

La transcriptómica ilustra nuevas vías letales en la nefropatía diabética

A. Benito-Martín¹, A.C. Uceró¹, B. Santamaría¹, C. Lorz⁴, M. Kretzler⁵, M.P. Rastaldi⁶, M.D. Sánchez-Niño¹, A. Sanz¹, M.C. Izquierdo¹, M. Ruiz-Ortega^{1,2}, J. Egido^{1,2}, A. Ortiz¹⁻³

¹Fundación Jiménez Díaz. ²Universidad Autónoma de Madrid. ³Fundación Renal Íñigo Álvarez de Toledo. ⁴Ciemat, Madrid.

⁵Division of Nephrology. University of Michigan. Ann Arbor. MI. EE. UU. ⁶Renal Research Laboratory. Fondazione D'Amico per la Ricerca sulle Malattie Renali & Fondazione IRCCS Ospedale Maggiore Policlinico. Milán. Italia

Nefrología 2009;29(1):13-19.

RESUMEN

La nefropatía diabética es la causa más común de enfermedad renal crónica terminal. La modulación terapéutica de la angiotensina II retarda, pero no evita, su progresión. La muerte celular contribuye a la pérdida de masa renal en las nefropatías crónicas. Un consorcio europeo empleó la transcriptómica en biopsias renales para identificar nuevos mediadores implicados en la muerte de la célula renal durante la nefropatía diabética. Un 25% de los genes relacionados con la muerte celular estaban expresados diferencialmente en la nefropatía diabética. TRAIL y osteoprotegerina fueron los genes más sobreexpresados, y también estaba aumentado CD74. Las células tubulares y podocitos expresan TRAIL bajo la regulación de citocinas proinflamatorias (MIF vía CD74, TNF). La hiperglucemia sensibiliza a las células renales a la apoptosis inducida por TRAIL, mientras que la osteoprotegerina protege. Estos resultados sugieren que, además de la glucemia, la inflamación y TRAIL pueden ser objetivos terapéuticos en la nefropatía diabética.

Palabras clave: Apoptosis. TRAIL. OPG. CD74. Diabetes. Riñón. MIF.

SUMMARY

Diabetic nephropathy is the most common cause of end-stage renal disease. Approaches targeting angiotensin II significantly delay its progression. However, many patients still need renal replacement therapy. High throughput techniques such as unbiased gene expression profiling and proteomics may identify new therapeutic targets. Cell death is thought to contribute to progressive renal cell depletion in chronic nephropathies. A European collaborative effort recently applied renal biopsy transcriptomics to identify novel mediators of renal cell death in diabetic nephropathy. Twenty-five percent of cell death regulatory genes were up- or downregulated in diabetic kidneys. TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) and osteoprotegerin had the highest level of expression. In diabetic nephropathy, tubular cells and podocytes express TRAIL. Inflammatory cytokines, including MIF via CD74, upregulate TRAIL. A high glucose environment sensitized renal cells to the lethal effect of TRAIL, while osteoprotegerin is protective. These results suggest that, in addition to glucose levels, inflammation and TRAIL are therapeutic targets in diabetic nephropathy.

Key words: Apoptosis. CD74. Diabetes. Kidney. MIF. TRAIL.

INTRODUCCIÓN

La enfermedad renal crónica se caracteriza por una pérdida gradual de la función renal hasta requerir su sustitución por diálisis o trasplante. La insuficiencia renal reduce la esperanza de vida y tiene elevados costes personales, sociales y económicos. El sustrato patológico

de la enfermedad renal crónica es una pérdida progresiva de células renales parenquimatosas glomerulares y tubulares. La apoptosis contribuye a la pérdida de células renales^{1,2} y se asocia con inflamación crónica y fibrosis. La angiotensina II es un mediador clave de la nefropatía diabética. Los estudios preclínicos mostraron que los efectos pleiotrópicos de la angiotensina promueven el daño tisular más allá de su acción sobre la tensión arterial.³ El efecto renoprotector de los Inhibidores de la Enzima Convertidora de Angiotensina (IECA) y de los Antagonistas del Receptor de Angiotensina II (ARA II) en la nefropa-

Correspondencia: Alberto Ortiz
Unidad de Diálisis.
Fundación Jiménez Díaz. Madrid.
aortiz@fjd.es

tía diabética se ha confirmado en ensayos clínicos.⁴ A pesar de estos avances, la nefropatía diabética todavía es la causa más frecuente de enfermedad renal crónica terminal en los países desarrollados. Sólo un conocimiento completo del proceso patogénico que inicia y mantiene el daño renal permitirá el abordaje con éxito desde nuevas estrategias terapéuticas.

BÚSQEDA DE BIOMARCADORES Y DIANAS TERAPÉUTICAS MEDIANTE TÉCNICAS DE ALTO RENDIMIENTO

Tradicionalmente, la búsqueda de mediadores de daño tisular entraña una revisión cuidadosa de la literatura a la búsqueda de moléculas con características que pudieran hacerlas relevantes en la lesión renal. Con este abordaje teórico se identifican moléculas de interés potencial y se estudia su expresión en la lesión. Si existen diferencias entre el tejido normal y el dañado, se procede a un análisis funcional en células cultivadas y en modelos animales. El proceso es poco eficaz y consume muchos recursos. La nueva disponibilidad de técnicas de alto rendimiento como la transcriptómica (estudio simultáneo de niveles de expresión de mRNA de miles de genes) o la proteómica (estudio simultáneo de niveles de expresión de múltiples proteínas) permite la identificación de cientos de genes o proteínas en base a su expresión diferencial en la enfermedad. Estos patrones de expresión pueden usarse con fines diagnósticos o pronósticos. Los algoritmos bioinformáticos permiten gestionar la gran cantidad de datos generados y buscar asociaciones estadísticas con la presencia o progresión de la enfermedad. Recientemente, un panel de 65 biomarcadores proteicos urinarios permitió identificar la nefropatía diabética con una sensibilidad y especificidad del 97%. Además, este panel de biomarcadores identificó a los pacientes con microalbuminuria y diabetes que progresaron a nefropatía establecida en tres años.⁵ Para identificar nuevos biomarcadores, no es necesaria una función patogénica de la molécula. Además, podemos identificar nuevas dianas terapéuticas. La bioinformática permite dar prioridad a las moléculas con mayor o menor nivel de expresión, identificar las moléculas relacionadas con los procesos que participan en la patogenia de la enfermedad e identificar las relaciones entre las moléculas reguladas diferencialmente. Esto ayuda a reducir el ámbito de las moléculas candidatas a unas cuantas, cuya expresión diferencial puede confirmarse por RT-PCR a nivel de mRNA y por inmunohistoquímica a nivel de proteína (figura 1). La inmunohistoquímica identifica las células que expresan la molécula y guía en la elección de modelos funcionales experimentales. Un criterio adicional para elegir una molécula a estudiar en profundidad puede ser la expresión diferencial simultánea de varias moléculas pertenecientes a la misma vía funcional. Éste fue el caso de moléculas de la vía de la citocina *TNF-related apoptosis-inducing ligand* (TRAIL) sobreexpresadas en la nefropatía diabética humana.⁶

TRANSCRIPTÓMICA EN RIÑONES DIABÉTICOS

El Banco Europeo de cDNA renal (ERCB), inicialmente financiado por la Unión Europea, se encuentra actualmente en la Universidad de Zurich (<http://www.portalderecherche.ch/unizh/p9291.htm>). Fragmentos de biopsias renales recogidos en toda Europa se clasificaron por diagnóstico, se separaron los compartimentos glomerular y túbulo-intersticial, y se extrajo y retrotranscribió ARN total de cada compartimento. Mediante *arrays* transcriptómicos se estudió la expresión de 22.283 genes y se usó esta información para profundizar en el conocimiento de la patogenia de la nefropatía diabética. A modo de ejemplo, parte del consorcio se centró en la activación de la vía de NFkB. El análisis de este factor de transcripción mostró un aumento de la expresión de 54 de sus 138 dianas conocidas y permitió diferenciar entre nefropatía diabética grave y leve, y a ambas nefropatías de las muestras control.⁷

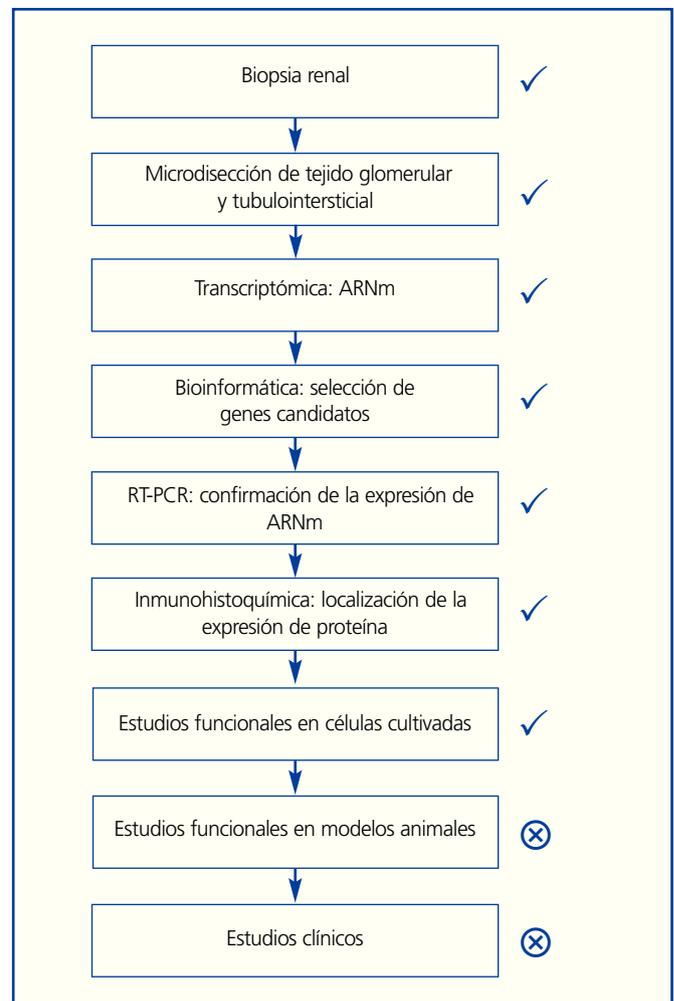


Figura 1. Identificación de objetivos terapéuticos a partir de estudios transcriptómicos. Se muestran los estudios realizados hasta el momento con la citocina de la superfamilia del TNF TRAIL. Los futuros objetivos de estudio aparecen marcados con una X.

EXPRESIÓN DE GENES REGULADORES DE LA APOPTOSIS EN LA NEFROPATÍA DIABÉTICA HUMANA

Estudios histológicos sugieren que la muerte celular por apoptosis podría contribuir a la progresiva pérdida de masa renal en la nefropatía diabética.^{1,8} Un 25% de los genes relacionados con apoptosis están regulados diferencialmente en biopsias renales de pacientes con nefropatía diabética.⁶ La figura 2 muestra los genes con más de un 50% de cambio en su expresión frente a riñones sanos. Estos genes codifican diversas proteínas, algunas de ellas implicadas en las interacciones entre citocinas y receptores de muerte celular, como Fas, TRAIL y OPG (osteoprotegerina). Estos datos son coherentes con el aumento de expresión de Fas descrito previamente en nefropatía diabética.⁹ Las citoci-

nas que pertenecen a la superfamilia del TNF regulan la supervivencia celular, la inflamación y la fibrosis. Entre ellas, se ha establecido con claridad el papel de TNF- α , FasL y TWEAK en la patogénesis del daño renal.¹⁰⁻¹⁵ Sin embargo, no existía información sobre la relación de TRAIL u OPG con el daño renal.

TRAIL

TRAIL (APO2L/TNFSF10) es un miembro poco usual de la superfamilia del TNF, ya que tiene un complejo sistema de receptores.¹⁶⁻¹⁸ Dependiendo de los niveles relativos de estos receptores, TRAIL puede ejercer diferentes funciones, como muerte, supervivencia, proliferación o maduración celular.¹⁹

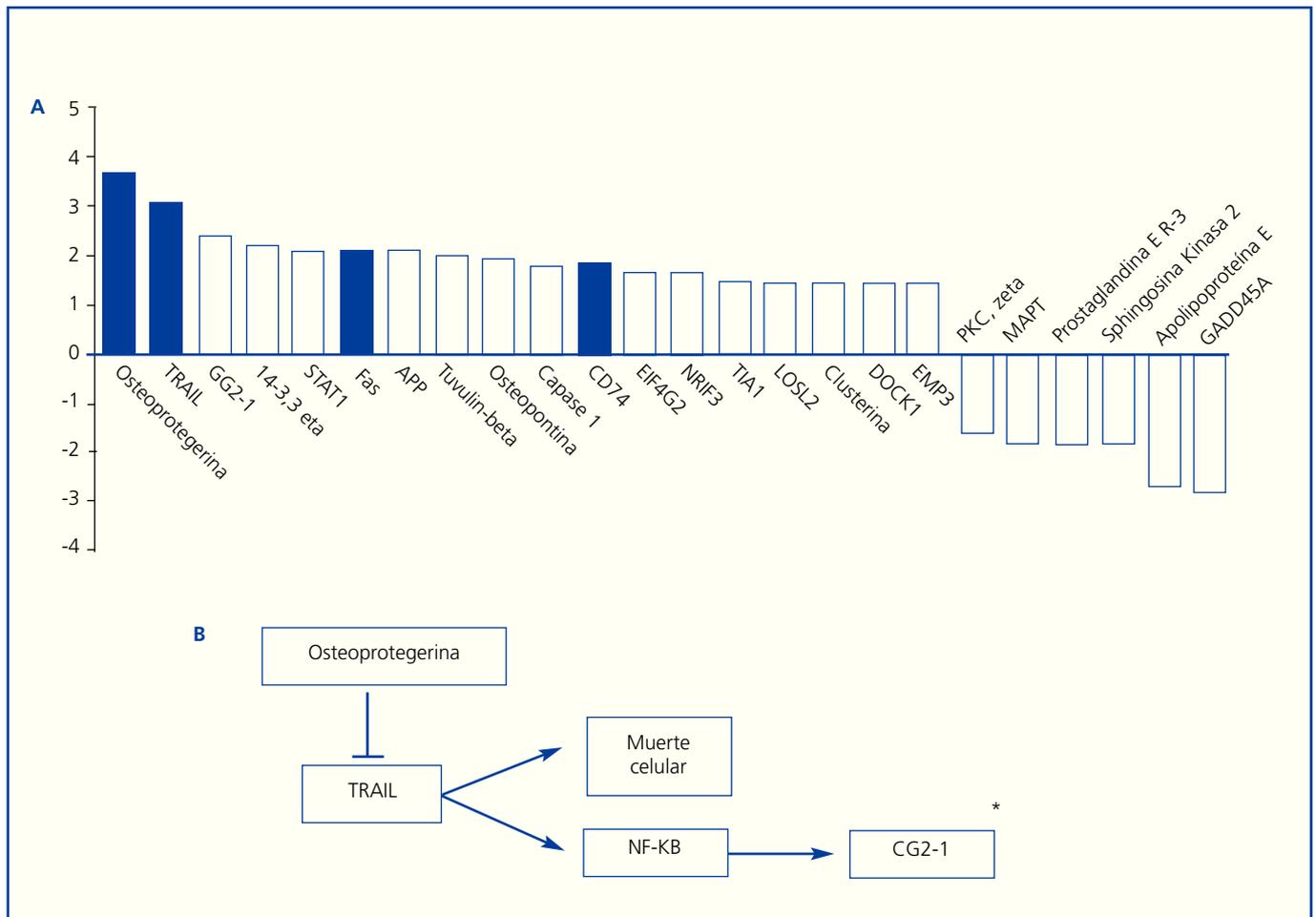


Figura 2. Cambios en la expresión de genes de muerte celular en la nefropatía diabética. A) Lista de genes cuya expresión varía al menos 1,5 veces sobre el control en biopsias con nefropatía diabética y las control. Las citocinas y receptores están representados por columnas negras. TRAIL (Ligando Inductor de Apoptosis relacionado con TNF), STAT1 (Transductor activador de la señal de Transcripción-1), APP (Proteína Precursora Amiloide), EIF4G2 (Factor de Iniciación de la Traducción Eucariótico 4 gamma 2), NRIF3 (Factor Interactivo con el receptor de Neurotrofina-3), TLA-1 (Antígeno Intracelular de Células T-1), LOXL2 (Análoga a la Lysil Oxidasa 2), EMP3 (Proteína de Membrana Epitelial-3), PKC zeta (Proteína Kinasa C zeta), MAPT (Proteína Asociada a Microtúbulos tau), GADD45A (Proteína de detención del ciclo inducible por daño al DNA 45 alfa). B) La información publicada sobre estas moléculas sugiere una relación potencial entre varios genes implicados, así como consecuencias funcionales. * TNF provoca la sobreexpresión de GG2-1 mediante la vía de NFkB. Hasta el momento, no hay estudios disponibles sobre su relación con TRAIL.

TRAIL es una proteína transmembrana de tipo II con un peso molecular de 33-35KD, que puede ser liberada de la membrana, conservando el potencial apoptótico. TRAIL se expresa de forma basal en numerosos tejidos, como en hígado, corazón, riñón, pulmón o testículo, lo que sugiere que en condiciones fisiológicas debe tener algún papel no apoptótico sobre células parenquimatosas.²⁰ TRAIL induce apoptosis en células cancerosas humanas y en tumores primarios, pero muestra una mínima toxicidad en células normales. En estos momentos, están en marcha ensayos clínicos en los que se emplea TRAIL o agonistas de sus receptores, como terapias anticancerígenas.²¹ No obstante, datos obtenidos a partir de ratones *knock out* sugieren que TRAIL podría inducir apoptosis en células parenquimatosas normales cuando están inmersas en un contexto inflamatorio.²² Hay muy poca información hasta el momento sobre TRAIL en la diabetes, y toda ella se refiere a su papel en la regulación de la respuesta inmune.²³

RECEPTORES DE TRAIL (TRAIL-RS)

TRAIL tiene un complejo sistema de receptores formado por cuatro receptores de membrana y un receptor soluble en humanos. En ratón existen algunas diferencias (sólo existe un receptor letal), aunque el sistema es muy similar.²⁴ TRAIL-R1 (DR4/TNFRSF10A) y TRAIL-R2 (DR5/TRICK2/KILLER/TNFSFR10B) contienen un dominio citoplásmico de muerte (DD) necesario para inducir apoptosis.¹⁸ TRAIL-R3 (TRID/DcR1/TNFRSF10C) y TRAIL-R4 (DcR2/TNFRSF10D) no activan la apoptosis, y se comportan como antagonistas de los receptores letales.²⁵ TRAIL-R3 está anclado a la membrana mediante una unión Glicosil-Fosfatidil-Inositol (GPI), y carece de dominio intracelular. TRAIL-R4 tiene un DD truncado y no funcional. Actualmente, se está estudiando el papel de estos dos receptores en vías de señalización no apoptóticas. Además, hay un quinto receptor para TRAIL que carece de dominio citoplásmico y transmembrana: el receptor soluble-señuelo osteoprotegerina (OPG, TNFRSF11B).²⁶ OPG fue inicialmente descrito como un regulador de la osteoclastogénesis, que se une a la citocina de la superfamilia del TNF, RANKL (Li-

gando del Receptor Activador de NFκB).²⁷ La unión de RANKL a su receptor RANK induce la diferenciación, activación y supervivencia de los osteoclastos. OPG actúa como un inhibidor soluble de la interacción RANKL/RANK. El hecho de que OPG actúe como un señuelo para TRAIL y RANKL abre la puerta a un posible cruce entre las acciones de TRAIL, RANKL y OPG. De hecho, la unión de OPG a TRAIL inhibe la asociación entre TRAIL y sus receptores y, por lo tanto, la inducción de apoptosis, pudiendo bloquear la función de OPG.¹⁷ Los niveles séricos de OPG están aumentados en pacientes con disfunción renal, incluyendo la nefropatía diabética, y se han relacionado con la calcificación de la arteria coronaria y de la aorta.²⁸⁻³⁰ La afinidad de TRAIL por OPG es menor que frente a sus otros receptores, pero existen datos que apoyan la relevancia biológica de esta interacción.²⁰ Los ratones que carecen de OPG tienen calcificaciones de la aorta y arterias renales, sugiriendo que, además de su bien conocida función en la homeostasis ósea, la regulación de OPG puede desempeñar un papel en la calcificación vascular.²⁶

TRAIL Y SUS RECEPTORES EN EL RIÑÓN

En el riñón sano se expresan tanto TRAIL como TRAIL-R1 y TRAIL-R2. TRAIL se expresa en túbulos, pero no en los glomérulos. TRAIL-R1 tiene un patrón similar de expresión, mientras que TRAIL-R2 se expresa, además, en el asa de Henle. No se ha observado expresión basal de TRAIL-R3 en el riñón sano³¹ y no hay informes sobre expresión de TRAIL-R4. Los ratones carentes de TRAIL no tienen enfermedad renal, lo que sugiere que no debe ser esencial para el desarrollo y la fisiología del riñón.

INTERACCIÓN ENTRE HIPERGLUCEMIA Y LA INFLAMACIÓN EN EL DAÑO RENAL POR DIABETES

Los hallazgos transcriptómicos de una mayor expresión de TRAIL y OPG en la nefropatía diabética humana se confir-

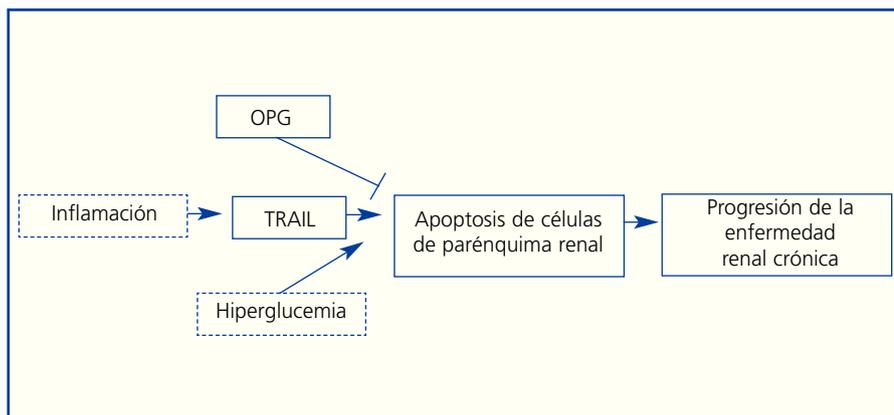


Figura 3. La inflamación y la hiperglucemia en la patogenia de la nefropatía diabética. Estudios en células renales cultivadas sugieren que la inflamación contribuye a incrementar la expresión de TRAIL, mientras que la hiperglucemia sensibiliza al efecto letal de TRAIL. Nuestro grupo hipotetiza que la pérdida de células renales por apoptosis contribuye a la progresión de la nefropatía diabética. La OPG (Osteoprotegerina) antagoniza el efecto letal de TRAIL en células en cultivo, aunque su acción principal en el riñón *in vivo* está por determinar.

CONCEPTOS CLAVE

1. La creación de perfiles de expresión génica imparciales puede identificar nuevas moléculas con un papel clave en el daño tisular.
2. TRAIL y su receptor señuelo osteoprotegerina están sobreexpresados en riñones diabéticos.
3. Las citocinas inflamatorias aumentan la expresión de TRAIL en células renales.
4. TRAIL induce apoptosis en células renales en un microambiente con altas concentraciones de glucosa.
5. La inflamación y TRAIL pueden ser nuevas dianas terapéuticas en la nefropatía diabética.

maron por RT-PCR y se correlacionaron con datos clínicos de gravedad de la afectación renal.⁶ En una cohorte independiente, la inmunohistoquímica confirmó la alta expresión de TRAIL. El principal lugar de expresión renal de TRAIL fueron las células tubulares. Además, en la nefropatía diabética se observó expresión de TRAIL *de novo* en podocitos.^{6,32} La tinción para TRAIL se correlacionó con el grado de atrofia tubular, fibrosis intersticial e inflamación intersticial, lo que sugiere un papel patogénico de TRAIL. Puesto que en la nefropatía diabética está aumentada la expresión de TRAIL y de OPG, dos moléculas potencialmente antagónicas, exploramos su función en células tubulares humanas cultivadas (figura 3).

Primero, estudiamos los factores que regulan la expresión de TRAIL. La hiperglucemia *per se* no modula la expresión de TRAIL. Sin embargo, citocinas proinflamatorias presentes en las lesiones renales crónicas, incluida la nefropatía diabética,^{15,33} como IFN- γ y TNF- α , aumentan la expresión tubular de TRAIL. Además, la activación de CD74, un receptor para MIF sobreexpresado en la nefropatía diabética (figura 2), aumentó la expresión de TRAIL en podocitos y células tubulares.³²

A continuación, abordamos las posibles funciones de TRAIL en células renales. Por sí mismo, TRAIL induce apoptosis en las células tubulares de un forma débil, dependiente de la dosis.⁶ Esto es coherente con la lenta progresión de la nefropatía diabética. El microambiente moduló la sensibilidad de las células tubulares a la apoptosis inducida por TRAIL. La combinación de un microambiente con altos niveles de glucosa, y la presencia de citocinas proinflamatorias, aumentó la susceptibilidad de las células tubulares a la apoptosis inducida por TRAIL. La hiperglucemia puede inducir o facilitar la apoptosis.^{8,34,35} El ambiente inflamatorio o la hiperglucemia producen cambios en la expresión génica de las células tubulares que pueden modificar su sensibilidad a la apoptosis. Entre ellos, encontramos una mayor expresión de receptores (Fas, Fn14) y moléculas intracelulares (Bax, Smac/Diablo, FADD) letales, así como una menor expresión de moléculas antiapoptóticas (Bcl2, BclxL).^{11,14,36-38} TRAIL también induce apoptosis en podocitos humanos cultivados,

especialmente en presencia de hiperglucemia.³² En la actualidad, estamos estudiando el papel de nuevas moléculas, no previamente relacionadas con la apoptosis, que se han identificado combinando la genómica funcional con la transcripción de riñones diabéticos.^{32,39}

TRAIL activa NFkB, lo que supone la activación de un mecanismo de protección frente a la apoptosis.⁶ En esto, TRAIL actúa de forma similar a TNF, que también activa simultáneamente señales de muerte y supervivencia. El bloqueo de las señales de supervivencia activadas por NFkB provoca un incremento en la tasa de muerte celular. En nuestro sistema, OPG protege de la apoptosis inducida por TRAIL, al comportarse como un receptor señuelo. Si bien OPG pudiera tener otras funciones en la nefropatía diabética, hipotetizamos que el resultado final de la interacción entre los altos niveles locales de TRAIL y OPG dependerá de la molécula que predomine en un momento dado. Si predomina TRAIL, el resultado será lesión tisular. Si predomina OPG, las células quedarán protegidas de la acción letal de TRAIL.

La expresión de TRAIL y de sus receptores se ha estudiado en otras enfermedades renales inflamatorias. En túbulos renal proximales y distales de riñones rechazados se demostró un aumento en la expresión de TRAIL, TRAIL-R1 y TRAIL-R2.⁴⁰

NUEVAS PREGUNTAS

En Medicina, cada respuesta genera nuevas preguntas. TRAIL es el gen que codifica proteínas proapoptóticas más sobreexpresado en la nefropatía diabética humana. Todavía debemos explorar qué factores adicionales regulan su expresión y la de sus receptores en células renales, así como los mecanismos moleculares de la sensibilización a su efecto letal por la glucosa. Asimismo, es preciso desarrollar estudios preclínicos con intervenciones terapéuticas sobre TRAIL y definir su posible papel como biomarcador.

Agradecimientos

SopORTE financiero: FIS 06/0046, ISCIII-RETICS REDINREN RD 06/0016, MEC (SAF 03/884), Sociedad Española de Nefrología. ABM y AS: FIS, MDSN: MEC, ACU, MCI y BS: Fundación Conchita Rabago. AO: Programa de Intensificación de la Actividad Investigadora en el Sistema Nacional de Salud, Instituto de Salud Carlos III y Agencia «Pedro Lain Entralgo», Comunidad de Madrid y CIFRA S-BIO 0283/2006. Miembros del European Renal cDNA Bank-Kroener Fresenius Bank en el momento del estudio: J.P. Rougier, P. Ronco, Paris; M. P. Rastaldi, G. D'Amico, Milano; F. Mampaso, Madrid; P. Doran, H. R. Brady, Dublin; D. Mönks, C. Wanner, Würzburg; A. J. Rees, Aberdeen; F. Strutz, G. Müller, Göttingen; P. Mertens, J. Floege, Aachen; T. Rislér, Tübingen; L. Gesualdo, F. P. Schena, Bari; J. Gerth, U. Ott, G. Wolf, Jena; R. Oberbauer, D. Kerjaschki, Vienna; B. Banas, B. Krämer, Regensburg; W. Samtleben, Munich; H. Peters, H. H. Neumayer, Berlin; K Ivens, B. Grabensee, Düsseldorf; M. Zeier, H. J. Gröne, Heidelberg; M. Merta, V. Tesar, Prague; C. D. Cohen, M. Kretzler, D. Schlöndorff, Munich.

BIBLIOGRAFÍA

- Kumar D, Robertson S, Burns KD. Evidence of apoptosis in human diabetic kidney. *Mol Cell Biochem* 2004;259:67-70.
- Sanz AB, Santamaría B, Ruiz Ortega M, Egido J, Ortiz A. Mechanisms of renal apoptosis in health and disease. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:1634-42.
- Ruiz Ortega M, González S, Serón D, Condom E, Bustos C, Largo R, et al. ACE inhibition reduces proteinuria, glomerular lesions and extracellular matrix production in a normotensive rat model of immune complex nephritis. *Kidney Int* 1995;48:1778-91.
- Parving HH, de Zeeuw D, Cooper ME, Remuzzi G, Liu N, Luncsford, et al. ACE gene polymorphism and losartan treatment in type 2 diabetic patients with nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:771-9.
- Rossing K, Mischak H, Dakna M, Zúrbig P, Novak J, Julian BA, et al. on behalf of the PREDICTIONS Network. Urinary Proteomics in Diabetes and CKD. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:1283-90.
- Lorz C, Benito-Martín A, Boucherot A, Uceró AC, Rastaldi MP, Henger A, et al. The death ligand TRAIL in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:904-14.
- Schmid H, Boucherot A, Yasuda Y, Henger A, Brunner B, Eichinger F, et al. Modular activation of nuclear factor-kappaB transcriptional programs in human diabetic nephropathy. *Diabetes* 2006;11:2993-3003.
- 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 Investig Med* 1997;45:50-6.
- Kelly DJ, Stein-Oakley A, Zhang Y, Wassef L, Maguire J, Koji T, et al. Fas-induced apoptosis is a feature of progressive diabetic nephropathy in transgenic (mRen-2)27 rats: attenuation with renin-angiotensin blockade. *Nephrology (Carlton)* 2004;9:7-13.
- González-Cuadrado S, Lorz C, García del Moral R, O'Valle F, Alonso C, Ramiro F, et al. Agonistic anti-Fas antibodies induce glomerular cell apoptosis in mice in vivo. *Kidney Int* 1997;51:1739-46.
- Justo P, Sanz AB, Sánchez-Niño MD, Winkles JA, Lorz C, Egido J, et al. Cytokine cooperation in renal tubular cell injury: the role of TWEAK. *Kidney Int* 2006;70:1750-8.
- Sanz AB, Justo P, Sánchez-Niño MD, Blanco-Colio LM, Winkles JA, Kretzler M, et al. The Cytokine TWEAK Modulates Renal Tubulointerstitial Inflammation. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:695-703.
- Ortiz A, Lorz C, Egido J. The Fas ligand/Fas system in renal injury. *Nephrol Dial Transplant* 1999;14:1831-4.
- Lorz C, Ortiz A, Justo P, González-Cuadrado S, Duque N, Gómez-Guerrero C, et al. Proapoptotic Fas ligand is expressed by normal kidney tubular epithelium and injured glomeruli. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:1266-77.
- Navarro JF, Mora-Fernández C. The role of TNF-alpha in diabetic nephropathy: pathogenic and therapeutic implications. *Cytokine Growth Factor Rev* 2006;17:441-50.
- Wiley SR, Schooley K, Smolak PJ, Din WS, Huang CP, Nicholl JK, et al. Identification and characterization of a new member of the TNF family that induces apoptosis. *Immunity* 1995;3:673-82.
- Emery JG, McDonnell P, Burke MB, Deen KC, Lyn S, Silverman C, et al. Osteoprotegerin is a receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *J Biol Chem* 1998;273:14363-7.
- Schneider P, Bodmer JL, Thome M, Hofmann K, Holler N, Tschopp J. Characterization of two receptors for TRAIL. *FEBS Lett* 1997;416:329-34.
- Schneider P, Thome M, Burns K, Bodmer JL, Hofmann K, Kataoka T, et al. TRAIL receptors 1 (DR4) and 2 (DR5) signal FADD-dependent apoptosis and activate NF-kappaB. *Immunity* 1997;7:831-6.
- Corallini F, Rimondi E, Secchiero P. TRAIL and osteoprotegerin: a role in endothelial physiopathology? *Front Biosci* 2008;13:135-47.
- Kruyt FA. TRAIL and cancer therapy. *Cancer Lett* 2008;263:14-25.
- Zheng SJ, Wang P, Tsabary G, Chen YH. Critical roles of TRAIL in hepatic cell death and hepatic inflammation. *J Clin Invest* 2004;113:58-64.
- Mi QS, Ly D, Lamhamedi-Cherradi SE, Salojin KV, Zhou L, Grattan M, et al. Blockade of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand exacerbates type 1 diabetes in NOD mice. *Diabetes* 2003;52:1967-75.
- Lorz C, Benito A, Uceró AC, Santamaría B, Ortiz A. TRAIL and kidney disease. *Front Biosci* 2008 (in press).
- Sheridan JP, Marsters SA, Pitti RM, Gurney A, Skubatch M, Baldwin D, et al. Control of TRAIL-induced apoptosis by a family of signaling and decoy receptors. *Science* 1997;277:818-21.
- Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, et al. Osteoprotegerin: A novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997;89:309-19.
- Zauli G, Rimondi E, Nicolin V, Melloni E, Celeghini C, Secchiero P. TNF-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) blocks osteoclastic differentiation induced by RANKL plus M-CSF. *Blood* 2004;104:2044-50.
- Nitta K, Akiba T, Uchida K, Kawashima A, Yumura W, Kabaya T, et al. The progression of vascular calcification and serum osteoprotegerin levels in patients on long-term hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 2003;42:303-9.
- Rasmussen LM, Tarnow L, Hansen TK, Parving HH, Flyvbjerg A. Plasma osteoprotegerin levels are associated with glycaemic status, systolic blood pressure, kidney function and cardiovascular morbidity in type 1 diabetic patients. *Eur J Endocrinol* 2006;154:75-81.
- Jono S, Ikari Y, Shioi A, Mori K, Miki T, Hara K, et al. Serum osteoprotegerin levels are associated with the presence and severity

- of coronary artery disease. *Circulation* 2002;106:1192-4.
31. Spierings DC, de Vries EG, Vellenga E, van den Heuvel FA, Koornstra JJ, Wesseling J, et al. Tissue distribution of the death ligand TRAIL and its receptors. *J Histochem Cytochem* 2004;52:821-31.
 32. Sánchez-Niño MD, Sanz AB, Ihalmo P, Lassila M, Holthofer H, Mezzano S, et al. The MIF receptor CD74 in diabetic podocyte injury. *J Am Soc Nephrol* 2009 (in press).
 33. Mensah-Brown EP, Obineche EN, Galadari S, Chandranath E, Shahin A, Ahmed I, et al. Streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats: The role of inflammatory cytokines. *Cytokine* 2005;31:180-90.
 34. Baumgartner-Parzer SM, Wagner L, Pettermann M, Grillari J, Gessl A, Waldhausl W. High-glucose-triggered apoptosis in cultured endothelial cells. *Diabetes* 1995;44:1323-7.
 35. Moley KH, Chi MM, Knudson CM, Korsmeyer SJ, Mueckler MM. Hyperglycemia induces apoptosis in pre-implantation embryos through cell death effector pathways. *Nat Med* 1998;4:1421-4.
 36. Ortiz A, Lorz C, Catalán MP, Danoff TM, Yamasaki Y, Egido J, et al. Expression of apoptosis regulatory proteins in tubular epithelium stressed in culture or following acute renal failure. *Kidney Int* 2000;57:969-81.
 37. Justo P, Sanz A, Lorz C, Egido J, Ortiz A. Expression of Smac/Diablo in tubular epithelial cells and during acute renal failure. *Kidney Int* 2003;64:52-6.
 38. Justo J, Sanz AB, Lorz C, Egido J, Ortiz A. Lethal activity of FADD death domain in renal tubular epithelial cells. *Kidney Int* 2006;69:2205-11.
 39. Koenig-Hoffmann K, Bonin-Debs AL, Boche I, Gawin B, Gnirke A, Hergersberg C, et al. High throughput functional genomics: identification of novel genes with tumor suppressor phenotypes. *Int J Cancer* 2005;113:434-9.
 40. Song CJ, Liu XS, Zhu Y, Chen LH, Jia W, Li YN, et al. Expression of TRAIL, DR4, and DR5 in kidney and serum from patients receiving renal transplantation. *Transplant Proc* 2004;36:1340-3.