



## FORMACIÓN CONTINUADA

# *El diafragma de filtración glomerular. Orientación diagnóstica y terapéutica en el síndrome nefrótico*

**P. Arrizabalaga**

Servicio de Nefrología. Hospital Clínic. Institut d'Investigació August Pi i Sunyer. Barcelona.

### INTRODUCCIÓN

El riñón forma la orina a partir del ultrafiltrado del plasma a través de la pared del capilar glomerular, que está constituida por la membrana basal (MBG) revestida en su interior por el endotelio y externamente por el epitelio visceral. El citoplasma de las células endoteliales es aplanado y tiene unos orificios de 50-100 nm de diámetro que permiten la comunicación desde la luz capilar. La MBG es una estructura laminar continua formada principalmente por moléculas secretadas por las células adyacentes: glicoproteínas como el colágeno de tipo IV, laminina, fibronectina y entactina, y proteoglicanos heparansulfato como la agrina. Las células epiteliales glomerulares o podocitos tienen una morfología peculiar, con unas prolongaciones contráctiles capaces de responder a estímulos vasomotores a fin de regular la filtración glomerular. De las prolongaciones penden unos pedicelos, que se apoyan directamente sobre la lámina rara externa de la MBG y delimitan unos espacios o hendiduras de 25-60 nm de longitud, recubiertos de un delgado diafragma compuesto de moléculas que adoptan la estructura de cerradura, dejando unos poros de  $4 \times 14 \text{ nm}^2$ .

La filtración glomerular de moléculas depende de su tamaño (peso molecular), configuración (radio molecular) y carga eléctrica. Para moléculas relativamente esféricas, la filtración es muy limitada cuando el radio molecular es superior a 2 nm, y casi nula si es mayor de 4,2 nm, gracias a la or-

denada disposición de las fibrillas de colágeno tipo IV de la matriz glicoproteica de la MBG. La barrera en función de la carga se debe a la electro negatividad de la pared capilar. La existencia de cargas negativas es escasa en la superficie de las células endoteliales, considerándose que el endotelio es prácticamente permeable a macromoléculas. La contribución principal a la selección del paso de moléculas en función de la carga es la presencia de abundantes polianiones en la MBG, rica en heparansulfato a expensas de los terminales carboxilatos, así como en los podocitos debido al ácido siálico de las sialoproteínas de la superficie. Dado que la mayoría de las proteínas séricas tienen carga negativa al pH normal de la sangre, éstas tienden a ser rechazadas por fuerzas electrostáticas cuando intentan atravesar la barrera de filtración glomerular, incluso con independencia de su peso molecular.

La proteinuria es el fracaso de la barrera de filtración glomerular. La proteinuria (1-3,5 g/24 h) es característica de nefropatías glomerulares primitivas o secundarias a enfermedades sistémicas. La proteinuria nefrótica (superior a 3,5 g/24 h en adultos o 40 mg/h/m<sup>2</sup> en niños) es propia del síndrome nefrótico (SN) cuando se acompaña de hipoalbuminemia, hipercolesterolemia y edemas. Entre las enfermedades glomerulares primitivas que cursan con SN cabe mencionar: la nefropatía con cambios mínimos (NCM), la hialinosis o glomeruloesclerosis segmentaria y focal (GSF), la glomerulopatía colapsante, la nefropatía membranosa (NM), la glomerulonefritis membranoproliferativa y la glomerulonefritis mesangial IgA. En general, en los niños menores de 8 años, la nefropatía con cambios mínimos es responsable del 80% de todos los casos de SN, mientras que es responsable del 20% de los casos de SN idiopático del adulto. En éstos, a diferencia de los niños, la nefropatía membranosa (30-40%) es la glomerulopatía

**Correspondencia:** Dra. Pilar Arrizabalaga  
Servei de Nefrologia  
Hospital Clínic  
Villarroel, 170  
08036 Barcelona  
E-mail: parriza@clinic.ub.es

primitiva de mayor prevalencia que cursa con SN idiopático, mientras que la causa más frecuente de SN es la nefropatía diabética.

El sustrato histológico de la proteinuria es la desaparición de los pedicelos que recubren la MBG. Por microscopía electrónica se observa una banda externa a la MBG que resulta de la condensación de la actina. Constituye la única alteración en la NCM o SN ópticamente normal. Se manifiesta por una proteinuria altamente selectiva, se pierde sobre todo albúmina (peso molecular 69.000 Daltons, radio molecular 3,5 nm y carga negativa), quedando retenidas las proteínas de mayor peso molecular. Cuando, esta lesión común e inespecífica en las glomerulopatías, se acompaña de un mayor compromiso estructural, se observan alteraciones morfológicas con el microscopio óptico, facilitándose la pérdida de proteínas no sólo por su carga, sino por su tamaño, lo que constituye la proteinuria no selectiva.

Se ha venido considerado que la NCM se debía a una anomalía funcional consistente en la pérdida de cargas negativas de la MBG. Varias observaciones clínico-biológicas, atribuían un papel a los linfocitos T que generarían una citocina capaz de alterar la permeabilidad de la MBG. Sin embargo, no se ha llegado a identificar el factor patogénico sobre la MBG y además las nefropatías hereditarias caracterizadas por una MBG anómala son fundamentalmente hematúricas. Por otro lado, en los últimos años las técnicas de biología molecular han permitido la identificación de los genes implicados en el SN hereditario (tabla I). El déficit de nefrina<sup>2</sup>, podocina<sup>3</sup> o la proteína asociada a CD2 (CD2P)<sup>4</sup> conlleva la pérdida de la barrera de filtración y la consiguiente proteinuria. La mutación en el gen productor de  $\alpha$ -actinina-4, incrementa su afinidad por la actina<sup>5</sup>. Además, la mutación en el gen codificador de WT-1 (antígeno tumor Wilms-1) es responsable de la esclerosis mesangial difusa y del Síndrome de Denys-Drash que cursan con SN congénito aislado y fallo renal en la infancia<sup>6</sup>. Estos conocimientos han enfocado la atención hacia el estudio de los genes y las proteínas podocitarias implicadas en la barrera de filtración glomerular.

## PROTEÍNAS DE LOS PODOCITOS

Los podocitos son células muy diferenciadas, cuyas funciones se basan en su compleja arquitectura (tabla II). Se ha equiparado el comportamiento de los podocitos a las neuronas, con las que comparten algunos antígenos de diferenciación, ya que

**Tabla I.** Genes y proteínas de los podocitos identificadas en el síndrome nefrótico hereditario

Nefropatía	Mutación	Proteína	Herencia
Síndrome nefrótico congénito finlandés	NPHS1 (19q13.1)	Nefrina	Autosómico recesivo
Síndrome nefrótico familiar corticorresistente	NPHS2 (1q25-1q31)	Podocina	Autosómico recesivo
Glomeruloesclerosis focal familiar	ACTN4 (19q13)	$\alpha$ -actinina-4	Autosómico dominante
Glomeruloesclerosis focal familiar	CD2AP (6p12)	CD2AP	Autosómico dominante

**Tabla II.** Proteínas específicas y estructurales de los podocitos

Proteína	Función
Sinaptopodina CALLA	Diferenciación celular
GLEPP-1 Receptor C3b	Hendidura de filtración
Actina $\alpha$ -actinina-4 Miosina Vinculina	Movilidad del pedicelo
ZO-1 P-caderina Catenina $\alpha$ , $\beta$ , $\gamma$	Inserción del diafragma de filtración al citoesqueleto
Integrina $\alpha\beta 1$ Distroglucano Megalina	Adhesión del pedicelo a la lámina externa de la membrana basal glomerular

Nota: CALLA = common acute lymphoblastic leukemia antigen. GLEPP = Glomerular epithelial protein. ZO = Zonula occludens.

son incapaces de replicarse. Aunque el núcleo de los podocitos maduros sufre mitosis frente a estímulos mitogénicos extremos, no pueden completar la división celular. Existiría un número inicial de podocitos bien diferenciados que se pierden progresivamente durante la progresión del daño glomerular. Sólo los podocitos que pierden proteínas de diferenciación celular coinciden con la expresión de los marcadores de madurez como sinaptopodina —presente en las sinapsis neuronales— y common acute lymphoblastic leukemia antigen (CALLA) a nivel citoplasmático y proteínas de membrana como receptor C3b y glomerular epithelial protein-1 (GLEPP-1) localizadas en la hendidura de filtración. GLEPP-1 intervie-

ne en el metabolismo celular de la fosforilación de la proteínas y se ha localizado también a nivel cerebral<sup>7</sup>. La forma particular del pedicelo se debe a la presencia de microfilamentos dispuestos en un eje longitudinal compuestos fundamentalmente de actina que tiene propiedades contráctiles y permiten la movilidad del pedicelo. La inserción del diafragma de filtración a la membrana citoplasmática del pedicelo está mediada por proteínas de membrana y moléculas con dominios leucina propios de interacciones entre proteínas. P-caderina es la proteína de la pared del pedicelo cuyo dominio extracitoplasmático forma parte estructural del diafragma de filtración, y su dominio intracelular conectado con otras proteínas, entre las que cabe destacar la molécula adaptadora ZO-1, permiten la fijación al citoesqueleto. La inserción del pedicelo en la lámina externa de la MBG está mediado por integrinas de adhesión. Varios modelos de proteinuria experimental se han obtenido por la inyección de anticuerpos anti-integrina  $\beta 1$  y anticuerpos anti-Fx1A que reaccionan con el antígeno de la nefritis de Heymann, gp 33 o megalina<sup>8</sup>.

Los podocitos constituyen el extremo distal de la barrera de filtración glomerular, y expresan proteínas específicas de esta función (tabla III). La nefrina de 180 kD, es una molécula de adhesión perteneciente a la superfamilia de las inmunoglobulinas-like. Esta glicoproteína transmembrana se localizó, en 1999, exclusivamente en el diafragma de filtración<sup>9,10</sup>, y más adelante, en zonas limitadas de cerebro<sup>11</sup>. La podocina, identificada en 2002 en el diafragma de filtración<sup>12</sup> es adyacente a la nefrina. La podocina actúa directamente sobre la permeabilidad selectiva de la barrera de filtración e indirectamente como transductor de señales a través de la nefrina y de CD2P. Por su dominio citoplasmático, se considera que la podocina es además una molécula

de anclaje del diafragma de filtración. CD2P es una proteína de 80 kD, ligando del receptor CD2 de los linfocitos T, que incrementa la interacción célula-célula. En el riñón, CD2P se localiza en el diafragma de filtración y actúa de molécula adaptadora del dominio intracitoplasmático de la nefrina y de la podocina a la actina del citoesqueleto. WT-1 es una proteína nuclear que actúa como factor de transcripción regulador de la expresión de otros genes relacionados con factores de crecimiento y fibrogénicos —los inhibe— y en particular como factor transcriptor de nefrina y podocalixina<sup>13</sup>. La podocalixina identificada ya en 1984<sup>14</sup> en la superficie del pedicelo, se localiza por encima del diafragma de filtración, en la zona más distal de la hendidura de filtración, y es el principal polianion epitelial.

### PROTEÍNAS PODOCITARIAS EN LA PATOLOGÍA GLOMERULAR ADQUIRIDA

#### Proteínas de diferenciación celular

La sinaptopodina, una proteína rica en prolina que interacciona con la actina, está preservada en las glomerulopatías humanas cuando el borramiento de pedicelos es reversible, como sucede en la NCM. En contraste, la sinaptopodina desaparece en la esclerosis mesangial difusa<sup>15</sup> y en estadios tempranos y avanzados de la GSF, incluso en presencia de podocitos, y en las zonas de necrosis de la pared capilar<sup>16</sup>. En la glomerulosclerosis segmentaria y focal colapsante idiopática, una forma grave de mal pronóstico de GSF, y en la nefropatía asociada al virus de la inmunodeficiencia humana, los podocitos pierden también otros antígenos de diferenciación como WT-1, GLEPP-1, CALLA, podocalixina y receptor C3b, lo que está relacionado con la severidad del daño estructural en estas glomerulopatías. Se pierden podocitos por mecanismos de apoptosis, mientras que se detecta proliferación de podocitos con el marcador Ki-67<sup>17</sup>.

#### Proteínas estructurales

Hace años que se observó que la condensación de la actina y de la vinculina conduce al borramiento o fusión de los pedicelos que precede a la proteinuria. El déficit de distroglicano se ha informado en la NCM, a diferencia de la GFS en la que está conservado<sup>18</sup>. La pérdida de integrinas  $\alpha 3 \beta 1$  se ha reportado en la NCM y en la NM<sup>19,20</sup>. La pérdida de las proteínas de anclaje del pedicelo a la MBG provoca su despegamiento, llevando a los podocitos

**Tabla III.** Proteínas de los podocitos específicos de barrera de filtración

Proteína	Función
Nefrina Podocina	Configuración del diafragma de filtración
CD2AP	Adaptación de la podocina y nefrina a la actina
WT-1	Factor nuclear transcriptor de nefrina y podocalixina
Podocalixina Podoendina Podoplanina	Electronegatividad de la barrera de filtración

Nota: CD2AP = Proteína asociada a CD2, WT = Antígeno tumor Wilms.

empujados por la presión del filtrado glomerular, hacia el espacio urinario, con el consiguiente aumento de la superficie desnuda para la filtración de proteínas. La eliminación urinaria de podocitos parece un mecanismo patogénico temprano en la nefropatía diabética<sup>21</sup>.

### Proteínas de barrera de filtración

Desde hace años se conoce el papel de las sialoproteínas podocitarias —podocalixina— y más recientemente la podoplanina<sup>22</sup> en el mantenimiento de la barrera de filtración en la proteinuria experimental.

En la actualidad, se ha acumulado información del papel de las proteínas del diafragma de filtración en los modelos experimentales de las glomerulopatías humanas. La inyección de un anticuerpo monoclonal nefritógeno dirigido contra la nefrina<sup>23</sup> en las ratas es un modelo similar al SN recurrente por anticuerpos antinefrina que presentan los pacientes trasplantados con SN congénito finlandés<sup>24</sup>. En la nefritis de Heymann pasiva, se detecta una disminución de m-RNA nefrina a lo largo de la primera semana de la inyección de anticuerpos anti-Fx 1A<sup>25</sup>, mientras que persisten conservadas otras proteínas relacionadas como ZO-1 y CD2AP<sup>26</sup>, lo que apunta a una alteración de la nefrina *per se*. Por otro lado, la nefrinuria detectada antes de la fase de proteinuria en la nefritis de Heymann pasiva y activa<sup>27</sup> demuestra la relación secuencial entre ambas observaciones. Aunque se desconoce si la pérdida de nefrina, se debe a una disminución de la síntesis o es consecuencia de la endocitosis de su dominio extracitoplasmático y la posterior degradación. Se ha demostrado que la pérdida de nefrina y la proteinuria experimental se evita con el bloqueo de la angiotensina II por la administración de inhibidores del enzima de conversión de la angiotensina (IECA) y antagonistas de receptores de angiotensina II (ARA II)<sup>25,28</sup>. El efecto protector sobre la nefrina se ha demostrado, en particular, en la glomerulosclerosis provocada en ratas obesas que recuerda la nefropatía diabética<sup>29</sup>.

Se ha informado la pérdida de la nefrina normal de los podocitos en el SN del adulto por NCM<sup>30</sup>, NM<sup>31,32</sup> y en la nefropatía diabética<sup>33,34</sup>. La nefrinuria es un hallazgo revelador en la nefropatía diabética incipiente<sup>35</sup>. No obstante, el papel de la nefrina en la patología glomerular humana adquirida es discutido por otros autores<sup>36</sup>. La nefrina se pierde cuando hay borramiento de pedicelos y está conservada cuando no hay borramiento<sup>37</sup>. En consecuencia, la redistribución de la nefrina en el

diafragma de filtración podría ser la consecuencia del borramiento de los pedicelos. En estudios inmunoelectrónicos muy detallados, se ha visto una correlación inversa entre la anchura del pedicelo y la nefrina<sup>38</sup>. Esto es, en la glomerulopatías adquiridas, la alteración de la nefrina, a diferencia de ser la alteración primaria en el SN congénito finlandés, podría ser secundaria a la alteración de otras proteínas podocitarias relacionadas. En apoyo de esta hipótesis, se ha observado una correlación positiva entre la expresión de niveles de nefrina, sinaptopodina,  $\alpha$ -actinina-4, WT-1, GLEPP-1 y distroglicano en los podocitos de una serie de 69 casos de SN idiopático del adulto frente a 14 casos control<sup>39</sup>, lo que sugiere que los podocitos responden a determinados estímulos que afectan su estructura y alteran de forma sincrónica la transcripción de los genes implicados en las proteínas de la barrera de filtración. Se precisarían más estudios de series homogéneas y amplias de glomerulopatías, que implican mecanismos patogénicos diferentes, a fin de aclarar el significado clínico del déficit de nefrina en la patología glomerular del adulto.

Más recientemente se ha reconocido el papel de la podocina en el SN del adulto. Se ha visto una pérdida de podocina en los 19 casos estudiados de GSF, mientras que aparece conservada en otras nefropatías, incluidas NCM, NM y glomerulonefritis por depósitos de IgA<sup>40</sup>. Sin embargo en otras series, el déficit de nefrina, podocina y podocalixina está presente en el SN, independientemente del mecanismo patogénico<sup>38</sup>. El hecho de observarse un incremento de los niveles de transcripción de estas tres principales proteínas con función de barrera de filtración, así como una correlación positiva entre niveles de m-RNA podoplanina y la proteinuria, se interpreta como un mecanismo de compensación de los podocitos indemnes (tabla IV). Schmid H y cols.<sup>39</sup> han observado que la relación entre m-RNA podocina y m-RNA sinaptopodina distingue muy bien la GSF de otras glomerulopatías que cursan con SN, como la NCM, así como la proteinuria nefrótica en la nefroangioesclerosis. Más llamativo aún, es que los pacientes con nefropatía por CM, que desarrollan una GSF superpuesta comprobada histológicamente, muestran unos valores del cociente m-RNA podocina / m-RNA sinaptopodina similares al patrón de la NCM cuando los pacientes son corticosenesibles, a diferencia del patrón molecular de GSF que muestran cuando son corticorresistentes. Lo que ha sido un paso hacia el diagnóstico diferencial con técnicas de biología molecular entre la GSF, una entidad de mal pronóstico, y la NCM, en etapas incipientes y abre las posibilidades de optimizar el tratamiento.

**Tabla IV.** Proteínas podocitarias específicas de barrera de filtración en el síndrome nefrótico del adulto

Patología	Proteína (↓↑)	Técnica	Referencia
CM (10) NM (13) GSF (7) <i>GNIgA</i> (6) Total 46	Nefrina ↓	Inmunofluorescencia	32
Diabetes (17) Total 27	Nefrina ↓	Inmunofluorescencia	34
GSF (5) CM (10) Diabetes (6) NL (7) <i>GNIgA</i> (10) Total 48	Nefrina ↓ Podocina ↓ Podocalixina ↓ m-RNA Podocina ↓ m-RNA Nefrina ↓ m-RNA Podoplanina ↓	Inmunohistoquímica  RT-PCR	38
GSF (9) CM (13)	Cociente	RT-PCR	39
<i>NM</i> (31) <i>NS</i> (16) Total 83	m-RNA Podocina m-RNA Sinaptopodina	RT	
GSF (19) CM (6) NM (5) <i>GNIgA</i> (12) Total 42	Podocina ↓	Western blot Inmunohistoquímica	40

Nota: la primera columna recoge la glomerulopatía con déficit de proteínas podocitarias y en cursiva la glomerulopatía control. En paréntesis el número de casos, la diferencia hasta el número total son muestras de riñón normal. CM = Cambios mínimos. NM = nefropatía membranosa. GSF = glomeruloesclerosis segmentaria y focal. GNIgA = glomerulonefritis IgA. NS = nefroangioesclerosis. RT-PCR = transcripción inversa y reacción en cadena de la polimerasa para amplificación del DNA.

Los ratones knockout para el gen de CD2PA, la molécula adaptadora de la nefrina y podocina a la actina, desarrollan un SN congénito y mueren a las 6-7 semanas<sup>41</sup>. Se sabe que CD2PA es necesario para el mantenimiento de la barrera de filtración, y ya se ha descrito una mutación en la codificación de esta proteína en dos casos de 29 afroamericanos con SN corticorresistente<sup>42</sup>. Así, actualmente se considera que el 25 % de los casos de GSF esporádica<sup>43</sup> son la consecuencia de una mutación en el gen de la podocina o de proteínas relacionadas.

WT-1 disminuye marcadamente en horas y se recupera a medida que sobreviene la proteinuria que es máxima al 10º día en el SN inducido por puromicina<sup>44</sup>. Este descenso transitorio explicaría porque no se detecta en la NCM. En contraste, en el modelo de SN inducido por adriamicina —que es el modelo de GSF— el descenso de WT-1 es permanente. El diagnóstico molecular ha demostrado una mutación en el gen codificador de WT-1 en algunos casos de SN corticorresistentes<sup>45</sup> en patología hu-

mana, en particular mujeres y varones con malformaciones genitourinarias.

**En conclusión:** 1) La pérdida de proteínas de diferenciación del podocito se asocia a su destrucción y a la progresión de la glomerulosclerosis segmentaria y focal independientemente de su etiología. 2) Los resultados moleculares y experimentales indican el papel de las proteínas del diafragma de filtración en la proteinuria nefrótica del adulto. 3) Los estudios histológicos y moleculares indican que la podocina y las proteínas relacionadas distinguen los pacientes con SN corticorresistente de los pacientes con SN corticosensible. 4) La pérdida de nefrina y de las proteínas del citoesqueleto, en el SN del adulto independientemente de la glomerulopatía subyacente, sugiere que los podocitos responden a diferentes estímulos que afectan su estructura y alteran de forma sincrónica la transcripción de los genes de las proteínas de la barrera de filtración. En consecuencia, el significado del déficit de nefrina parece ser poco discriminativo en el SN del adulto. La ne-

frina del diafragma de filtración representa una diana terapéutica de la proteinuria sensible a los IECA o ARA II, aunque se desconoce si es un efecto dependiente de la hemodinámica o es un efecto directo sobre el podocito.

## AGRADECIMIENTOS

Al Dr. F. Rivera y al Dr. F. Mampaso por su invitación a participar en el Curso «Avances en Nefrología» realizado en el marco de la Reunión anual del Club de Nefropatología de la Sociedad Española de Nefrología —El Escorial, marzo de 2005— donde se presentó en parte el manuscrito.

## BIBLIOGRAFÍA

- Madsen KM, Tisher CG: Anatomy of the kidney. En: Brenner and Rector's, The kidney. Brenner BM (ed) 7<sup>th</sup> edición. WB Saunders Co, Philadelphia, pp. 8-12, 2004.
- 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.
- Boute N, Gribouval O, Roselli S, Benessy F, Lee H, Fuchs-huber A, Dahan K, Gubler MC, Niaudet P, Antignac C: NPHS2, encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nature Genet* 24: 349-54, 2000.
- Meyrier A: Nephrotic focal segmental glomerulosclerosis in 2004: an update. *Nephrol Dial Transplant* 19: 2437-44, 2004.
- Kaplan JM, Kim SH, North KN, Rennke H, Correia LA, Tong HQ, Mathis BJ, Rodríguez-Pérez JC, Allen PG, Beggs AH, Pollak MR: Mutations in ACTN4, encoding  $\alpha$ -actinin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nature Genet* 24: 251-6, 2000.
- Yang Y, Jeanpierre C, Dressler GR, Lacoste M, Niaudet P, Gubler MC: WT1 and PAX-2 podocyte expression in Denys-Drash syndrome and isolated diffuse mesangial sclerosis. *Am J Pathol* 154: 181-192, 1999.
- Asanuma K, Mundel P: The role of podocytes in glomerular pathobiology. *Clin Exp Nephrol* 7: 255-9, 2003.
- Kretzler M: Regulation of adhesive interaction between podocytes and glomerular basement membrane. *Microsc Res Tech* 57: 247-53, 2002.
- Ruotsalainen V, Ljungberg P, Wartiovaara J, Lenkkeri U, Kestila M, Jalanko H, Holmberg C, Tryggvason K: Nephrin is specifically located at the slit diaphragm of glomerular podocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 96: 7962-67, 1999.
- Holzman LB, St John PL, Kovari IA, Verma R, Holthofer H, Abrahamson DR: Nephrin localizes to the slit pore of the glomerular epithelial cell. *Kidney Int* 56: 1481-91, 1999.
- Putaala H, Soininen R, Kilpeläinen P, Wartiovaara J, Tryggvason K: The murine nephrin gene is specifically expressed in kidney, brain and pancreas: inactivation of the gene leads to massive proteinuria and neonatal death. *Hum Mol Genet* 10: 1-8, 2001.
- Roselli S, Gribouval O, Boute N, Sich M, Benessy F, Attie T, Gubler MC, Antignac C: Podocin localizes in the kidney to the slit diaphragm area. *Am J Pathol* 160: 131-9, 2002.
- Srichai MB, Konieczkowski M, Padiyar A, Konieczkowski DJ, Mukherjee A, Hayden PS, Kamat S, Ashraf El-Meanawy M, Khan S, Mundel P, Lee SB, Bruggeman LA, Schelling JR, Sedor JR: A WT1 co-regulator controls podocyte phenotype by shuttling between adhesion structures and nucleus. *J Biol Chem* 279: 14398-408, 2004.
- Kerjaschki D, Sharkey DJ, Farquhar MG: Identification and characterization of podocalyxin-the major sialoprotein of the renal glomerular epithelial cell. *J Cell Biol* 98: 1591-6, 1984.
- Ostalska D, Zachwieja J, Siwinska A, Nowicki M, Witt M, Zaniew M: Reorganisation of podocyte cytoskeleton in proteinuric and steroid-resistant glomerular diseases in children: an immunohistochemistry approach. XXXI Congress of the EDTA, Lisbon. p. 239, 2004.
- Pavenstädt H: Roles of the podocyte in glomerular function. *Am J Physiol Renal Physiol* 278: F173-9, 2000.
- 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: 51-6, 1999.
- Regele HM, Fillipovic E, Langer B, Poczewski H, Kraxberger I, Bittner RE, Kerjaschki D: Glomerular expression of dystroglycans is reduced in minimal change nephrosis but not in focal segmental glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol* 11: 403-12, 2000.
- Shikata K, Makino H, Morioka S, Kashitani T, Hirata K, Ota Z, Wada J, Kanwar YS: Distribution of extracellular matrix receptors in various forms of glomerulonephritis. *Am J Kidney Dis* 25: 680-8, 1995.
- 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.
- Stefes MW, Schmidt D, McCrery R, Basgen JM, International Diabetic Nephropathy Study Group: Glomerular cell number in normal subjects and in type I diabetic patients. *Kidney Int* 59: 2104-13, 2001.
- Matsui K, Breitender-Geleff S, Soleiman A, Kowalski H, Kerjaschki D: Podoplanin, novel 43-kd membrane protein, controls the shape of podocytes. *Nephrol Dial Transplant* 14 (Supl. 1): 9-11, 1999.
- 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.
- 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.
- Benigni A, Tomasoni S, Gagliardini E, Zoja C, Grunkemeyer JA, Kalluri R, Remuzzi G: Blocking angiotensin II synthesis/activity preserves glomerular nephrin in rats with severe nephrosis. *J Am Soc Nephrol* 12: 941-8, 2001.
- Yuan H, Takeuchi E, Taylor GA, McLaughlin M, Brown D, Salant DJ: Nephrin dissociates from actin, and its expression is reduced in early experimental membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 13: 946-56, 2002.
- Nakatsue T, Koike H, Han GH, Suzuki K, Yuan H, Salant DJ, Gejyo F, Shimizu F, Kawachi H: Nephrin is dissociated from podocin in experimental membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 14: 166A, 2003.
- Suzuki K, Koike H, Han GH, Nakatsue T, Shimizu F, Kawachi H: Angiotensin II receptor antagonist prevents the reduction of nephrin expression and attenuates proteinuria in anti-nephrin monoclonal antibody 5-1-6 induced nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 14: 160A, 2003.

29. Blanco S, Bonet J, López D, Casas I, Romero R: ACE inhibitors improve nephrin expression in Zucker rats with glomerulosclerosis. *Kidney Int (Supl. 93)*: S10-S14, 2005.
30. Lahdenkari AT, Lounatmaa K, Patrakka J, Holmberg C, Wartiovaara J, Kestila M, Koskimies O, Jalanko H: Podocytes are firmly attached to glomerular basement membrane in kidneys with heavy proteinuria. *J Am Soc Nephrol* 15: 2611-8, 2004.
31. Furness PN, Hall LL, Shaw JA, Pringle JH: Glomerular expression of nephrin is decreased in acquired human nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 14: 1234-37, 1999.
32. Doublier S, Ruotsalainen V, Salvidio 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.
33. Rantanen M, Palmén T, Patari A, Ahola H, Lehtonen S, Astrom E, Floss T, Vauti F, Wurst W, Ruiz P, Kerjaschki D, Holt-hofer H: Nephrin TRAP mice lack slit diaphragms and show fibrotic glomeruli and cystic tubular lesions. *J Am Soc Nephrol* 13: 1586-94, 2002.
34. Doublier S, Salvidio G, Lupia E, Ruotsalainen V, Verzola D, Deferrari G, Camussi G: Nephrin expression is reduced in human diabetic nephropathy: evidence for a distinct role for glycosylated albumin and angiotensin II. *Diabetes* 52: 1023-30, 2003.
35. Patari A, Forsblom C, Havana M, Taipale H, Group PH, Holt-hofer H: Nephropathy in diabetic nephropathy of type 1 diabetes. *Diabetes* 52: 2969-74, 2003.
36. Patrakka J, Ruotsalainen V, Ketola I, Holmberg C, Heikin-heimo M, Tryggvason K, Jalanko H: Expression of nephrin in pediatric kidney diseases. *J Am Soc Nephrol* 12: 289-296, 2001.
37. Huh W, Kim DJ, Kim MK, Kim YG, Oh HY, Ruotsalainen V, Tryggvason K: Expression of nephrin in acquired human glomerular disease. *Nephrol Dial Transplant* 17: 478-84, 2002.
38. Koop K, Eikmans M, Baelde HJ, Kawachi H, De Heer E, Paul LC, Bruijn JA: Expression of podocyte-associated molecules in acquired human kidney diseases. *J Am Soc Nephrol* 14: 2063-71, 2003.
39. Schmid H, Henger A, Cohen CD, Frach K, Grone HJ, Schlöndorff D, Kretzler M: Gene expression profiles of podocyte-associated molecules as diagnostic markers in acquired proteinuric diseases. *J Am Soc Nephrol* 14: 2958-66, 2003.
40. Horinouchi I, Nakazato H, Kawano T, Iyama K, Furuse A, Arizono K, Machida J, Sakamoto T, Endo F, Hattori S: *In situ* evaluation of podocin in normal and glomerular diseases. *Kidney Int* 64: 2092-9, 2003.
41. Shih NY, Li J, Karpitskii V, Nguyen A, Dustin ML, Kanagawa O, Miner JH, Shaw AS: Congenital nephrotic syndrome in mice lacking CD2-associated protein. *Science* 286: 312-5, 1999.
42. Kim JM, Wu H, Green G, Winkler CA, Kopp JB, Miner JH, Unanue ER, Shaw AS: CD2-associated protein haploinsufficiency is linked to glomerular disease susceptibility. *Science* 300: 1298-300, 2003.
43. Van Den Berg JG, Weening JJ: Role of the immune system in the pathogenesis of idiopathic nephrotic syndrome. *Clinical Science* 107: 125-36, 2004.
44. Kawanishi H, Prassun KD, Gross EJ, Kapoian T, Lianos E: Wilms tumor 1 (WT1) expression in glomerular epithelial cell injury (GEC). *J Am Soc Nephrol* 14: 156A, 2003.
45. Ruf RG, Schultheiss M, Lichtenberger A, Karle SM, Zalewski I, Mucha B, Everding AS, Neuhaus T, Patzer L, Plank C, Haas JP, Ozaltin F, Imm A, Fuchshuber A, Bakkaloglu A, Hildebrandt F, APN Study Group: Prevalence of WT1 mutations in a large cohort of patients with steroid-resistant and steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Kidney Int* 66: 564-70, 2004.