



El destino de los podocitos en las nefropatías proteinúricas

A. Ortiz, B. Marrón y A. Ramos

Unidad de Diálisis. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

PROTEINURIA

La proteinuria es un factor de riesgo para la progresión de la insuficiencia renal y para la mortalidad cardiovascular¹⁻⁴. En la actualidad disponemos de fármacos capaces de disminuir la proteinuria como los inhibidores del enzima de conversión de la angiotensina (IECA), antagonistas de receptores de angiotensina II (ARA II), esteroides y la ciclosporina A. Sin embargo, existen lagunas en nuestro conocimiento acerca de la patogenia de la proteinuria y sobre el mecanismo de acción de estos fármacos, aún no totalmente aclarado.

La proteinuria supone un fracaso de la barrera de filtración glomerular. La barrera de filtración glomerular limita el paso de macromoléculas, fundamentalmente en función del tamaño, impidiendo el paso de las más grandes, pero también de la carga (las moléculas cargadas negativamente la atraviesan con mayor dificultad) y de la forma de la molécula. La barrera de filtración glomerular está formada por endotelio, membrana basal y podocito (fig. 1A) (revisado en 5). En general se ha considerado que el endotelio fenestrado glomerular apenas opone resistencia al paso de proteínas. Si bien este concepto podría ser revisado en el futuro, en la patogenia de la proteinuria se ha implicado a la membrana basal y al podocito. Durante años se atribuyó un papel fundamental a la membrana basal y a sus cargas negativas. Sin embargo, avances recientes que serán expuestos en el presente artículo, y la constatación de que las nefropatías hereditarias, como el síndrome de Alport, caracterizadas por una membrana basal anómala, son fundamentalmente hematóricas, han devuelto la atención al protagonismo del podocito.

PODOCITOS

Los podocitos tienen una morfología peculiar, caracterizada por prolongaciones a modo de tentáculos, de las que penden pedicelos ricos en actina, en contacto con la membrana basal glomerular (revisado en 6). El filtrado glomerular transcurre a través de hendiduras entre pedicelos, en las que se halla el diafragma de filtración. Los podocitos tienen un papel fundamental en el mantenimiento de la estructura y función de la barrera de filtración glomerular. La lesión del podocito podría causar disfunción por daño subletal (reversible) o letal (muerte de la célula). Existen datos en la literatura que sugieren que ambos mecanismos pueden coexistir.

Los podocitos son células muy diferenciadas. Esto tiene dos consecuencias inmediatas en la patogenia de la proteinuria. Por un lado, no se dividen. En este sentido, se ha equiparado su comportamiento con el de las neuronas: existiría un número de podocitos inicial, que se pierden de forma progresiva e irreversible en el transcurso de la lesión glomerular. No obstante, en algunas patologías, como en las glomerulopatías colapsantes⁷, el fenotipo del podocito se altera y son capaces de dividirse. Por otro lado, los podocitos expresan una serie de proteínas que contribuyen a su alto grado de diferenciación y que son, en algunos casos, específicas de podocitos. De hecho se ha constatado que el defecto de algunas de estas proteínas es causa de proteinuria en el ser humano y/o en animales de experimentación (tabla I, revisado en 6). Desde un punto de vista docente, reconocemos tres grandes grupos de proteínas que contribuyen a la función del podocito (fig. 1B):

- a) proteínas que mantienen la arquitectura del podocito,
- b) proteínas de anclaje a la membrana basal, y
- c) proteínas de la barrera de filtración.

Entre las proteínas de la barrera hemos de destacar la nefrina, una proteína que en el riñón es específica de podocitos, cuyo gen está mutado en el síndrome nefrótico congénito finlandés⁸. Este descubrimiento ha centrado la atención de los estudios sobre la patogenia de la proteinuria en el podocito en los últimos años, desviándolo de la membrana basal. Hemos de

Correspondencia: Dr. Alberto Ortiz
Unidad de Diálisis
Fundación Jiménez Díaz
Av. Reyes Católicos, 2
28040 Madrid
E-mail: aortiz@fjd.es

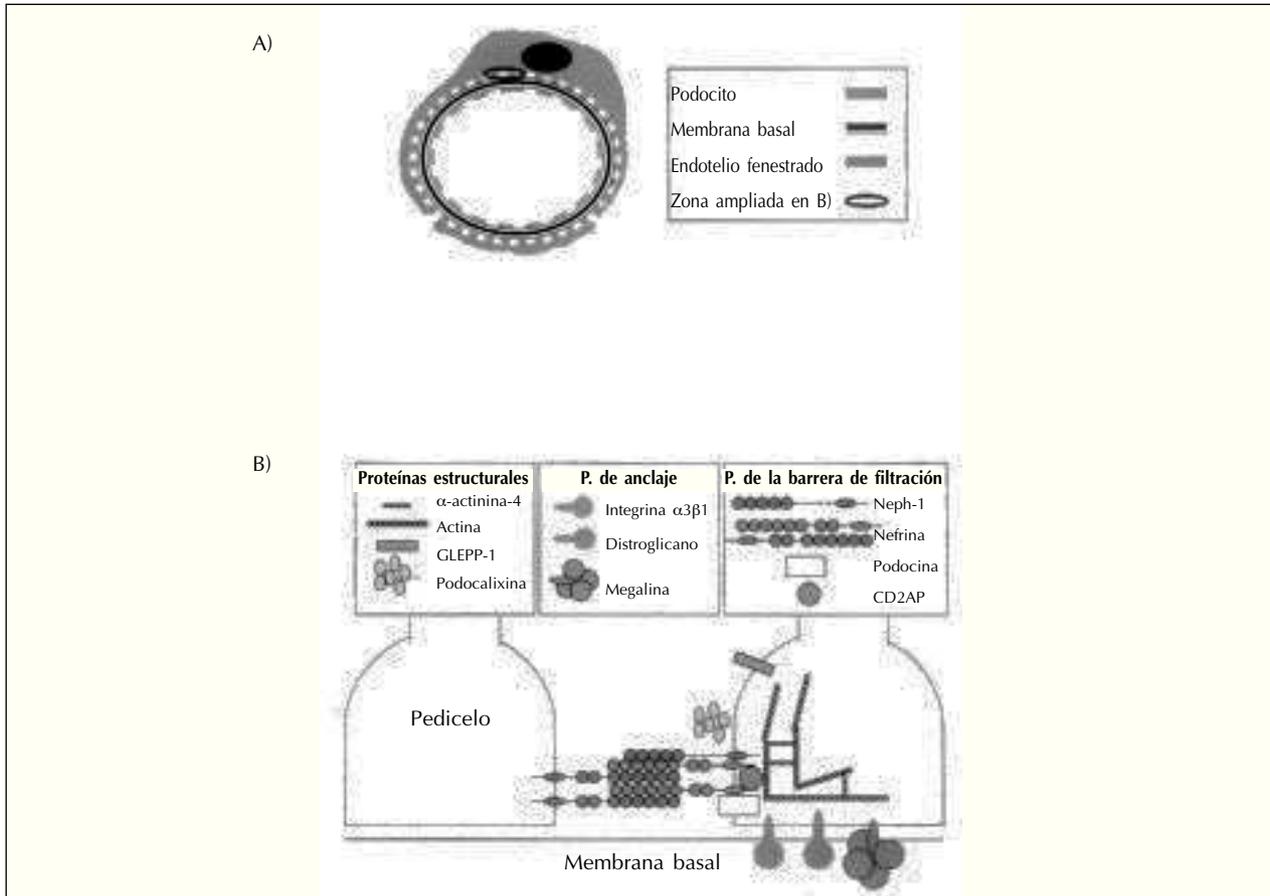


Fig. 1.—Estructura de la barrera de filtración glomerular (A) y principales proteínas conocidas responsables de la estructura y función de los podocitos, mostradas en una ampliación de los pedicelos observados en la figura A (B). Las proteínas están agrupadas según su función más probable en proteínas estructurales (mantiene la peculiar arquitectura del podocito), proteínas de anclaje a la membrana basal y proteína que forman parte de la barrera de filtración glomerular. La figura B ha sido realizada con información procedente de la referencia 6.

Tabla I. Lista parcial de defectos genéticos de proteínas podocitarias que causan proteinuria en el ser humano o en el animal de experimentación

Proteína	Nefropatía	Comentario
<i>Ser humano</i>		
Nefrina	SN congénito finlandés (NPHS1) y experimental	Autosómico recesivo
α-actinina-4	SN: GEFS (FSGS-1)	Autosómico recesivo
Podocina	SN: GEFS (SRN-1, NPHS2)	Autosómico dominante
WT-1	SN: Esclerosis mesangial difusa	Autosómico recesivo. Síndrome de Denysh-Drash
<i>Exclusivamente experimentales</i>		
CD2AP	SN neonatal experimental	Inmunodeficiencia T
Neph-1	SN experimental	
GLEPP-1	No hay proteinuria	Disminución de filtrado glomerular
Podocalixina		Anuria, defecto de desarrollo renal y de diferenciación de podocitos

SN: síndrome nefrótico. GEFS: glomeruloesclerosis focal y segmentaria. Entre paréntesis, denominación OMIM (online mendelian inheritance in man): <http://www3.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>: FSGS: focals segmental glomeruloesclerosis, SRN: steroid resistant nephrosis.

recordar que la pérdida de cargas negativas de la membrana basal en el síndrome nefrótico congénito finlandés mereció un comentario editorial en el *N Engl J Med*, hace 15 años⁹. A raíz de este hallazgo, los descubridores de la nefrina relatan que perdieron varios años buscando mutaciones de componentes de la matriz extracelular en esta entidad⁵.

Más recientemente se ha reconocido un papel de la nefrina en nefropatías adquiridas^{10,11}. Así, por ejemplo, se ha observado una disminución en la expresión renal de nefrina y/o un trastorno en su distribución en nefropatías adquiridas experimentales y humanas, incluyendo la nefropatía de cambios mínimos^{10,11}. Sin embargo, todavía existe controversia sobre este tema. Más sorprendentemente, se ha descrito que los IECA o ARA II preservan la expresión de nefrina en modelos experimentales, incluyendo la nefropatía diabética, aunque se desconoce si es un efecto dependiente de la hemodinámica o es un efecto directo sobre el podocito¹¹. Resulta también llamativo el hecho de que la respuesta de la proteinuria del síndrome nefrótico congénito finlandés a la administración de IECA dependa de la presencia de nefrina¹²: las mutaciones que resultan en un déficit completo de nefrina son resistentes a IECA, pero las que se caracterizan por un déficit parcial, son sensibles.

Lesión de podocitos en nefropatías proteinúricas

Los mecanismos y las consecuencias de la lesión del podocito son todavía mal conocidos. Tradicionalmente se han descrito dos tipos de lesión del podocito, con consecuencias clínicas: la lesión subletal de las nefropatías potencialmente reversibles y la lesión letal que daría lugar a una nefropatía progresiva. La proteinuria glomerular se suele caracterizar por desaparición de los pedicelos del podocito. En muchos casos de síndrome nefrótico infantil y en la mayoría de las nefropatías proteinúricas del adulto, la pérdida de pedicelos es considerada una manifestación temprana de un espectro continuo de lesión del podocito que incluye vacuolización, formación de pseudoquistes, desprendimiento del podocito de la membrana basal, y, finalmente, pérdida del podocito¹³. La excepción a este hecho sería el síndrome nefrótico de cambios mínimos, donde no se ha apreciado pérdida de podocitos ni evolución de la nefropatía.

Lesión subletal

Los ejemplos clásicos de lesión subletal del podocito son la nefropatía de cambios mínimos y la

nefropatía membranosa. La causa de la lesión del podocito en la nefropatía de cambios mínimos es desconocida. Sin embargo, entre sus consecuencias se encuentra la pérdida de algunos marcadores de diferenciación del podocito, como la redistribución de GLEPP1 y nefrina y la disminución de distroglicano^{10,14,15}.

La causa de la lesión del podocito es mejor conocida en la nefropatía membranosa experimental (nefritis de Heymann). En esta nefropatía, la existencia de anticuerpos frente a antígenos podocitarios, entre los que destaca la megalina, origina el reclutamiento del complejo de ataque a la membrana del complemento (MAC), causando una lesión subletal del podocito¹⁶. Al igual que otras células nucleadas el podocito está protegido frente a la lesión por complemento. De hecho, en la nefropatía membranosa experimental se ha demostrado la existencia de varios anticuerpos anti-podocito, incluyendo anticuerpos que neutralizan algunos de los sistemas de defensa frente al complemento del podocito, como Crry¹⁷. Los complejos antígeno-anticuerpo se agrupan en la membrana del podocito, siendo finalmente liberados al espacio subepitelial, donde forman los depósitos subepiteliales típicos de esta nefropatía. Tradicionalmente se ha imputado a este modelo una falta de representatividad de la nefropatía humana debido a que tan solo de forma excepcional se ha identificado una respuesta inmune frente al mismo antígeno en el ser humano¹⁸. Sin embargo, es posible que la respuesta inmune en el ser humano esté dirigida contra proteínas podocitarias todavía no identificadas. En este sentido, ya en 1988 se fabricó un anticuerpo monoclonal frente a un antígeno glomerular desconocido, cuya inyección en ratas causaba síndrome nefrótico¹⁹, originando un modelo que no se correspondía con ninguna nefropatía humana conocida. Tan solo en 1999 se comprobó que ese antígeno desconocido era la nefrina²⁰ y que esta nefropatía experimental supone un modelo similar al síndrome nefrótico recurrente por anticuerpos anti-nefrina que ocurre en pacientes trasplantados con síndrome nefrótico congénito finlandés²¹.

Pérdida de podocitos

La glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GEFS) es una forma de morir el glomérulo que caracteriza a las nefropatías progresivas, independientemente de su etiología²². Uno de los aspectos patogénicos más importantes de la GEFS es la lesión y pérdida de podocitos, con la consecuente «insuficiencia» podocitaria y colapso del capilar glomerular^{23,24}. Así, se ha

comunicado que en la GEFS existe una, pérdida urinaria de podocitos que permite distinguirla del síndrome nefrótico de cambios mínimos²⁵. Es importante reseñar que en las glomerulopatías colapsantes como la nefropatía por HIV los podocitos pierden marcadores de diferenciación, dejan de comportarse como tales y aumenta su tasa de proliferación y apoptosis⁷.

Existe evidencia de pérdida de podocitos en otras nefropatías humanas proteinúricas prevalentes. De hecho, un estudio morfométrico detallado de pacientes con diabetes de corta duración mostró una depleción de podocitos, indicando que la pérdida de podocitos podría ser un mecanismo temprano de lesión en la nefropatía diabética²⁶. Además en la diabetes está incrementada la eliminación urinaria de podocitos²⁷. Estudios clásicos con biopsias seriadas en casos de amiloidosis secundaria en los que se retiró la causa desencadenante han distinguido la amiloidosis «activa» y la «inactiva». La amiloidosis «activa» cursa con síndrome nefrótico y se caracteriza por depósitos amiloideos en la membrana basal glomerular que improntan hacia el podocito, el cual en muchos casos está dañado o ausente^{28,29}. En una fase posterior «inactiva», la cantidad de amiloide no ha variado, pero los depósitos amiloideos están recubiertos de nuevo de membrana basal y de podocitos. En esta etapa la proteinuria en rango nefrótico desaparece²⁹. La reversibilidad de la lesión podocitaria sugiere que o bien determinados glomerulos, los más dañados, se pierden y no son reconocibles en la segunda biopsia, o que los podocitos restantes se hipertrofian o existe una regeneración del podocito.

Aunque estas observaciones sugieren que la lesión y pérdida del podocito es un mecanismo temprano de progresión de la lesión glomerular, los mecanismos moleculares de la pérdida de podocitos y la relación de estos cambios del podocito con el efecto antiproteinúrico de los distintos tratamientos utilizados en nefropatías proteinúricas son mal conocidos.

Apoptosis

La causa de la pérdida de los podocitos en las nefropatías glomerulares no está clara. Una posibilidad es que el podocito lesionado pierda la capacidad de permanecer adherido y sea arrastrado por el flujo urinario³⁰. Más recientemente se ha apuntado la posibilidad de que la lesión del podocito sea letal. En 1994, propusimos la hipótesis de que la apoptosis de podocitos podría contribuir significativamente a la patogenia de la proteinuria³¹. La apoptosis es la forma más frecuente de pérdida de células en fisio-

patología (revisado en 32). La apoptosis es una forma de muerte celular activa, que precisa energía (suicidio celular) y que requiere la activación de vías moleculares intracelulares letales y la inactivación de proteínas protectoras. Las moléculas letales y de supervivencia son específicas de célula y estímulo, y su identificación ofrece la posibilidad de una intervención terapéutica³². Las células apoptóticas pierden el contacto con células adyacentes y con la matriz extracelular, y la morfología apoptótica se mantiene durante un período de tiempo muy corto (1-2 horas). Este último hecho hace que la apoptosis sea difícil de detectar *in vivo*. En el caso del podocito, célula que se ve expuesta a una presión de 40 mmHg por parte del filtrado glomerular, que la empuja hacia el espacio urinario, el estudio de la apoptosis *in vivo* se complica aún más, puesto que el podocito apoptótico va a ser arrastrado por el flujo urinario. A pesar de estas dificultades, estudios recientes destinados específicamente a ello han identificado la apoptosis de podocitos como un hecho característico en modelos animales de síndrome nefrótico, como el producido por puomicina o por la sobreexpresión del TGFβ1^{33,34}, así como en glomerulopatías colapsantes humanas⁷. Sin embargo, se desconoce en gran medida cuáles son los factores que regulan la apoptosis de podocitos. Desde 1994 se sabe que la puomicina, el TNF y el PAF inducen la muerte de células epiteliales glomerulares cultivadas, aunque en aquel momento no se caracterizó el tipo de muerte³⁵.

En los últimos años se ha acumulado información que apunta, de un modo circunstancial, hacia el papel de ciertos factores en la regulación de la apoptosis de podocitos. Todas estas pistas deben ser perseguidas desde el punto de vista experimental. Así, llama la atención que agentes causantes de proteinuria sean capaces de inducir apoptosis en otras estirpes celulares. La administración sistémica de citoquinas letales que se expresan durante el daño glomerular, como TNF y agonistas de Fas, causa lesión glomerular y proteinuria, y su antagonismo protege del daño glomerular³⁶⁻³⁹. Ambas citoquinas inducen apoptosis en una variedad de células epiteliales³⁶⁻³⁹. Los podocitos tienen receptores para angiotensina II⁴⁰. La angiotensina II induce apoptosis en varios tipos de células (revisado en 41). Los IECA y ARA II disminuyen la pérdida urinaria de podocitos en la nefropatía IgA⁴². Además, la infusión de angiotensina II causa proteinuria y los IECA y ARA II disminuyen la proteinuria^{1,43}. La diabetes ocasiona una nefropatía fundamentalmente proteinúrica⁴⁴. La hiperglucemia modifica la expresión de proteínas reguladoras de la apoptosis e induce apoptosis en células tubulares renales, células endoteliales y en

el blastocisto^{45,46}. Además, se ha demostrado que el TGFβ1, que tiene un importante papel en la patogenia de la nefropatía diabética⁴⁷, induce apoptosis de podocitos cultivados³⁴. Los radicales de oxígeno, que se producen durante la lesión glomerular, inducen proteinuria⁴⁸. Drogas antioxidantes disminuyen la proteinuria y mejoran la evolución de nefropatías caracterizadas por pérdida de podocitos y GEFS⁴⁸. Los radicales de oxígeno son también mediadores de la apoptosis⁴². La ciclosporina A inhibe la apoptosis en diversas estirpes celulares⁴⁹, siendo una excepción llamativa el epitelio tubular renal, lo cual podría ser considerado un mecanismo de nefrotoxicidad^{49,50}. Aunque el efecto anti-proteinúrico de la ciclosporina A se ha atribuido a sus acciones inmunosupresoras y hemodinámicas, este fármaco A tiene acciones directas sobre el podocito⁵¹.

Los podocitos no estarían indefensos frente a la apoptosis. Si bien las moléculas responsables de la defensa antiapoptótica del podocito son esencialmente desconocidas, se sabe que la lesión podocitaria *in vivo* resulta en un aumento de expresión de HSP27⁵². Como otras proteínas de choque térmico, HSP27 tiene propiedades antiapoptóticas⁵³, por lo que podría ser un mecanismo endógeno de supervivencia del podocito en circunstancias adversas. Además, se ha demostrado que HSP27 juega un papel en el mantenimiento del citoesqueleto durante la lesión subletal del podocito. La defensa antiapoptótica del podocito podría ser un objetivo terapéutico en nefropatías glomerulares.

Perspectivas para el futuro: un tratamiento dirigido al podocito

En los últimos años se ha acumulado información que sugiere un papel fundamental del podocito en la proteinuria y en la función del glomérulo. Además, los avances en la biología del podocito van a permitir desarrollar aproximaciones preventivas y terapéuticas destinadas a influir sobre la resistencia del podocito a la lesión y sobre su capacidad de regeneración.

La descripción de proteínas específicas de podocitos y la comprobación de que defectos de estas proteínas causan síndrome nefrótico abren la puerta a explorar el posible papel de polimorfismos de estas proteínas en la predisposición al desarrollo o a la progresión de nefropatías proteinúricas (fig. 2).

Por otra parte, desde 1997 es posible estudiar podocitos diferenciados en cultivo, lo que permitirá abordar el efecto directo sobre el podocito de factores patogénicos de la lesión glomerular y de tratamientos existentes o potenciales. En efecto, Peter

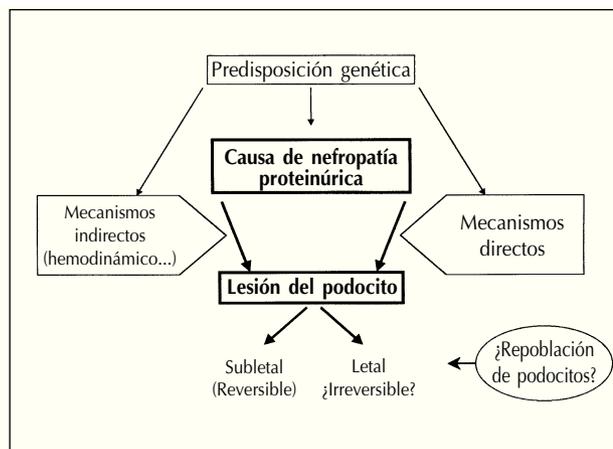


Fig. 2.—Patogenia de la lesión del podocito. Existiría una base genética que podría causar la patología glomerular o favorecer su desarrollo ante un estímulo ambiental nocivo o podría influir sobre los factores que dañan al podocito de forma directa o indirecta o en la respuesta del podocito ante la agresión. Distinguiríamos factores que dañan al podocito de forma directa, en ausencia de la contribución de la hemodinámica glomerular y de otras células glomerulares y los que lo dañan de forma indirecta a través de estos agentes. La contribución relativa de los mecanismos directos e indirectos de lesión del podocito es, en la actualidad, desconocida. La consecuencia sería una lesión letal o subletal del podocito. No existe suficiente información sobre la capacidad de regeneración del podocito.

Mundel estableció una línea de podocitos transformada condicionalmente, de tal manera que a 33° C está transformada y desdiferenciada, y se puede propagar, ya que las células epiteliales glomerulares desdiferenciadas se dividen, y a 37° C deja de estar transformada, se diferencia y cesa la división⁵⁴. Si bien desde hace años se cultivaba el epitelio glomerular³⁵, bajo las condiciones del cultivo los podocitos se desdiferenciaban (lo que permitía cultivarlos, ya que en su forma diferenciada no se dividen).

Otro campo virgen es el de la regeneración del podocito. Los datos recientes que indican la posibilidad de regeneración del miocardio lesionado a partir de células pluripotenciales derivadas de la médula ósea y la formación de nuevas neuronas en el adulto^{55,56}, hacen pensar que la pérdida de podocitos puede ser reversible si llegamos a comprender los mecanismos moleculares que regulan la diferenciación, desdiferenciación, proliferación y supervivencia del podocito.

BIBLIOGRAFÍA

1. Jafar TH, Stark PC, Schmid CH, Landa M, Maschio G, Marcantoni C, De Jong PE, De Zeeuw D, Shahinfar S, Ruggel-

A. ORTIZ y cols.

- amenti P, Remuzzi G, Levey AS, AIPRD Study Group: Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition and Progression of Renal Disease. Proteinuria as a modifiable risk factor for the progression of non-diabetic renal disease. *Kidney Int* 60: 1131-40, 2001.
2. Gerstein HC, Mann JF, Yi Q, Zinman B, Dinneen SF, Hoogwerf B, Halle JP, Young J, Rashkow A, Joyce C, Nawaz S, Yusuf S; HOPE Study Investigators; Albuminuria and risk of cardiovascular events, death, and heart failure in diabetic and nondiabetic individuals. *JAMA* 286: 421-6, 2001.
 3. Valmadrid CT, Klein R, Moss SE, Klein BE: The risk of cardiovascular disease mortality associated with microalbuminuria and gross proteinuria in persons with older-onset diabetes mellitus. *Arch Intern Med* 160: 1093-100, 2000.
 4. Roodnat JJ, Mulder PG, Rischen-Vos J, Van Riemdijk IC, Van Gelder T, Zietse R, Uzemans JN, Weimar W: Proteinuria after renal transplantation affects not only graft survival but also patient survival. *Transplantation* 72: 438-44, 2001.
 5. Tryggvason KJ. Unraveling the mechanisms of glomerular ultrafiltration: nephrin, a key component of the slit diaphragm. *J Am Soc Nephrol* 10: 2440-2555, 1999.
 6. Kerjaschki D: Caught flat-footed: podocyte damage and the molecular bases of focal glomerulosclerosis. *J Clin Invest* 108: 1583-7, 2001.
 7. Barisoni L, Kriz W, Mundel P, D'Agati V: The dysregulated podocyte phenotype: a novel concept in the pathogenesis of collapsing idiopathic focal segmental glomerulosclerosis, and HIV-associated nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 10: 51-61, 1999.
 8. Kestila M, Lenkkeri U, Mannikko M, Lamerdin J, McCready P, Putaala H, Ruotsalainen V, Morita T, Nissinen M, Herva R, Kashtan CE, Peltonen L, Holmberg C, Olsen A, Tryggvason K. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein-nephrin is mutated in congenital nephrotic syndrome. *Mol Cell* 1: 575-82, 1998.
 9. Kaplan NM: Anionic sites and the mechanism of proteinuria. *N Engl J Med* 309: 1050, 1983.
 10. Doublier S, Ruotsalainen V, Salvadio G, Lupia E, Biancone L, Conaldi PG, Reponen P, Tryggvason K, Camussi G: Nephrin redistribution on podocytes is a potential mechanism for proteinuria in patients with primary acquired nephrotic syndrome. *Am J Pathol* 158: 1723-31, 2001.
 11. Bonnet F, Cooper ME, Kawachi H, Allen TJ, Boner G, Cao Z: Irbesartan normalises the deficiency in glomerular nephrin expression in a model of diabetes and hypertension. *Diabetologia* 44: 874-7, 2001.
 12. Patrakka J, Kestila M, Wartiovaara J, Ruotsalainen V, Tissari P, Lenkkeri U, Mannikko M, Visapaa I, Holmberg C, Rapola J, Tryggvason K, Jalanko H: Congenital nephrotic syndrome (NPHS): features resulting from different mutations in Finnish patients. *Kidney Int* 58: 972-80, 2000.
 13. Kerjaschki D: Dysfunctions of cell biological mechanisms of visceral epithelial cell (podocytes) in glomerular diseases. *Kidney Int* 45: 300-313, 1994.
 14. Srivastava T, Garola RE, Whiting JM, Alon US: Synaptopodin expression in idiopathic nephrotic syndrome of childhood. *Kidney Int* 59: 118-25, 2001.
 15. Sharif K, Goyal M, Kershaw D, Kunkel R, Wiggins R: Podocyte phenotypes as defined by expression and distribution of GLEPP1 in the developing glomerulus, and in nephrotic glomeruli from MCD, CNF, and FSGS. *Exp Nephrol* 6: 234-44, 1998.
 16. Topham PS, Haydar SA, Kuphal R, Lightfoot JD, Salant DJ. Complement-mediated injury reversibly disrupts glomerular epithelial cell actin microfilaments and focal adhesions. *Kidney Int* 55: 1763-75, 1999.
 17. Schiller B, He C, Salant DJ, Lim A, Alexander JJ, Quigg RJ: Inhibition of complement regulation is key to the pathogenesis of active Heymann nephritis. *J Exp Med* 188: 1353-8, 1998.
 18. González-Cabrero J, De Nicolds F, Ortiz A, Mampaso F, Hernandez L, Egido E: Presence of circulating antibodies against brush border antigens (Fx1A) in a patient with membranous nephropathy and bilateral pyeloureteral stenosis. Comparison with idiopathic membranous nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 7: 293-299, 1992.
 19. Orikasa M, Matsui K, Oite T, Shimizu F: Massive proteinuria induced in rats by a single intravenous injection of a monoclonal antibody. *J Immunol* 141: 807-14, 1988.
 20. Topham PS, Kawachi H, Haydar SA, Chugh S, Addona TA, Charron KB, Holzman LB, Shia M, Shimizu F, Salant DJ. Nephritogenic mAb 5-1-6 is directed at the extracellular domain of rat nephrin. *J Clin Invest* 104: 1559-66, 1999.
 21. Wang SX, Ahola H, Palmen T, Solin ML, Luimula P, Holthofer H: Recurrence of nephrotic syndrome after transplantation in CNF is due to autoantibodies to nephrin. *Exp Nephrol* 9: 327-31, 2001.
 22. Ichikawa I, Fogo A: Focal segmental glomerulosclerosis. *Pediatr. Nephrol* 10: 374-391, 1996.
 23. Fries JW, Sandstrom DJ, Meyer TW, Rennke HG: Glomerular hypertrophy and epithelial cell injury modulate progressive glomerulosclerosis in the rat. *Lab Invest* 60: 205-218, 1989.
 24. Kriz W, Gretz N, Lemley KV: Progression of glomerular diseases: is the podocyte the culprit? *Kidney Int* 54: 687-697, 1998.
 25. Nakamura T, Ushiyama C, Suzuki S, Hara M, Shimada N, Ebihara I, Koide H: The urinary podocyte as a marker for the differential diagnosis of idiopathic focal glomerulosclerosis and minimal-change nephrotic syndrome. *Am J Nephrol* 20: 175-9, 2000.
 26. Steffes MW, Schmidt D, McCrery R, Basgen JM, Group ID: Glomerular cell number in normal subjects and in type I diabetic patients. *Kidney Int* 59: 2104-2113, 2001.
 27. Nakamura T, Ushiyama C, Suzuki S, Hara M, Shimada N, Ebihara I, Koide H: Urinary excretion of podocytes in patients with diabetic nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 15: 1379-83, 2000.
 28. Dikman SH, Churg J, Kahn T: Morphologic and clinical correlates in renal amyloidosis. *Hum Pathol* 12: 160-9, 1981.
 29. Von Gise H, Helmchen U, Mikelser E, Bruning L, Walther C, Christ H, Mackensen S, Bohle A: Correlations between the morphological and clinical findings in a patient recovering from secondary generalised amyloidosis with renal involvement. Light- and electron microscopic investigations on serial biopsies. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol* 379: 119-29, 1978.
 30. Bariety J, Bruneval P, Hill G, Irinopoulou T, Mandet C, Meyer A: Post-transplantation relapse of FSGS is characterized by glomerular epithelial cell transdifferentiation. *J Am Soc Nephrol* 12: 261-74, 2001.
 31. Ortiz-Arduan A, Neilson EG: Apoptotic cell death in renal disease. *Nefrología* 14: 391-407, 1994.
 32. Ortiz A, Lorz C, Justo P, Catalán MP, Egido J. Contribution of apoptotic cell death to renal injury. *J Cell Molec Med* 5: 18-32, 2001.
 33. Kim YH, Goyal M, Kurnit D, Wharram B, Wiggins J, Holzman L, Kershaw D, Wiggins R: Podocyte depletion and glomerulosclerosis have a direct relationship in the PAN-treated rat. *Kidney Int* 60: 957-68, 2001.
 34. Schiffer M, Bitzer M, Roberts IS, Kopp JB, Dijke P, Mundel P, Bottinger EP: Apoptosis in podocytes induced by TGF-beta and Smad. *J Clin Invest* 108: 807-16, 2001.
 35. Gómez-Chiarri M, Ortiz A, Lerma JL, López-Armada MJ, Mampaso F, González E, Egido J: Involvement of tumor ne-

- crois factor and platelet-activating factor in the pathogenesis of experimental nephrosis in rats. *Lab Invest* 70: 449-59, 1994.
36. González-Cuadrado, S, Lorz C, García del Moral R, O'Valle F, Alonso C, Ramiro F, Ortiz-González A, Egido J, Ortiz A: Agonistic anti-Fas antibodies induce glomerular cell apoptosis in mice *in vivo*. *Kidney Int* 51: 1739-46, 1997.
 37. Ortiz A, Lorz C, Egido, J. New kids in the block: the role of FasL and Fas in kidney damage. *J Nephrol* 12: 150-158, 1999.
 38. Ortiz A, González-Cuadrado S, Bustos C, Alonso J, Gómez-Guerrero C, López-Armada MJ, González E, Plaza JJ, Egido J: Tumor necrosis factor and glomerular damage. *J Nephrol* 8: 27-34, 1995.
 39. Lorz C, Ortiz A, Justo P, González-Cuadrado S, Duque N, Gómez-Guerrero C, Egido, J. Proapoptotic Fas ligand is expressed by normal kidney tubular epithelium and injured glomeruli. *J Am Soc Nephrol* 11: 1266-1277, 2000.
 40. Henger A, Huber T, Fischer KG, Nitschke R, Mundel P, Schollmeyer P, Greger R, Pavenstadt H: Angiotensin II increases the cytosolic calcium activity in rat podocytes in culture. *Kidney Int* 52: 687-93, 1997.
 41. Ortiz A: Apoptotic regulatory proteins in renal injury. *Kidney Int* 58: 467-485, 2000.
 42. Nakamura T, Ushiyama C, Suzuki S, Hara M, Shimada N, Sekizuka K, Ebihara I, Koide H: Effects of angiotensin-converting enzyme inhibitor, angiotensin II receptor antagonist and calcium antagonist on urinary podocytes in patients with IgA nephropathy. *Am J Nephrol* 20: 373-9, 2000.
 43. Perico N, Lapinski R, Konopka K, Aiello S, Noris M, Remuzzi G: Platelet-activating factor mediates angiotensin II-induced proteinuria in isolated perfused rat kidney. *J Am Soc Nephrol* 8: 1391-8, 1997.
 44. Marrón B, Ortiz A, Egido J: Factores patogénicos en la nefropatía diabética: de donde venimos y hacia donde vamos. *Neurología* 21 (Supl. 3): 18-23, 2001.
 45. Ortiz A, Ziyadeh FN, Neilson EG: Expression of apoptosis-regulatory genes in renal proximal tubular epithelial cells exposed to high ambient glucose and in diabetic kidneys. *J Invest Med* 45: 50-56, 1997.
 46. Moley KH, Chi MM, Knudson CM, Korsmeyer SJ, Mueckler MM: Hyperglycemia induces apoptosis in pre-implantation embryos through cell death effector pathways. *Nat Med* 4: 1421-4, 1998.
 47. Ziyadeh FN, Hoffman BB, Han DC, Iglesias-De la Cruz MC, Hong SW, Isono M, Chen S, McGowan TA, Sharma K. Long-term prevention of renal insufficiency, excess matrix gene expression, and glomerular mesangial matrix expansion by treatment with monoclonal antitransforming growth factor-beta antibody in db/db diabetic mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 8015-20, 2000.
 48. Binder CJ, Weiher H, Exner M, Kerjaschki D: Glomerular overproduction of oxygen radicals in Mpv17 gene-inactivated mice causes podocyte foot process flattening and proteinuria: a model of steroid-resistant nephrosis sensitive to radical scavenger therapy. *Am J Pathol* 154: 1067-1075, 1999.
 49. Hortelano S, Castilla M, Torres AM, Tejedor A, Bosca L: Potentiation by nitric oxide of cyclosporin A and FK506-induced apoptosis in renal proximal tubule cells. *J Am Soc Nephrol* 11: 2315-23, 2000.
 50. Ortiz A, Lorz C, Catalán M, Ortiz A, Coca S, Egido J: Cyclosporine A induces apoptosis in murine tubular epithelial cells: role of caspases. *Kidney Int* (Supl.) 68: S25-9, 1998.
 51. Bustos C, González-Cuadrado S, Ruiz-Ortega M, Gómez-Guerrero C, González E, Plaza JJ, Egido J: Cyclosporin A (CsA) modulates the glomerular production of inflammatory mediators and proteoglycans, in experimental nephrosis. *Clin Exp Immunol* 102: 608-13, 1995.
 52. Smoyer WE, Gupta A, Mundel P, Ballew JD, Welsh MJ: Altered expression of glomerular heat shock protein 27 in experimental nephrotic syndrome. *J Clin Invest* 97: 2697-704, 1996.
 53. Paul C, Manero F, Gonin S, Kretz-Remy C, Viroit S, Arrigo AP: Hsp27 as a negative regulator of cytochrome C release. *Mol Cell Biol* 22: 816-34, 2002.
 54. Mundel P, Reiser J, Zúñiga Mejía Borja A, Pavenstadt H, Davidson GR, Kriz W, Zeller R: Rearrangements of the cytoskeleton and cell contacts induce process formation during differentiation of conditionally immortalized mouse podocyte cell lines. *Exp Cell Res* 236: 248-58, 1997.
 55. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Limana F, Jakoniuk I, Quaini F, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P. Mobilized bone marrow cells repair the infarcted heart, improving function and survival. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 10344-9, 2001.
 56. Steindler DA, Pincus DW: Review: stem cells and neurogenesis in the adult human brain. *Lancet* 359: 1047-54, 2002.