



## Asociación entre las concentraciones del factor transformante de crecimiento $\beta 1$ y albuminuria en diabéticos normotensos

### RESUMEN

**Antecedentes:** varias citocinas y factores de crecimiento están implicados en la aparición de la nefropatía diabética, entre ellos el factor transformante de crecimiento  $\beta$ -1 (TGF- $\beta$ 1), mismo que favorece la hipertrofia glomerular, la apoptosis, la expansión de la matriz extracelular y la glomerulosclerosis.

**Objetivo:** evaluar la relación entre el grado de albuminuria con las concentraciones de TGF- $\beta$ 1 en pacientes diabéticos normotensos.

**Pacientes y método:** estudio prospectivo, efectuado en 30 pacientes diabéticos normotensos sin tratamiento antihipertensivo y sin ingestión previa de estatinas ni glitazonas; se determinaron las concentraciones séricas de TGF- $\beta$ 1 (ELISA), así como la concentración de albúmina en orina de 24 horas. Los métodos estadísticos usados fueron el coeficiente de correlación de orden jerarquizado de Spearman y la prueba exacta de Fisher.

**Resultados:** encontramos una correlación significativa entre las concentraciones de TGF- $\beta$ 1 y la albuminuria, y una probabilidad significativa ( $p = 0.028$ ) de tener más de 100 mg de albúmina en orina de 24 horas al tener concentraciones de TGF- $\beta$ 1 mayores de 41 ng/mL.

**Conclusión:** estos resultados apoyan la importancia del TGF- $\beta$ 1 en la aparición de nefropatía en pacientes diabéticos normotensos al encontrar correlación entre las concentraciones del factor y el grado de albuminuria en estos pacientes. Esto abre la posibilidad de su uso como marcador bioquímico de la enfermedad y como blanco preventivo.

**Palabras clave:** nefropatía diabética, factor transformante de crecimiento  $\beta$ 1, diabetes mellitus, albuminuria.

## Association between Levels of Growing Transforming Factor $\beta 1$ and Albuminuria in Normotensive Diabetic Patients

### ABSTRACT

**Background:** Several cytokines and growing factors have been implicated in the pathophysiology of diabetic renal damage, as the transforming growth factor-beta1 (TGF- $\beta$ 1), which plays a key role in the development of diabetic nephropathy because TGF- $\beta$ 1 favors glomerular hypertrophy, extracellular matrix expansion and glomerulosclerosis.

Alberto F Rubio-Guerra<sup>1,3</sup>  
Hilda Vargas-Robles<sup>2</sup>  
Leticia Rodríguez-López<sup>1,3</sup>  
Juan Antonio Suárez-Cuenca<sup>3</sup>  
Bruno A Escalante-Acosta<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Hospital General de Ticomán, Secretaría de Salud del DF, México, DF.

<sup>2</sup> Departamento de Biomedicina Molecular, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, México, DF.

<sup>3</sup> Grupo Mexicano de Investigación Básica y Clínica en Medicina Interna.

<sup>4</sup> CINVESTAV Monterrey, Nuevo León, México.

Recibido: 13 de septiembre 2013

Aceptado: febrero 2014

### Correspondencia

Dr. Alberto Francisco Rubio Guerra  
Motozintla 30  
03600 México, DF  
clinhta@hotmail.com

### Este artículo debe citarse como

Rubio-Guerra AF, Vargas-Robles H, Rodríguez-López L, Suárez-Cuenca JA, Escalante-Acosta BA. Asociación entre las concentraciones del factor transformante de crecimiento  $\beta$ 1 y albuminuria en diabéticos normotensos. Med Int Méx 2014;30:235-239.

**Objective:** To evaluate the relationship between the levels of TGF- $\beta$ 1 and the degree of albuminuria in normotensive type-2 diabetic patients.

**Patients and method:** A prospective study was done with 30 normotensive type-2 diabetic patients in whom TGF- $\beta$ 1 was measured by ELISA. Additionally, 24 h urinary albumin excretion was measured, the levels of TGF- $\beta$ 1 and albuminuria were correlated with the Spearman correlation coefficient.

**Results:** We found a significant correlation ( $r = 0.5, p < 0.001$ ) between TGF- $\beta$ 1 levels and 24 h urinary albumin excretion. We also found that those patients with TGF- $\beta$ 1 values higher than 41 ng/mL had an increased probability to present more than 100 mg of 24 h urinary albumin excretion.

**Conclusion:** Our results suggest that TGF- $\beta$ 1 may be a marker, and potentially a therapeutic target, for nephropathy in normotensive type-2 diabetic patients.

**Key words:** transforming growth factor-beta 1, diabetic nephropathy, albuminuria, diabetes mellitus.

La nefropatía diabética es la principal complicación microvascular de la diabetes mellitus y es la causa más común de insuficiencia renal crónica en el mundo.<sup>1</sup> Es un proceso frecuente que afecta aproximadamente a 30% de los diabéticos<sup>2</sup> y repercute negativamente en la expectativa de vida del paciente diabético porque alrededor de 30% de los pacientes que requieren diálisis mueren en el transcurso de un año.<sup>1</sup>

Existe una asociación importante entre microalbuminuria y mortalidad cardiovascular, independientemente de los demás factores de riesgo coronario, esto se debe a que la microalbuminuria es un marcador de daño endotelial. Sin intervención específica la microalbuminuria progresará a nefropatía, insuficiencia renal y enfermedad renal terminal.<sup>3,4</sup>

La inflamación tiene un papel decisivo en la aparición de nefropatía diabética, diversas células inflamatorias como macrófagos y monocitos,

las moléculas de adhesión, factores de crecimiento como el factor de crecimiento globular  $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) y el factor vascular endotelial de crecimiento, algunos factores quimiotácticos y varias citocinas participan en el proceso que origina la nefropatía diabética.<sup>5,6</sup>

El TGF- $\beta$ 1 es una citocina clave en la aparición de la nefropatía diabética, la hiperglucemia induce mayor actividad del TGF- $\beta$ 1 en el riñón, lo que favorece hipertrofia glomerular, expansión de la matriz extracelular y glomerulosclerosis,<sup>7</sup> mientras que el tratamiento anti-TGF- $\beta$ 1 previene la reducción progresiva de la función renal y revierte el engrosamiento y la expansión mesangial en animales diabéticos.<sup>8,9</sup>

Stehouwer y colaboradores reportaron que en los pacientes diabéticos tipo 2 la excreción urinaria de albúmina, la disfunción endotelial y la inflamación crónica son entidades relacionadas entre ellas y asociadas con riesgo de muerte cardiovascular.<sup>10</sup>



El objetivo de este trabajo es valorar la relación entre las concentraciones de TGF- $\beta$ 1 y la albuminuria de 24 horas en pacientes normotensos con diabetes tipo 2.

## PACIENTES Y MÉTODO

Estudio prospectivo en el que se incluyeron 30 pacientes diabéticos normotensos en quienes se determinaron las concentraciones séricas de TGF- $\beta$ 1, así como la concentración de albúmina en orina de 24 horas.

En todos los pacientes se recolectó la orina de 24 horas, con inicio en la mañana del primer día después de la primera micción, misma que se desechó. Se pidió a los pacientes que orinaran directamente en frascos lavados de boca ancha, durante todo ese día, e incluyeran la primera orina del día siguiente, las muestras se entregaron ese mismo día. Una vez determinado el volumen urinario en 24 horas, se tomó una alícuota y en ella se cuantificaron las proteínas urinarias por el método UPCF (Behring), que permite cuantificar valores reducidos de proteínas.

Para evitar la influencia del ejercicio en la excreción urinaria de albúmina, se recomendó a los pacientes no realizar ejercicio tres días antes a la recolección.

Se excluyeron los pacientes con alguno de los siguientes diagnósticos: insuficiencia cardíaca, hepática (aminotransferasas séricas aumentadas a más del doble de su límite superior) o renal (creatinina  $> 2.5$  mg/dL), hipertensión arterial, diabetes mellitus tipo 1 y enfermedades reumáticas, así como con antecedente de abuso de alcohol o drogas psicotrópicas y de ingestión de antihipertensivos, estatinas y glitazonas.

Todas las muestras se tomaron por punción venosa (aproximadamente 15 mL), después de un ayuno de 8 horas, en tubos sin anticoagulante;

las muestras se centrifugaron a 800 rpm durante 15 minutos, posteriormente se separó el suero para ser procesado.

De inmediato se determinó la glucosa sérica (glucosa oxidasa), creatinina sérica (método de Jaffé), perfil de lípidos con colesterol (método de CHOD-PAP) y triglicéridos (método triglicérido-PAP). En quienes tuvieron valores de triglicéridos  $< 400$  mg/dL la cuantificación de LDL se hizo con el método de Friedewald y en quienes tuvieron valores superiores se determinaron directamente.

Las muestras para cuantificación de TGF- $\beta$ 1 se congelaron a  $-70^{\circ}\text{C}$  hasta el momento de su determinación por duplicado con el método de ELISA (RyD systems, Mineápolis, MN).

El estudio lo aprobó el comité de bioética e investigación de nuestro hospital y se realizó de acuerdo con la declaración de Helsinki, los pacientes dieron su consentimiento informado por escrito antes de ser incluidos.

Utilizamos el valor de 40 ng/mL de TGF- $\beta$ 1 como punto de corte porque el fabricante establecía 39 pg/mL como el obtenido en sujetos sanos.

## Análisis estadístico

Los métodos estadísticos utilizados fueron el coeficiente de correlación de orden jerarquizado de Spearman y la prueba exacta de Fisher. Los datos se presentan como media  $\pm$  desviación estándar, el valor de  $p < 0.05$  se consideró significativo.

## RESULTADOS

Las características basales de los pacientes se muestran en el Cuadro 1.

Las concentraciones de TGF- $\beta$ 1 de los pacientes fueron de  $43.33 \pm 10.47$  ng/mL, la albuminuria se determinó en  $359.75 \pm 63$  mg en orina de 24 horas.

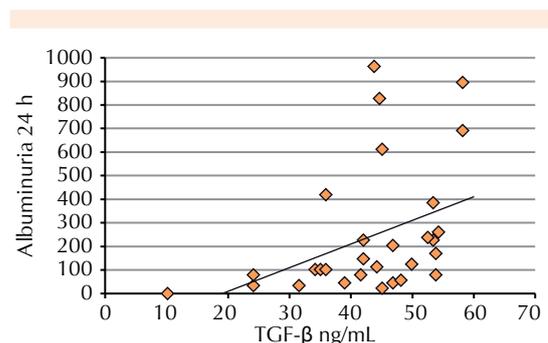
**Cuadro 1.** Características basales de los pacientes

Edad (años)	58 ± 10.2
Sexo (M/F)	13/17
Glucemia (mg/dL)	135.3 ± 25
HbA1c	6
Años con diabetes mellitus	8.48
Lipoproteínas de baja densidad (mg/dL)	127.5 ± 32
Índice de masa corporal	30.4 ± 5.1
Presión arterial (mmHg)	124/74

Al correlacionar el grado de albuminuria con las concentraciones de TGF-β1, encontramos una correlación significativa ( $r = 0.5, p < 0.001$ , Figura 1) entre ambas variables y una probabilidad significativa ( $p = 0.028$ ) para tener más de 100 mg de albúmina en orina de 24 horas con concentraciones de TGF-β1 mayores de 41 ng/mL.

### DISCUSIÓN

Los pacientes diabéticos incluidos tuvieron una correlación directa entre las concentraciones circulantes de TGF-β1 y el grado de albuminuria. Incluir pacientes diabéticos normotensos sin tratamiento antihipertensivo y sin ingestión previa de estatinas ni glitazonas –fármacos que reducen la albuminuria<sup>11</sup>– permite obtener resultados confiables sin sesgos y llegar a conclusiones válidas.



**Figura 1.** Correlación entre albúmina en orina de 24 horas y concentración del factor transformante de crecimiento β1.  $r = 0.5, p < 0.001$ .

El esquema clásico de aparición de la nefropatía diabética como un trastorno hemodinámico y metabólico se ha modificado radicalmente en los últimos años, la evidencia muestra un papel importante de mecanismos inflamatorios.<sup>12</sup>

La producción renal de TGF-β1 está incrementada en el paciente diabético, estimulada fundamentalmente por la hiperglucemia y el aumento del estrés oxidativo, este factor estimula la síntesis de matriz extracelular,<sup>9,13</sup> diversos estudios han implicado a este mediador como un elemento fundamental en la aparición de nefropatía diabética,<sup>9,11</sup> aunque su papel en la génesis de albuminuria se ha cuestionado, porque en algunos estudios en los que se administran anticuerpos anti-TGF-β1 en ratones diabéticos, aunque no reducen la proteinuria, previenen el daño renal inducido por la albuminuria, mantienen la depuración de creatinina y revierten las alteraciones histológicas del riñón, con disminución de la fibrosis renal, reducción de la expansión mesangial y mejoría de la función renal.<sup>9</sup> Asimismo, estudios en los que se administra a ratas con nefropatía diabética, la combinación de anticuerpos anti-TGF-β1 más un inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina logra mayores reducciones en la excreción urinaria de albúmina que la monoterapia farmacológica.<sup>14</sup> Además, la administración de la proteína morfogenética ósea 7, un mediador que interfiere con la señalización desencadenada por TGF-β1, reduce la fibrosis renal inducida por el factor.<sup>15</sup>

Los resultados obtenidos hasta hoy, si bien dejan claro el papel de este factor en la nefropatía diabética, son contradictorios en cuanto a su papel en la aparición de albuminuria.

Nuestro trabajo es el primer estudio realizado para correlacionar las concentraciones de este cofactor con albuminuria, encontramos una correlación directa entre ambas situaciones (Figura 1).



Los resultados de este estudio tienen implicaciones terapéuticas, las estrategias anti-TGF-β1 deben ser útiles para detener o incluso revertir la nefropatía diabética. De hecho, los agentes que interfieren con el eje renina angiotensina aldosterona realizan esas acciones, lo que explica, en parte, su efecto nefroprotector en los pacientes diabéticos normotensos, en quienes reducen la albuminuria de manera independiente a su efecto antihipertensivo. Asimismo, el efecto protector contra la nefropatía diabética que han mostrado las estatinas y tiazolindinedionas puede estar relacionado con las acciones contra estos mecanismos.<sup>11</sup>

Nuestro grupo encontró que la combinación a dosis fija de trandolapril con verapamil en pacientes diabéticos hipertensos produce mayor disminución de las concentraciones de ese factor que la monoterapia con trandolapril.<sup>16</sup> Previamente también encontramos que la misma combinación produce mayores reducciones de la excreción urinaria de albúmina en pacientes diabéticos normotensos que la monoterapia, lo que también es independiente de su efecto antihipertensivo.<sup>17</sup> Sin embargo, estudios posteriores deberán demostrar si este efecto protector de la combinación es secundario a la reducción de los valores de TGF-β1.

## CONCLUSIÓN

Nuestros resultados apoyan el papel del TGF-β1 en la aparición de nefropatía en pacientes diabéticos normotensos al encontrar correlación entre las concentraciones del propio factor y el grado de albuminuria. Esto abre la posibilidad de su uso como un marcador bioquímico de la complicación y como blanco terapéutico y preventivo.

## REFERENCIAS

1. Craig KJ, Donovan K, Munnery M, Owens DR, et al. Identification and management of diabetic nephropathy in the diabetes clinic. *Diabetes Care* 2003;26:1806-1811.

2. Gruden G, Perin PC, Camussi G. Insight on the pathogenesis of diabetic nephropathy from the study of podocyte and mesangial cell biology. *Current Diabetes Rev* 2005;1:27-40.
3. Dinneen SF, Gerstein HC. The association of microalbuminuria and mortality in non-insulin-dependent diabetes mellitus. A systemic overview of the literature. *Arch Intern Med* 1997;157:1413-1418.
4. Wright J, Vardhan A. The problem of diabetic nephropathy and practical prevention of its progression. *Br J Diabetes Vasc Dis* 2008;8:272-277.
5. Soldatos G, Cooper ME. Diabetic nephropathy: important pathophysiologic mechanisms. *Diab Res Clin Pract* 2008;82:s75-s79.
6. Navarro-González JF, Mora-Fernández C. The role of inflammatory cytokines in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:433-442.
7. Van den Heuvel M, Batenburg WW, Danser J. Diabetic complications: a role for the prorenin-(pro) renin receptor-TGFβ1 axis? *Molecular Cellular Endocrinol* 2009;302:213-218.
8. Chen S, Jim B, Ziyadeh FN. Diabetic nephropathy and transforming growth factor-beta: transforming our view of glomerulosclerosis and fibrosis build-up. *Semin Nephrol* 2003;23:532-543.
9. Ziyadeh FN. Mediators of diabetic renal disease: The case for TGF-β as the mayor mediator. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:S55-S57.
10. Stehouwer CD, Gall MA, Twisk JW, Knudsen E, et al. Increased urinary albumin excretion, endothelial dysfunction, and chronic low-grade inflammation in type 2 diabetes progressive, interrelated, and independently associated with risk of death. *Diabetes* 2002;51:1157-1165.
11. Rubio AF. Nefropatía diabética. En: Castro MG, Liceaga G. *Temas de Medicina Interna*. México: Alfil, 2010;151-163.
12. Rubio AF, Vargas H, Lozano JJ, Escalante BA. Correlation between circulating adhesion molecules levels and albuminuria in type 2 diabetic hypertensive patients. *Kidney Blood Press Res* 2009;32:106-109.
13. Ziyadeh FN. Different roles for TGF β-1 and VEGF in the pathogenesis of the cardinal features of diabetic nephropathy. *Diab Res Clin Pract* 2008;82:38-41.
14. Benigni A. Add-on anti-TGF β antibody to ACE inhibitor arrest progressive diabetic nephropathy in the rat. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:1816-1824.
15. Hills CE, Squires PE. TGF-beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and therapeutic intervention in diabetic nephropathy. *Am J Nephrol* 2010;31:68-74.
16. Rubio-Guerra AF, Vargas-Robles H, Vargas-Ayala G, Rodríguez-Lopez L, et al. Trandolapril-verapamil y TGF β-1. *Revista de la ALAD* 2012;2:304-309.
17. Rubio AF, Arceo A, Vargas G, Rodríguez L. The effect of trandolapril and its fixed-dose combination with verapamil on proteinuria in normotensive adults with type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2004;27:1688-1691.