como atenuantes de los efectos renales de los AGEs mediante la vía del NO. El NO es uno de los mediadores involucrados en la vía de daño de los AGEs, disminuyendo su producción y evolucionando hacia la hipertrofia renal. En este estudio en medios celulares, se observó que los AGEs disminuyen la producción de NO, la actividad de la iNOs, síntesis de GMPc y activación de PKG en las células tubulares renales. Al emplear IECAs (Captopril y Enalapril) se observó una inhibición de la hipertrofia tubular renal inducida por la interacción AGE/RAGE mediante la estimulación de la señalización N/GMPc/PKG. De esta forma se ha demostrado que, in vitro, existe una relación entre el efecto de los IECAs y el mecanismo de daño de los AGEs, añadiendo más información de la ya conocida sobre estos fármacos y el desarrollo de ND (52).

También se ha estudiado el efecto del Ramipril, en este caso relacionado con la inducción de la metaloproteínasa de matriz 2 (MMP-2) inducida por AGE-RAGE. La MMP-2 es una proteína componente de la MEC que puede degradar el colágeno tipo I y IV y laminina, capaz de inducir la EMT y fibrosis en la ND. Esta puede ser activada por la interacción AGE-RAGE. En este estudio en ratas, se demostró que la actividad de MMP-2, generación de ROS, AGEs y expresión de RAGE estaban aumentadas en los túbulos renales de ratas diabéticas, además de la excreción urinaria de proteínas. Estos efectos fueron inhibidos por el Ramipril (53).

Estos mecanismos quedan resumidos en la **Figura 5**.

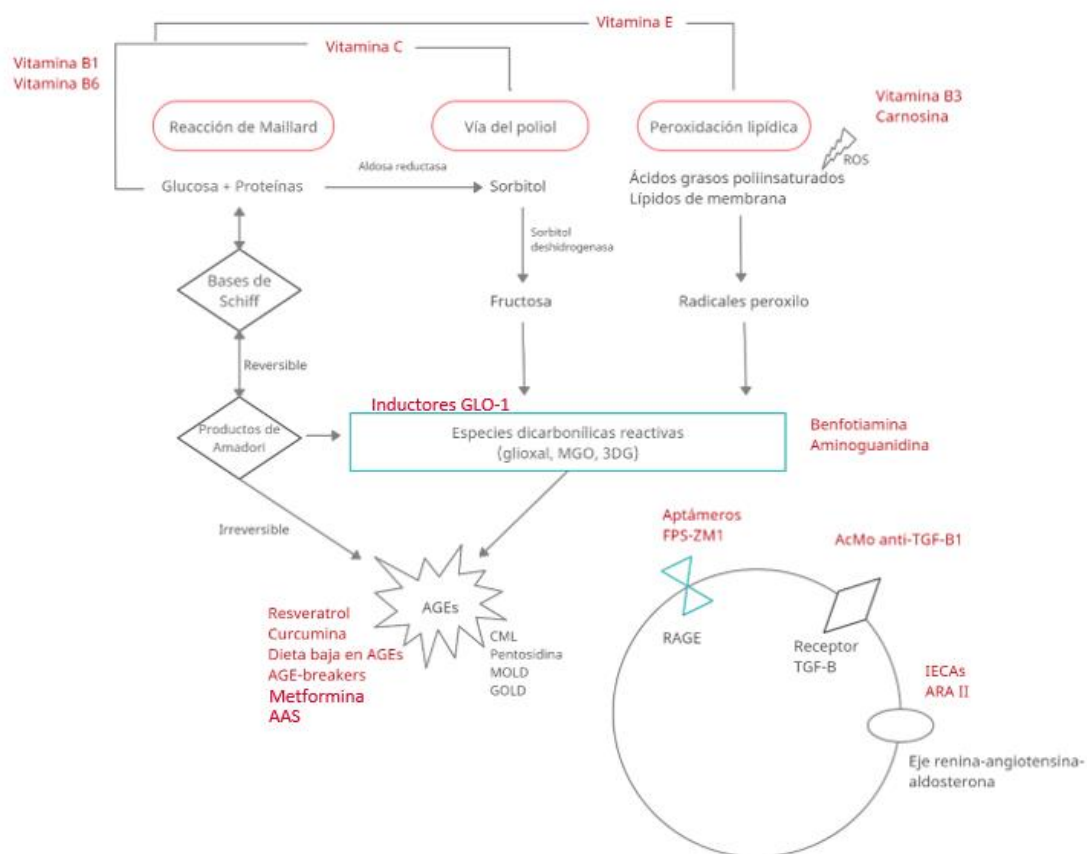


Figura 5 Posibles dianas terapéuticas contra los AGEs

## 6 DISCUSIÓN

Tras la revisión realizada, no queda duda alguna del importante papel que juegan los AGEs en las complicaciones derivadas de la DM en general, y en la ND en particular. El TP es una de las localizaciones en las cuales va a producirse un daño importante derivado del efecto de los AGEs, sumándose al que puede ocurrir en otras partes del riñón, como el glomérulo. Del equilibrio entre la formación de AGEs y su eliminación va a depender la progresión de las lesiones. En pacientes con DM, este equilibrio se ve modificado hacia un exceso de AGEs.

Los mecanismos implicados en la progresión de la ND son muy complejos, y hoy en día siguen describiéndose nuevas vías. A modo de resumen, podemos dividir los mecanismos patogénicos relacionados con los AGEs de la siguiente forma:

- Aquellos mediados por la acción del RAGE, que activará vías de señalización intracelulares. Como consecuencia, se producirá un aumento del estrés oxidativo, transcripción de citocinas proinflamatorias, profibróticas y colágeno. Además de esto, se van a alterar los procesos de autofagia, aumentando el estrés del RE y llevando finalmente a la senescencia prematura de las células del TP.
- Efectos RAGE-independientes, donde encontramos el “crosslinking”, una forma de daño directo de los AGEs sobre la MEC que cobra gran importancia. Además, también van a afectar de forma directa a la célula, comprometiendo el manejo de las proteínas por el RE.

Al final, este daño sobre el TP va a favorecer la EMT, donde cobra una especial importancia el CTGF. Va a haber un aumento de colágeno y disminución de tejido tubular, terminando por producir fibrosis renal, el último estadio de daño en la ERC. A esto se sumará el daño que también se produce en el endotelio tubular, que van a ver alterada la producción de NO y regulación del VEGF, además de la viabilidad de las EPC.

Si bien la utilidad clínica es, hasta ahora, limitada, los mecanismos descritos pueden servir para abrir nuevas líneas de investigación y manejo del paciente con ND. Los pilares clásicos del tratamiento de la DM son el control de la dieta, la actividad física y los fármacos. Teniendo en cuenta que, por un lado, podemos consumir AGEs con la dieta, y por otro, algunos elementos presentes en la dieta han demostrado tener acciones preventivas sobre la formación de AGEs (vitaminas C, E, B1, B3, B6...), sería interesante añadir a las recomendaciones dietéticas habituales un menor consumo de alimentos altos en AGEs y favorecer en un mayor consumo de aquellos con efecto beneficioso.

Además de lo anterior, encontrar un mecanismo farmacológico eficaz que pudiese contrarrestar el efecto de los AGEs podría ser clave para prevenir la ND y evitar su progresión. En este campo hay distintas estrategias en desarrollo:

- Acción de “AGE-breakers”, revirtiendo el crosslinking. Aquí destaca el alagebrium, que a pesar de obtener resultados prometedores, no llegó a completar sus ensayos clínicos, el LR-90 o el ALT-946.
- Moduladores del RAGE, como los aptámeros y el FPS-ZM1. Estos serían capaces de bloquear la acción del RAGE (no así los efectos directos de los AGEs no dependientes del RAGE).
- TGF-B1 mAb, que serían capaces de evitar los efectos derivados del TGF-B1.

A esto hay que sumar otros fármacos ya empleados en este tipo de pacientes, como los IECAs/ARA II, que además de su efecto principal parecen tener relación también con el daño producido por los AGEs.

Otra utilidad clínica que se ha intentado desarrollar es el uso de marcadores relacionados con los AGEs como el MGO y el ratio AGEs/sRAGE para estratificar a los pacientes según el riesgo de progresión a ND. Aunque son ideas muy prometedoras a priori, es necesaria una mayor investigación en este campo para poder obtener marcadores altamente fiables que puedan emplearse en la práctica clínica diaria.

## 7 CONCLUSIONES

---

1. El TP tiene un importante papel en el desarrollo de ND, siendo los AGEs uno de los principales elementos involucrados en su patogenia. Estos se encuentran elevados en la DM al aumentar su producción o alterarse su eliminación.
2. Los AGEs van a interactuar con el RAGE, activando vías intracelulares que tendrán como consecuencia un aumento del estrés oxidativo, producción de citocinas proinflamatorias y profibróticas. También se van a alterar los procesos de autofagia de la célula provocando mayor estrés del retículo endoplasmático.
3. Otros mecanismos no dependientes del RAGE van a alterar el manejo de proteínas de la célula. Además, se va a producir daño directo sobre la MEC (fenómeno de *crosslinking*), alterando el colágeno y proteoglicanos como el HS.
4. El endotelio tubular también sufre los efectos de los AGEs, disminuyendo la producción de NO, aumentando el angiotensinógeno, alterando la producción de VEGF y disminuyendo la viabilidad de as EPC.
5. Al final se produce EMT llegando a la situación de fibrosis, el daño final que va a sufrir el riñón como consecuencia del daño producido por los AGEs. Un factor de gran importancia en este proceso es el CTGF.
6. Se ha propuesto el sRAGE como marcador para predecir la evolución de ND, aunque los resultados no son concluyentes.
7. Han sido descritas numerosas sustancias con el objetivo de prevenir la formación de AGEs, inhibir su acción, modular el RAGE y actuar sobre otras vías activadas por los AGEs (TGF-B1 mAb, eje renina-angiotensina-aldosterona) con el objetivo de mitigar su efecto en la progresión de la ND.

## 8 BIBLIOGRAFÍA

---

1. Gorostidi M, Sánchez-Martínez M, Ruilope LM, Graciani A, de la Cruz JJ, Santamaría R, et al. Prevalencia de enfermedad renal crónica en España: impacto de la acumulación de factores de riesgo cardiovascular. *Nefrología*. 2018;38(6):606–15.
2. Lin YC, Chang YH, Yang SY, Wu KD, Chu TS. Update of pathophysiology and management of diabetic kidney disease. *Journal of the Formosan Medical Association* [Internet]. 2018;117(8):662–75. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.jfma.2018.02.007>
3. Slyne J, Slattery C, McMorrow T, Ryan MP. New developments concerning the proximal tubule in diabetic nephropathy: In vitro models and mechanisms. *Nephrology Dialysis Transplantation*. 2015;30:iv60–7.
4. Gutiérrez MMA, Cantero AP, Caballero L. Protocolo diagnóstico y terapéutico de la nefropatía diabética. 2020;13(17):3–6.
5. Gilbert RE. Proximal tubulopathy: Prime mover and key therapeutic target in diabetic kidney disease. *Diabetes*. 2017;66(4):791–800.
6. Schnaper HW. The Tubulointerstitial Pathophysiology of Progressive Kidney Disease. *Advances in Chronic Kidney Disease*. 2017;24(2):107–16.
7. Dou L, Jourde-Chiche N. Endothelial toxicity of high glucose and its by-products in diabetic kidney disease. *Toxins*. 2019;11(10):1–16.
8. Yamagishi SI, Matsui T. Advanced glycation end products, oxidative stress and diabetic nephropathy. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2010;3(2):101–8.
9. Carvajal Carvajal C. Productos finales de glicación (AGES) y la nefropatía diabética. *Medicina Legal de Costa Rica*. 2015;32(1):154–60.
10. Kumar Pasupulati A, Chitra PS, Reddy GB. Advanced glycation end products mediated cellular and molecular events in the pathology of diabetic nephropathy. *Biomolecular Concepts*. 2016;7(5–6):293–9.
11. Maessen DEM, Stehouwer CDA, Schalkwijk CG. The role of methylglyoxal and the glyoxalase system in diabetes and other age-related diseases. *Clinical Science*. 2015;128(12):839–61.
12. Ott C, Jacobs K, Haucke E, Navarrete Santos A, Grune T, Simm A. Role of advanced glycation end products in cellular signaling. *Redox Biology* [Internet]. 2014;2(1):411–29. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.redox.2013.12.016>
13. Bettiga A, Fiorio F, di Marco F, Trevisani F, Romani A, Porrini E, et al. The modern western diet rich in advanced glycation end-products (AGEs): An overview of its impact on obesity and early progression of renal pathology. *Nutrients*. 2019;11(8).
14. Inagi R. RAGE and glyoxalase in kidney disease. *Glycoconjugate Journal* [Internet]. 2016;33(4):619–26. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10719-016-9689-8>
15. Prasad K, Mishra M. AGE-RAGE Stress, Stressors, and Antistressors in Health and Disease. *International Journal of Angiology*. 2018;27(1):1–12.

16. Zhuang A, Forbes JM. Diabetic kidney disease: a role for advanced glycation end-product receptor 1 (AGE-R1)? *Glycoconjugate Journal* [Internet]. 2016;33(4):645–52. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s10719-016-9693-z>
17. Lee EJ, Park JH. Receptor for Advanced Glycation Endproducts (RAGE), Its Ligands, and Soluble RAGE: Potential Biomarkers for Diagnosis and Therapeutic Targets for Human Renal Diseases. *Genomics & Informatics*. 2013;11(4):224.
18. Yan Z, Luo H, Xie B, Tian T, Li S, Chen Z, et al. Targeting adaptor protein SLP76 of RAGE as a therapeutic approach for lethal sepsis. *Nature Communications* [Internet]. 2021;12(1). Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41467-020-20577-3>
19. Ding Q, Keller JN. Evaluation of rage isoforms, ligands, and signaling in the brain. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research*. 2005;1746(1):18–27.
20. Grossin N, Wautier MPS, Picot J, Stern DM, Wautier JLT. Differential effect of plasma or erythrocyte AGE-ligands of RAGE on expression of transcripts for receptor isoforms. *Diabetes and Metabolism*. 2009;35(5):410–7.
21. Fukami K, Taguchi K, Yamagishi SI, Okuda S. Receptor for advanced glycation endproducts and progressive kidney disease. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. 2015;24(1):54–60.
22. Stinghen AEM, Massy ZA, Vlassara H, Striker GE, Boullier A. Uremic toxicity of advanced glycation end products in CKD. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2016;27(2):354–70.
23. Yashpal S, Kanwar, Lin Sun, Ping Xie, Fu-you Liu and SC. A Glimpse of Various Pathogenetic Mechanisms of Diabetic Nephropathy. *Annu Rev Pathol* [Internet]. 2011;6:395–423. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3624763/pdf/nihms412728.pdf>
24. Gugliucci A, Menini T. The axis AGE-RAGE-soluble RAGE and oxidative stress in chronic kidney disease. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. 2014;824:191–208.
25. Widomska Justyna. Advanced Glycation End Products Stimulate Angiotensinogen Production in Renal Proximal Tubular Cells. *Physiology & behavior*. 2017;176(5):139–48.
26. Chen L, Yang T, Lu DW, Zhao H, Feng YL, Chen H, et al. Central role of dysregulation of TGF- $\beta$ /Smad in CKD progression and potential targets of its treatment. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2018;101:670–81.
27. Ono H, Abe H, Sakurai A, Ochi A, Tominaga T, Tamaki M, et al. Novel Interplay between Smad1 and Smad3 Phosphorylation via AGE Regulates the Progression of Diabetic Nephropathy. *Scientific Reports*. 2018;8(1):1–14.
28. Li JH, Huang XR, Zhu HJ, Oldfield M, Cooper M, Truong LD, et al. Advanced glycation end products activate Smad signaling via TGF-beta-dependent and independent mechanisms: implications for diabetic renal and vascular disease. *The FASEB journal : official publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 2004;18(1):176–8.
29. Peres GB, Schor N, Michelacci YM. Impact of high glucose and AGEs on cultured kidney-derived cells. Effects on cell viability, lysosomal enzymes and effectors of cell signaling

- pathways. *Biochimie* [Internet]. 2017;135:137–48. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biochi.2017.02.004>
30. Liu WJ, Shen TT, Chen RH, Wu HL, Wang YJ, Deng JK, et al. Autophagy-lysosome pathway in renal tubular epithelial cells is disrupted by advanced glycation end products in diabetic nephropathy. *Journal of Biological Chemistry*. 2015;290(33):20499–510.
  31. Liu J, Huang K, Cai GY, Chen XM, Yang JR, Lin LR, et al. Receptor for advanced glycation end-products promotes premature senescence of proximal tubular epithelial cells via activation of endoplasmic reticulum stress-dependent p21 signaling. *Cellular Signalling*. 2014;26(1):110–21.
  32. Gautieri A, Redaelli A, Buehler MJ, Vesentini S. Age- and diabetes-related nonenzymatic crosslinks in collagen fibrils: Candidate amino acids involved in Advanced Glycation End-products. *Matrix Biology* [Internet]. 2014;34:89–95. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.matbio.2013.09.004>
  33. Bansode SB, Gacche RN. Glycation-induced modification of tissue-specific ECM proteins: A pathophysiological mechanism in degenerative diseases. *Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects*. 2019;1863(11).
  34. Masola V, Gambaro G, Tibaldi E, Onisto M, Abaterusso C, Lupo A. Regulation of heparanase by albumin and advanced glycation end products in proximal tubular cells. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Cell Research* [Internet]. 2011;1813(8):1475–82. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbamcr.2011.05.004>
  35. Fan Y, Lee K, Wang N, He JC. The Role of Endoplasmic Reticulum Stress in Diabetic Nephropathy. *Current Diabetes Reports*. 2017;17(3).
  36. Jourde-Chiche N, Fakhouri F, Dou L, Bellien J, Burtey S, Frimat M, et al. Endothelium structure and function in kidney health and disease. *Nature Reviews Nephrology* [Internet]. 2019;15(2):87–108. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41581-018-0098-z>
  37. Majumder S, Advani A. VEGF and the diabetic kidney: More than too much of a good thing. *Journal of Diabetes and its Complications* [Internet]. 2017;31(1):273–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2016.10.020>
  38. Shen C, Li Q, Zhang YC, Ma G, Feng Y, Zhu Q, et al. Advanced glycation endproducts increase EPC apoptosis and decrease nitric oxide release via MAPK pathways. *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 2010;64(1):35–43.
  39. Zeisberg EM, Potenta SE, Sugimoto H, Zeisberg M, Kalluri R. Fibroblasts in kidney fibrosis emerge via endothelial-to-mesenchymal transition. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2008;19(12):2282–7.
  40. Chung ACK, Zhang H, Kong YZ, Tan JJ, Huang XR, Kopp JB, et al. Advanced glycation end-products induce tubular CTGF via TGF- $\beta$ -independent Smad3 signaling. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2010;21(2):249–60.
  41. Burns WC, Twigg SM, Forbes JM, Pete J, Tikellis C, Thallas-Bonke V, et al. Connective tissue growth factor plays an important role in advanced glycation end product-induced

- tubular epithelial-to-mesenchymal transition: Implications for diabetic renal disease. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2006;17(9):2484–94.
42. Beisswenger PJ, Howell SK, Russell GB, Miller ME, Rich SS, Mauer M. Early progression of diabetic nephropathy correlates with methylglyoxal-derived advanced glycation end products. *Diabetes Care*. 2013;36(10):3234–9.
  43. Prasad K. Is there any evidence that AGE/sRAGE is a universal biomarker/risk marker for diseases? *Molecular and Cellular Biochemistry* [Internet]. 2019;451(1–2):139–44. Available from: <http://dx.doi.org/10.1007/s11010-018-3400-2>
  44. Alam S, Ahsan A, Alam S. Newer insights in drugs inhibiting formation and accumulation of advanced glycation end products. *Journal of Biochemical Technology*. 2013;5(1):666–72.
  45. Sourris KC, Watson A, Jandeleit-Dahm K. Inhibitors of Advanced Glycation End Product (AGE) Formation and Accumulation. *Handbook of Experimental Pharmacology*. 2021;264:395–423.
  46. Toprak C, Yigitaslan S. Alagebrium and complications of diabetes mellitus. *Eurasian Journal of Medicine*. 2019;51(3):285–92.
  47. Vasan S, Foiles P, Founds H. Therapeutic potential of breakers of advanced glycation end product-protein crosslinks. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 2003;419(1):89–96.
  48. Sanajou D, Ghorbani Haghjo A, Argani H, Aslani S. AGE-RAGE axis blockade in diabetic nephropathy: Current status and future directions. *European Journal of Pharmacology* [Internet]. 2018;833(April):158–64. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2018.06.001>
  49. Matsui T, Higashimoto Y, Nishino Y, Nakamura N, Fukami K, Yamagishi SI. RAGE-aptamer blocks the development and progression of experimental diabetic nephropathy. *Diabetes*. 2017;66(6):1683–95.
  50. Sanajou D, Ghorbani Haghjo A, Argani H, Roshangar L, Rashtchizadeh N, Ahmad SNS, et al. Reduction of renal tubular injury with a RAGE inhibitor FPS-ZM1, valsartan and their combination in streptozotocin-induced diabetes in the rat. *European Journal of Pharmacology*. 2019;842(June 2018):40–8.
  51. Voelker J, Berg PH, Sheetz M, Duffin K, Shen T, Moser B, et al. Anti-TGF- $\beta$ 1 antibody therapy in patients with diabetic nephropathy. *Journal of the American Society of Nephrology*. 2017;28(3):953–62.
  52. Hwang JY, Kan WC, Liu Y bin, Chuang LY, Guh JY, Yang YL, et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors attenuated advanced glycation end products-induced renal tubular hypertrophy via enhancing nitric oxide signaling. *Journal of Cellular Physiology*. 2019;234(10):17473–81.
  53. Fukami K, Yamagishi SI, Coughlan MT, Harcourt BE, Kantharidis P, Thallas-Bonke V, et al. Ramipril inhibits AGE-RAGE-induced matrix metalloproteinase-2 activation in experimental diabetic nephropathy. *Diabetology and Metabolic Syndrome*. 2014;6(1):1–9.



## ANEXOS

### Anexo 1 Índice de abreviaturas

Abreviatura	Significado
3DG	3-desoxiglucosona
AGEs	Productos finales de glicosilación avanzada (Advanced glycation end-products)
AGE-BSA	Albúmina glicada
ADPKD	Poliquistosis renal autosómica dominante
ARA II	Antagonistas del receptor de angiotensina II
CML	Carboximetil lisina
CML-HSA	Hemoglobina ligada a carboximetil lisina
CTFG	Factor de crecimiento del tejido conectivo (Connective tissue growth factor)
DM	Diabetes Mellitus
DM2	Diabetes Mellitus tipo 2
DN-RAGE	RAGE dominante negativo
EMT	Transición epitelial-mesenquimal
EPC	Células progenitoras endoteliales
ERC	Enfermedad renal crónica
FL-RAGE	Full-length RAGE
GLO1	Glioxalasa-1
GLO2	Glioxalasa-2
GOLD	Dímero glioxal-lisina
GSH	Glutathion reducido
HMGB1	Proteínas de alta movilidad de tipo 1 (High-morbidity group protein (B) 1)
HPSE	Enzima endo-B-D-glucuronidasa específica para HS o heparanasa
HS	Heparán sulfato
IECAs	Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina
LAMP1	Proteína de membrana asociada al lisosoma
MEC	Matriz extracelular
MGO	Metilglioxal
MGO-HSA	Hemoglobina ligada a metilglioxal
MMP-2	Metaloproteinasas de matriz 2
MOLD	Dímero metilglioxal-lisina
ND	Nefropatía diabética
NF-kB	Factor nuclear-kB
Nt-RAGE	N-truncated RAGE
PAI-1	Inhibidor del activador de plasminógeno 1
RAGE	Receptor de AGEs
RE	Retículo endoplasmático
ROS	Especies reactivas de oxígeno (Reactive oxygen species)
SCASEST	Síndrome coronario agudo sin elevación de ST
SIRT1	Sirtulina 1
sRAGE	Porción soluble del RAGE
SOD	Superóxido dismutasa
TGF-B	Factor de crecimiento transformante B
TGF-B1 mAb	Anticuerpos monoclonales anti-TGF-B1
TP	Túbulo proximal renal
VEGF	Factor de crecimiento endotelial vascular

