

# La participación de citoquinas y matriz extracelular en la progresión del daño renal

A. Ortiz, M. Gómez-Chiarri, J. Alonso, D. Serón \*, E. Condom \*, E. González y J. Egido

Laboratorio de Nefrología. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

\* Hospital Princesps d'Espanya. L'Hospitalet de Llobregat.

## Inflamación y fibrosis

En todo proceso inflamatorio se reconocen tres etapas sucesivas y superpuestas: desencadenamiento, mantenimiento y resolución<sup>1</sup>. La resolución de la inflamación puede ir asociada a la recuperación de la estructura y función normal del tejido, o caracterizarse por el acúmulo de matriz extracelular y tejido conectivo, originando la fibrosis tisular. En los últimos años se han descrito numerosos mediadores que pueden ocasionar daño tisular. Sin embargo, los factores que regulan la resolución de la inflamación y que determinan, en algunos casos, el desarrollo de tejido cicatricial son mal conocidos.

## Fibrosis renal

Con frecuencia, el riñón dañado tiende a deteriorarse progresivamente, a pesar del cese de la agresión original<sup>12</sup>. Numerosas nefropatías evolucionan a un cuadro histológico común, la esclerosis renal, caracterizado por la existencia de glomerulosclerosis (fibrosis glomerular), fibrosis intersticial y atrofia tubular. La fibrosis renal es la principal característica morfológica de la enfermedad renal crónica. En los últimos años, estudios experimentales han caracterizado las células y mediadores moleculares de las lesiones glomerulares agudas<sup>3</sup>. Sin embargo, apenas hay trabajos sobre los mecanismos de fibrosis renal *in vivo*<sup>4,5</sup>. El conocimiento de los posibles mediadores celu-

lares y moleculares de este proceso proviene, sobre todo, de estudios *in vitro*, que emplean células renales en cultivo; y de estudios *in vivo* sobre la fibrosis tisular en otros órganos, fundamentalmente la piel, el pulmón y el hígado. Esta información es necesariamente incompleta, puesto que es difícil extrapolar datos de estudios *in vitro* de unas horas de duración a los procesos *in vivo* de varios meses o años de evolución. Por otra parte, el riñón posee estirpes celulares propias y existe evidencia de que los fibroblastos son heterogéneos<sup>6</sup>, por lo que los hallazgos en otros órganos pueden no ser representativos de lo que ocurre en el riñón.

A continuación vamos a comentar los datos que sugieren que las citoquinas y la matriz extracelular participan activamente en los procesos que culminan en la esclerosis renal. También presentaremos un modelo de nefritis crónica que estamos poniendo a punto en nuestro laboratorio para abordar la participación de estos mediadores en la fibrosis renal *in vivo*.

## Mediadores de la inflamación y de la fibrosis tisular: citoquinas y matriz extracelular

Las citoquinas y la matriz extracelular son dos de los mediadores del daño tisular más estudiados en los últimos años, y las investigaciones sobre ellos pueden proveer al nefrólogo con nuevas estrategias terapéuticas destinadas a evitar la progresión del daño renal.

El término citoquina, en su acepción más amplia, incluye polipéptidos secretados por diferentes estirpes celulares, que actúan sobre numerosas células (pleiotropismo) a través de la unión a receptores específicos de membrana por mecanismos autocrinos, paracrinos o endocrinos<sup>7</sup>. Este concepto engloba denominaciones previas basadas en la estirpe celular que se consideraba la fuente de estas proteínas (monoquinas, interleuquinas —IL—, linfoquinas) y las basadas en las primeras acciones conocidas (factores de crecimiento, factores estimuladores de colonias, interferones). Las citoquinas tienen muy diversas acciones sobre las células, que no se limitan a promover la inflamación y la fibrosis. Por ejemplo, el factor de necrosis tumoral (TNF) regula los mecanismos de transporte por células tubulares<sup>8</sup>.

## Abreviaturas

CSF: factor estimulador de la formación de colonias.

EGF: factor de crecimiento epidérmico.

IGF-1: factor de crecimiento similar a la insulina-1.

IL: interleucina.

TGF: factor de crecimiento transformador.

TNF: factor de necrosis tumoral.

MCP-1: proteína quimiotáctica de monocitos.

PDGF: factor de crecimiento derivado de las plaquetas.

Correspondencia: Dr. J. Egido.  
Laboratorio de Nefrología.  
Fundación Jiménez Díaz.  
Avda. Reyes Católicos, 2.  
28040 Madrid.

La fibrosis tisular se caracteriza por el acúmulo de matriz extracelular. Hasta hace poco se consideraba a ésta como un andamio inerte cuya única misión era mantener la situación de las células en el espacio. Ahora se sabe que la matriz extracelular regula activamente y de forma específica el comportamiento de las células que viven en ella<sup>7</sup> y que podría, según las circunstancias, favorecer o limitar la progresión del daño tisular.

### Citoquinas

#### Origen de las citoquinas en el riñón

En general, se acepta que tanto los leucocitos que infiltran el riñón como las células renales intrínsecas sintetizan y liberan citoquinas (tablas I y II). Casi todas las citoquinas han sido descritas originalmente como productos de células sanguíneas, leucocitos y plaquetas. Por ello, vamos a profundizar en un aspecto más novedoso: la capacidad de las células renales para secretar citoquinas.

Recientemente se ha demostrado que las células mesangiales en cultivos de distintas especies expresan en su membrana y secretan TNF al ser estimuladas con endotoxina bacteriana (LPS)<sup>9</sup>. Este y otros estímulos también inducen la producción de TNF por células epiteliales glomerulares y tubulares<sup>10,11</sup>, así como la secreción de IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$  por células mesangiales<sup>12</sup>. Sin embargo, un trabajo reciente pone en duda la capacidad de las células mesangiales humanas para secretar IL-1 y TNF<sup>13</sup>.

La IL-6 fue identificada inicialmente como una proteína secretada por células mononucleares estimuladas con antígenos o mitógenos, que inducía la síntesis de inmunoglobulinas en células B activadas<sup>14</sup>. Poco después se demostró que las células endoteliales y mesangiales tienen capacidad para liberar IL-6<sup>15</sup>. Sin embargo, la isoforma mesangial difiere de la monocítica<sup>13</sup>. Los glomerulos de ratas normales también secretan las citoquinas mitogénicas PDGF e IGF-1<sup>16,17</sup> y expresan las citoquinas fibrogénicas TGF- $\beta_1$  y TGF- $\beta_2$ <sup>18</sup>. Recientemente se ha demostrado que las células renales expresan genes y secretan proteínas pertenecientes a la familia de pequeñas citoquinas/intercrinas/Scy, caracterizadas por sus propiedades quimiotácticas. Las células mesangiales expresan IL-8 e IP-10 y las células epiteliales tubulares expresan IL-8 y rantes (revisa en 19).

**Tabla I.** Origen de las citoquinas en el riñón

1. Células sanguíneas:
  - Leucocitos: neutrófilos, monocitos/macrófagos, linfocitos.
  - Plaquetas.
1. Células glomerulares intrínsecas:
  - Mesangiales.
  - Endoteliales.
  - Epiteliales.
3. Células epiteliales tubulares.

**Tabla II.** Lista parcial de citoquinas expresadas o liberadas por células mesangiales que podrían participar en el daño glomerular

TNF	IL-1
IL-6	PDGF
TGF- $\beta$	IL-8
IP-10	MCP-1
GM-CSF, M-CSF	IGF-1
Factor de crecimiento nervioso	

Diversas estirpes celulares y varias citoquinas comparten los estímulos para la secreción de citoquinas. En general, las citoquinas, otros mediadores de la inflamación, productos bacterianos y la matriz extracelular son los factores que regulan la producción de citoquinas por las células renales.

#### Acciones proinflamatorias y fibrogénicas de citoquinas

Las propiedades de las citoquinas se están caracterizando mediante estudios *in vitro* de sus efectos sobre células en cultivo y mediante estudios *in vivo*, que investigan los efectos de la administración local o sistémica de cada citoquina y la patología que se produce en animales transgénicos. Estos animales son portadores de genes de citoquinas que se expresan en exceso. Además, se ha demostrado un incremento en la expresión génica y síntesis glomerular de citoquinas en nefropatías humanas y experimentales<sup>20</sup>. En algunos casos, la administración sistémica de citoquinas moduló la gravedad del daño renal y los anticuerpos anticitoquinas disminuyeron la lesión glomerular (tabla III). A continuación repasaremos las acciones conocidas de las citoquinas consideradas más relevantes para la patogenia de la inflamación y fibrosis renal (tabla IV).

#### • TNF e IL-1

El TNF y la IL-1 son mediadores primarios en la patogenia de las infecciones, el shock y la inflamación, aunque existe menos información sobre sus efectos en la regulación de la fibrosis tisular<sup>21,22</sup>. El TNF y la IL-1 comparten numerosas acciones, como la capacidad para inducir

**Tabla III.** Evidencia de que las citoquinas podrían participar en las lesiones renales

1. Efectos proinflamatorios y fibrogénicos *in vitro* sobre células renales.
2. Elevada expresión/síntesis de citoquinas en enfermedades renales.
3. La administración de citoquinas exógenas, o estrategias que aumentan la síntesis de citoquinas endógenas (endotoxina bacteriana, animales transgénicos), inducen daño renal.
3. Estrategias anticitoquinas específicas (anticuerpos anticitoquinas) o inespecíficas (corticoides, ciclosporina) mejoran la evolución de enfermedades renales.

**Tabla IV.** Citoquinas que han sido relacionadas con patología glomerular

Citoquina	Efectos extraterrenales	Efecto glomerular	Patología renal	Anticitoquina
TNF e IL-1 .....	Múltiples.	Ver tabla.	GN proliferativas. Nefrosis experimental.	Efectivo.
IL-6 .....	Síntesis Ig. Proliferación células mieloides y linfoides.	Proliferación celular.	GN proliferativas.	No datos.
PDGF.....	Mitogénico.	Mitogénico.	GN proliferativas. Nefrectomía subtotal.	Efectivo.
TGF-β.....	Regula matriz.	Extracelular	GN proliferativas.	Efectivo.
TGF-α.....	Mitogénico.	No datos.	Quistes renales.	No datos.
IL-8.....	Quimiotáctico.	No datos.	GN proliferativas.	No datos.
IP-10.....	¿Quimiotáctico?	No datos.	GN proliferativas. Nefrosis experimental.	No datos.
IGF-1.....	Mitogénico.	Co-mitogénico.	Proliferación mesangial.	No datos.

Patología renal: nefropatías experimentales o humanas en las que está elevada la expresión génica o síntesis local de la citoquina, o patología renal observada en animales transgénicos para esta citoquina. Anticitoquina: efectividad del tratamiento con anticuerpos anticitoquina en nefropatías experimentales.

fiebre, la respuesta de fase aguda, neutrofilia, activación del endotelio y la síntesis de eicosanoides, citoquinas y radicales de oxígeno<sup>21,22</sup>. Asimismo poseen acciones sobre células mesangiales y otras células renales en cultivo, que incluyen citotoxicidad, la capacidad de inducir contracción de células mesangiales, de estimular la síntesis de citoquinas, mediadores lipídicos, enzimas proteolíticas y radicales de oxígeno<sup>12,23</sup> (tabla V). La inyección intravenosa de TNF a animales sanos produce diversas lesiones, que oscilan de necrosis tubular aguda a inflamación glomerular caracterizada por infiltración leucocitaria y trombosis capilares, que dependen de la especie y de la pauta de administración<sup>24,25</sup>. Los efectos del TNF y de la IL-1 sobre la proliferación de células renales y sobre la síntesis de matriz extracelular son variables. Datos recientes sugieren que estas citoquinas podrían tener un papel en la fibro-

génesis. Así, hemos demostrado en nuestro laboratorio que el incremento de la expresión génica glomerular del TNF se correlaciona, pero precede, al aumento de la expresión y síntesis local de fibronectina en un modelo de glomerulonefritis proliferativa experimental<sup>26</sup>, y que el TNF estimula la síntesis de fibronectina por células mesangiales y epiteliales glomerulares en cultivo<sup>27</sup>. Asimismo, el tratamiento con anticuerpos anti-TNF previno la fibrosis pulmonar en un modelo experimental de esta patología<sup>28</sup>. Además, la expresión y síntesis glomerular de TNF e IL-1 está aumentada en diversas glomerulonefritis proliferativas y no proliferativas humanas y experimentales que evolucionan a glomerulosclerosis<sup>10,29-38</sup> (tabla VI). En algunos modelos se ha podido demostrar, además, que la administración sistémica de la citoquina agrava el daño renal y que el tratamiento con anticuerpos anticitoquinas lo disminuye<sup>29-33,37</sup>.

**Tabla V.** Efectos del TNF sobre células renales*Células mesangiales:*

- Contracción celular.
- Citotoxicidad.
- ¿Proliferación?
- Expresión y síntesis de factores proinflamatorios:
  - Receptores de membrana.
  - Eicosanoides y PAF.
  - Anión superóxido.
  - Citoquinas.
  - Factores de la coagulación.
  - Oxido nítrico.

*Células epiteliales glomerulares:*

- Citotoxicidad.
- Expresión o secreción de factores proinflamatorios.

*Células epiteliales tubulares:*

- Regula procesos de transporte.
- Expresión o secreción de factores proinflamatorios: ICAM-1, TNF, IL-8, rantes, endotelina 1.

El efecto es estimulador si no se especifica lo contrario.

## ● IL-6

La IL-6 es un factor mitogénico y de diferenciación para células linfoides y hematopoyéticas<sup>14</sup>. Las principales acciones descritas sobre células mesangiales son un efecto mitogénico e inductor de la síntesis de matriz extracelular<sup>15,39,40</sup>, por lo que podría participar en el incremento

**Tabla VI.** Expresión y/o síntesis glomerular de TNF e IL-1 en nefropatías experimentales*Glomerulonefritis proliferativas:*

- Nefritis nefrotóxica.
- Nefritis lúpica.
- Glomerulonefritis proliferativa por inmunocomplejos.
- (En la nefropatía IgA experimental se ha descrito la producción glomerular de IL-1, pero no de TNF.)

*Nefropatías no proliferativas:*

- Nefrosis por adriamicina o puromicina.

del número de células y de matriz característico de las glomerulonefritis proliferativas. De hecho, los ratones transgénicos que sintetizan grandes cantidades de IL-6 desarrollan una forma de glomerulonefritis proliferativa mesangial<sup>41</sup>.

Estudios posteriores han relacionado la expresión glomerular y el incremento de la eliminación urinaria de IL-6 con la existencia de distintos tipos de glomerulonefritis proliferativas en el ser humano, y se ha descrito una relación entre la IL-6 y glomerulonefritis avanzada y/o progresión de la nefropatía<sup>42-45</sup>. Es más, en pacientes con nefropatía lúpica, la eliminación urinaria de IL-6 disminuyó tras un tratamiento efectivo<sup>45</sup>.

#### • PDGF

El PDGF es el principal componente de la actividad mitogénica del suero sobre células en cultivo<sup>46</sup>. El PDGF es mitogénico también para células mesangiales, pero no para células epiteliales y endoteliales glomerulares en cultivo<sup>47</sup>. Además, el PDGF estimula la síntesis de otras citoquinas en células mesangiales y, a través de la síntesis de TGF- $\beta$ , modula la producción de matriz extracelular<sup>47</sup>.

La expresión de PDGF y de su receptor está elevada en pacientes y animales con glomerulonefritis proliferativa, pero no en pacientes con nefropatía de cambios mínimos<sup>48-50</sup>. La fuente del PDGF en los modelos estudiados parecen ser las células mesangiales<sup>49</sup>. Además, la expresión de PDGF está aumentada en el modelo de nefropatía progresiva no inmune, originado en ratas con masa renal reducida, precediendo a la glomerulosclerosis<sup>51</sup>. En el modelo de nefritis proliferativa mesangial inducido por anticuerpos antitimocito (anti-Thy-1), el tratamiento con anti-PDGF disminuyó la proliferación celular mesangial y el depósito de matriz extracelular<sup>52</sup>.

#### • TGF- $\beta$

La principal acción de las diversas isoformas del TGF- $\beta$  es la regulación de la matriz extracelular<sup>53,54</sup> (tabla VII). El TGF- $\beta$  se comporta con frecuencia como una citoquina bifuncional, que, dependiendo del estado o del contexto de la célula, puede estimular o inhibir el mismo proceso. La mayor parte de las acciones del TGF- $\beta$  son consecuen-

cia de cambios en la matriz extracelular a través de efectos sobre la síntesis y la degradación de matriz y sobre la expresión de receptores celulares para matriz extracelular<sup>53</sup>. Además, el TGF estimula la síntesis de proteínas de matriz que no están presentes en tejidos normales y que podrían tener relevancia para la regulación de la inflamación, como la tenascina y ciertas isoformas de fibronectina<sup>53</sup>. En el glomérulo, el TGF- $\beta$  estimula la síntesis de los proteoglicanos biglicano y decorina, así como la producción de fibronectina, por células mesangiales y epiteliales glomerulares<sup>27,55</sup>. El TGF- $\beta$  también tiene propiedades inmunosupresoras. De hecho, es 10.000 a 100.000 veces más potente como supresor de células T que la ciclosporina *in vitro*<sup>56</sup>. El TGF- $\beta$  suprimió la actividad de clones de linfocitos T citotóxicos causantes de nefritis intersticiales experimentales<sup>57</sup>. El TGF- $\beta$  induce la síntesis de otras citoquinas y, aunque el efecto sobre la proliferación de células glomerulares es esencialmente inhibitorio, puede ser estimulador bajo ciertas circunstancias<sup>58</sup>.

La expresión y síntesis de TGF- $\beta$ , está elevada en nefropatías experimentales, como la glomerulonefritis proliferativa mesangial, por anticuerpos antitimocito, la nefritis por anti-MBG y la nefritis intersticial por puromicina<sup>59-61</sup>. En los tres modelos existió una relación entre el TGF- $\beta$ , y el depósito de matriz extracelular<sup>59-61</sup>. En la nefritis nefrotóxica, el TGF- $\beta$ , urinario predijo el desarrollo posterior de nefritis cortical<sup>62</sup>. Es más: en la nefritis por anticuerpos antitimocito, los anticuerpos anti-TGF- $\beta$  redujeron la síntesis de matriz extracelular por glomérulos inflamados cuando se administraron *in vitro* e *in vivo*<sup>63</sup>.

#### • TGF- $\alpha$

El TGF- $\alpha$ , a diferencia del TGF- $\beta$ , es esencialmente una citoquina mitogénica, que comparte el receptor celular con el factor de crecimiento epidérmico<sup>64</sup>. De hecho, actualmente el EGF es considerado una forma de TGF- $\alpha$ <sup>65</sup>. Estas citoquinas promueven el crecimiento de células tubulares e intersticiales renales y se piensa que tienen un papel en la fase de recuperación del fracaso renal agudo<sup>65</sup>. También podrían participar en la progresión del daño renal, puesto que los ratones transgénicos para el TGF- $\alpha$  desarrollan quistes epiteliales y agrandamiento del glomérulo, ambos característicos de enfermedades renales progresivas<sup>66</sup>.

#### • Otras citoquinas

El posible papel de otras citoquinas en el daño renal está prácticamente inexplorado, a pesar de que la lista de citoquinas producidas en el riñón y que actúan sobre éste no cesa de aumentar. Recientemente se ha demostrado que los glomérulos de ratas con nefritis nefrotóxica secretan grandes cantidades de IL-8<sup>67</sup> y que el mRNA de esta citoquina está anormalmente expresado en los glomérulos de algunos pacientes con nefropatía IgA<sup>68</sup>. En nuestro laboratorio hemos demostrado que el mRNA de otra ci-

**Tabla VII.** Acciones del TGF- $\beta$  que pueden tener relación con la patogenia de las glomerulonefritis

– Aumenta la producción de matriz extracelular e induce la síntesis de nuevas formas de proteínas de matriz.
– Disminuye la expresión de colagenasa y de otras proteinasas.
– Modifica la expresión de integrinas.
– Modula de forma bifuncional la proliferación celular.
– Induce la síntesis de citoquinas.
– Quimiotáctico para monocitos.
– Suprime la activación de linfocitos T.

toquina, IP-10, cuyas funciones son todavía desconocidas, está aumentado en los glomérulos de ratas con síndrome nefrótico de cambios mínimos o con glomerulonefritis proliferativa por inmunocomplejos<sup>19</sup>.

Otras citoquinas, como el IGF-1, tienen acciones sobre células renales y podrían participar en el crecimiento renal compensador<sup>17</sup>. Los ratones transgénicos para el IGF-1, a diferencia de los animales transgénicos para la hormona de crecimiento, no desarrollaron glomerulosclerosis, aunque sí fue evidente una cierta proliferación mesangial<sup>69</sup>, probablemente relacionada con su papel favorecedor de la mitogénesis de las células mesangiales *in vitro*.

#### ¿Está elevada la producción local de citoquinas en todas las glomerulonefritis estudiadas?

La producción glomerular de citoquinas no está elevada en todas las nefritis en que se ha estudiado. La expresión glomerular de TNF, por ejemplo, no estuvo incrementada ni en ratones ni en pacientes con nefropatía IgA<sup>68,70</sup>. Además, la expresión de PDGF e IL-6 no está elevada en las glomerulonefritis no proliferativas estudiadas<sup>42,44,48</sup>. Esto sugiere que diferentes nefropatías pueden tener diferentes patrones de secreción de citoquinas.

### Matriz extracelular

#### Producción de matriz extracelular en el riñón

La matriz extracelular forma el armazón en el que se encuentran situadas las células en el espacio. La matriz tiene múltiples componentes, que todavía se están caracterizando. En el riñón se sabe que la composición de la matriz extracelular es diferente en el glomérulo<sup>71</sup> (tabla VIII) y en el intersticio. Esto parece deberse a una estrecha regulación de la síntesis de matriz, puesto que las células mesangiales tienen capacidad para sintetizar colágeno I y III<sup>72</sup>, que no está presente en condiciones normales en el glomérulo, pero que aparece en situaciones patológicas<sup>73</sup>. Sin embargo, los factores que regulan estos procesos son, en gran medida, desconocidos. Recientemente se ha demostrado un incremento en la expresión y síntesis de diversas proteínas de matriz extracelular y de inhibidores de proteinasas (que evitarían la degradación de matriz) en modelos de nefropatías glomerulares e intersticiales<sup>26,61,63,74,75</sup>, que podría estar en relación con el acúmulo

de matriz extracelular que caracteriza a las nefropatías crónicas.

#### Acciones de la matriz extracelular: la fibronectina como ejemplo

Hoy se sabe que las proteínas de matriz extracelular o sus fragmentos modifican el comportamiento de las células que les rodean<sup>7,76</sup>, a través de la unión de receptores celulares específicos, que activan señales de transducción intracelulares. Los mejores conocidos entre estos receptores son las integrinas<sup>77</sup>. Así, se ha descrito que el colágeno puede regular la síntesis de citoquinas por células mononucleares<sup>78</sup>, que la laminina influye la proliferación, migración y polarización celular<sup>76,79</sup> y que los proteoglicanos modifican la actividad de proteasas y citoquinas<sup>80,81</sup>. Concretamente, el proteoglicano decorina se une al TGF- $\beta$  y neutraliza su actividad<sup>81</sup>. Sin embargo, la proteína mejor estudiada ha sido la fibronectina, quizá debido a su gran disponibilidad, al estar también presente en el plasma<sup>82</sup>.

La fibronectina es una glicoproteína de 440 kD formada por dos cadenas polipeptídicas, que tiene dos peculiaridades. La primera es que, a pesar de estar codificada en un gen único, por *splicing* alternativo se originan más de 20 isoformas, según contengan o no, total o parcialmente, los segmentos A, B y V<sup>82</sup>. La distribución de las distintas isoformas de fibronectina es específica de cada tejido y varía a lo largo del desarrollo<sup>83</sup>. El hecho de que las isoformas que predominan en el feto estén también presentes en tejidos inflamados o dañados sugiere que tienen un papel en la regulación de la diferenciación y proliferación celular<sup>84</sup>. El segundo aspecto a destacar de la fibronectina es que está compuesta por dominios con capacidad de unión a distintos receptores celulares y a otras moléculas. Durante la inflamación, los leucocitos liberan enzimas proteolíticas que hidrolizan la fibronectina. Así, se ha demostrado que los niveles de fragmentos de fibronectina están elevados en el plasma de pacientes con quemaduras y en la glomerulonefritis por anticuerpos anti-MBG<sup>85,86</sup>. Los fragmentos conservan la capacidad para unirse a sus ligandos, compiten por éstos con la fibronectina intacta y en estudios *in vitro* tienen propiedades quimiotácticas y, en general, proinflamatorias<sup>87</sup>. La fibronectina, directamente o a través de sus fragmentos, es capaz de modular el comportamiento de células parenquimatosas, neutrófilos, monocitos/macrófagos, linfocitos y fibroblastos<sup>87-98</sup> (tabla IX). Sin embargo, aunque hay un consenso general de que la fibronectina tiene esta capacidad, sus efectos concretos varían con las condiciones experimentales. La concentración de fibronectina, el hecho de que esté en forma soluble o fija en la matriz extracelular, la existencia de diversas isoformas de fibronectina (algunas con acciones proinflamatorias, como el factor aglutinante de macrófagos secretado por los linfocitos T<sup>99</sup>) y la presencia de fragmentos pueden modificar los efectos de la fibronectina.

**Tabla VIII.** Proteínas de matriz extracelular glomerulares

Colágeno tipo IV.	Laminina.
Proteoglicanos.	Nidógeno/entactina.
Osteonectina/SPARC/BM40.	Amiloide P.
Acetilcolinesterasa.	Trombospondina.
Fibronectina.	Vitronectina.
Factor de Von Willebrand.	

**Tabla IX.** Regulación de la respuesta inflamatoria por la fibronectina**Favorece la fagocitosis***Acciones sobre los neutrófilos:*

- Reclutamiento.
- Liberación de gránulos.
- Radicales de oxígeno.
- Citotoxicidad.
- Expresión de receptores de TNF.

*Acciones sobre monocitos/macrófagos:*

- Reclutamiento.
- Expresión y secreción de citoquinas y sus receptores.

*Acciones sobre los linfocitos:*

- Reclutamiento.
- Activación.
- Citotoxicidad.

**Unión a inmunoglobulinas e inmunocomplejos  
Reclutamiento y activación de fibroblastos**

En cuanto a la relación de la fibronectina con las glomerulonefritis (tabla X), se sabe que tanto las formas intactas como sus fragmentos se producen en exceso y se acumulan en glomérulos inflamados y en las zonas de esclerosis<sup>26, 86, 100</sup> y que en el glomérulo existen receptores para fibronectina, cuya expresión está alterada en las glomerulonefritis<sup>101, 102</sup>. Recientemente hemos demostrado que el tratamiento con fibronectina exógena modifica la síntesis de mediadores de la inflamación por leucocitos de sangre periférica y mejora la evolución de la glomerulonefritis proliferativa por inmunocomplejos, disminuyendo la expresión y/o síntesis glomerular de PAF, TNF y fibronectina<sup>26</sup>.

**Un modelo de glomerulosclerosis por inmunocomplejos**

Existen varios modelos experimentales de glomerulosclerosis, como la que ocurre espontáneamente en ratas viejas, en las ratas con obesidad genética Zucker, en ani-

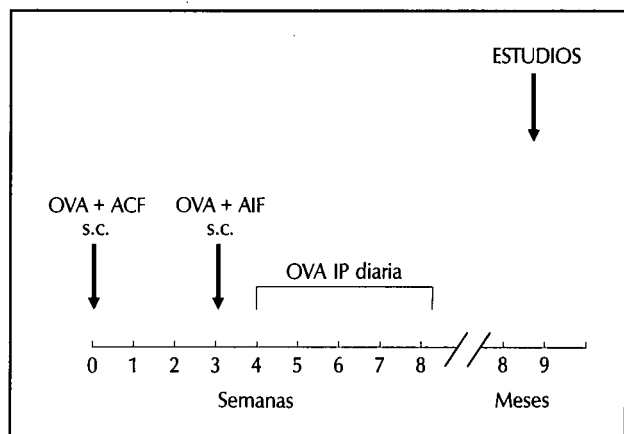
**Tabla X.** Datos que sugieren la participación de la fibronectina en las glomerulonefritis

1. Aumento de la síntesis de fibronectina en glomerulonefritis.
2. Presencia de fragmentos de fibronectina en glomérulos inflamados.
3. Las células intrínsecas glomerulares y los leucocitos infiltrantes poseen receptores para fibronectina.
4. Inmunocomplejos circulantes con fibronectina (nefropatía IgA).
5. Los inmunocomplejos con afinidad por la fibronectina se depositan en el mesangio.
6. Los anticuerpos antiintegrina producen glomerulonefritis.
7. Los anticuerpos antifibronectina ocasionan depósitos inmunes mesangiales.
8. La fibronectina se acumula en las zonas de esclerosis glomerular y fibrosis intersticial.
9. El tratamiento con fibronectina mejora la evolución de la glomerulonefritis proliferativa por inmunocomplejos.

males con masa renal reducida y tras la inyección de tóxicos como adriamicina, puomicina y estreptoizotocina. Sin embargo, a pesar de que numerosas glomerulonefritis tienen una base inmunológica, hasta ahora la información sobre el desarrollo de glomerulosclerosis en animales con nefritis mediada por inmunocomplejos es muy escasa<sup>103</sup>. Por ello decidimos estudiar la evolución a largo plazo de la glomerulonefritis proliferativa por inmunocomplejos inducida en ratas hiperinmunizadas con ovalbúmina. Nuestro grupo ha trabajado con este modelo desde hace diez años<sup>104</sup>, investigando los mediadores celulares y moleculares de la fase aguda del daño renal<sup>26</sup>.

La nefritis proliferativa por inmunocomplejos fue inducida en ratas Wistar hembras de 200-220 g previamente inmunizadas con ovalbúmina (Calbiochem, La Jolla, CA, EE. UU) mediante la inyección intraperitoneal diaria de dicha proteína, según un protocolo descrito previamente<sup>104</sup>. Al cabo de cinco semanas, cuando habían desarrollado una proteinuria media de  $234 \pm 63$  mg/día (rango, 1-502; normal, <10 mg/día), interrumpimos la administración de ovalbúmina y seguimos a los animales durante nueve meses sin intervención alguna (fig. 1). Durante este tiempo se midió periódicamente la proteinuria por el método del sulfosalicílico. A los nueve meses, los animales fueron sacrificados, se extrajeron muestras de sangre y los riñones se emplearon para estudios histológicos (microscopía óptica e inmunohistoquímica).

En estudios previos habíamos observado que en este modelo la aparición de la proteinuria coincide con el depósito de inmunocomplejos en los espacios subendotelial y subepitelial. Si la ovalbúmina continúa administrándose, la magnitud de los depósitos aumenta progresivamente, al igual que la infiltración glomerular por linfocitos



**Fig. 1.—Glomerulonefritis proliferativa por inmunocomplejos. Protocolo experimental.** Un grupo de 10 ratas inmunizadas con ovalbúmina fueron tratadas con ovalbúmina 10 mg/d intraperitoneal durante cinco semanas. Las inyecciones de ovalbúmina se interrumpieron cuando la proteinuria era 1-501 mg/veinticuatro horas y estudiamos la evolución espontánea de la enfermedad durante nueve meses. ACF: adyuvante completo de Freund; AIF: adyuvante incompleto de Freund.

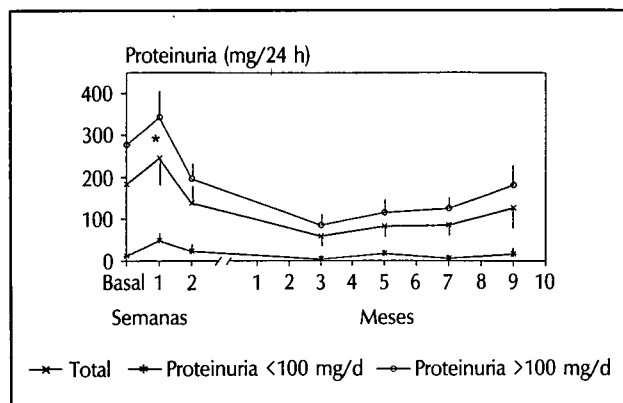


Fig. 2.—Evolución de la proteinuria en la glomerulonefritis proliferativa por inmunocomplejos después de cesar la administración del antígeno (basal). La proteinuria aumentó en la primera semana después de suspender el antígeno (\*  $p < 0,05$ ), disminuyó posteriormente y tendió a aumentar en los últimos meses de seguimiento, especialmente en las ratas con mayor proteinuria (las que presentaban  $>100$  mg/24 h al cabo de una semana). Nótese que los datos corresponden a los seis animales con un seguimiento de nueve meses. Asimismo, nótese que la escala de tiempo está dividida en semanas (izquierda) y meses (derecha).

T y monocitos/macrófagos, y la proteinuria, y la función renal cae rápidamente y los animales fallecen en dos-tres semanas.

#### Evolución clínica y bioquímica

Cuatro ratas con proteinuria intensa fallecieron en las primeras semanas de seguimiento, a pesar de interrumpir la ovalbúmina. En el resto de los animales, la proteinuria siguió elevándose en la semana siguiente al cese del antígeno ( $293 \pm 66$  vs.  $234 \pm 63$  mg/veinticuatro horas basal,  $p < 0,01$ ,  $n = 8$ ) (fig. 2) y persistió en un rango patológico en la mayor parte de los animales, con tendencia a elevarse en los últimos meses ( $151 \pm 56$  a los nueve meses, vs.  $69 \pm 29$  mg/día a los tres meses, NS) (fig. 2). Existió una relación entre la proteinuria al final del seguimiento y la proteinuria inicial, especialmente con la proteinuria máxima, que se alcanzó después de la primera semana de no administrar ovalbúmina ( $r = 0,87$ ,  $p = 0,022$ ). La proteinu-

ria de los controles sanos fue menor de 10 mg/veinticuatro horas durante los nueve meses del estudio.

Los animales con nefritis crónica desarrollaron insuficiencia renal moderada con respecto a ratas sanas de la misma edad (aclaramiento de creatinina,  $292 \pm 22$  vs.  $349 \pm 28$   $\mu\text{l}/\text{min}/100$  g;  $p < 0,05$ ), y algunos animales desarrollaron hipertensión arterial. Las ratas con mayor proteinuria tuvieron hipoalbuminemia ( $3,4 \pm 0,4$  vs.  $4,4 \pm 0,2$  g/dl,  $p < 0,001$ ) e hipercolesterolemia ( $178 \pm 48$  vs.  $92 \pm 24$  mg/dl,  $p < 0,05$ ).

#### Histología

En los animales con nefritis seguidos durante nueve meses existieron lesiones de glomerulosclerosis. Los controles sanos de la misma edad también tuvieron un cierto grado de esclerosis glomerular, pero las lesiones más intensas, así como el mayor daño tubulointersticial, correspondieron a los animales con nefritis cuya proteinuria había aumentado  $>100$  mg/veinticuatro horas en los últimos meses de seguimiento (tabla XI). Por otra parte, se objetivó la persistencia de depósitos mesangiales y en la pared capilar, aunque de tamaño muy reducido, en las ratas con nefritis y proteinuria  $>30$  mg/veinticuatro horas. El número de leucocitos glomerulares, elevado en la fase aguda de la glomerulonefritis, era normal, y en el intersticio estaban aumentados los monocitos/macrófagos ( $19,5 \pm 4,55$  vs.  $7,8 \pm 2,4$  células ED1 positivas/ $\text{mm}^2$  de intersticio en controles,  $p < 0,05$ ), pero no los linfocitos T ( $20 \pm 7,5$  vs.  $24 \pm 8,4$  células W3/13 positivas/ $\text{mm}^2$ , NS).

#### La glomerulonefritis proliferativa como modelo de esclerosis renal

Nuestro trabajo ha establecido la historia natural de la glomerulonefritis proliferativa cuando cesa la agresión inmune. Hemos observado cómo la proteinuria aumenta durante la primera semana y luego persiste en rango patológico durante meses y se asocia a manifestaciones bioquímicas de síndrome nefrótico. Además, algunos animales desarrollan insuficiencia renal, hipertensión arterial y esclerosis glomerular. Asimismo hemos comprobado que la asociación de síndrome nefrótico con la existencia de

Tabla XI. Datos funcionales y morfológicos de ratas con nefritis crónica por inmunocomplejos (nueve meses de evolución)

Grupo	Proteinuria	$\Delta P$	Glomérulo			Intersticio Células	Túbulos Atrofia
			Células	Esclerosis	Depósitos		
Sanas .....	10	$<5$	2	1,5	No	1,5	No
	$<30$	$<20$	2,5	1	No	2	No
Nefritis .....	30-200	$<20$	2	1	Sí	2	No
	$>200$	$>100$	2,5	3	Sí	3	2

Proteinuria: proteinuria al cabo de nueve meses de seguimiento.  $\Delta P$ : incremento de la proteinuria en los últimos seis meses. La  $\Delta P$  y la proteinuria están expresadas en mg/d. Los parámetros histológicos están valorados en una escala semicuantitativa 0-3, donde 0 es normal.

depósitos glomerulares puede ser el resultado de una inflamación aguda pasada y relativamente «inactiva» en la actualidad. Este modelo podría servir, pues, para estudiar por qué algunos pacientes con glomerulonefritis de mecanismo inmune no responden a los potentes tratamientos inmunosupresores y antiinflamatorios disponibles. Además, al haber delimitado previamente algunos de los factores que participan en la fase inicial del daño glomerular (linfocitos T, macrófagos, PAF, TNF, fibronectina), hemos establecido un hilo conductor para el estudio de los mecanismos de progresión del daño renal. En efecto, como ya hemos comentado, la fibronectina forma parte de las lesiones de esclerosis glomerular e intersticial en nefropatías humanas y experimentales<sup>100,105</sup>, el TNF participa en la fibrosis pulmonar por bleomicina<sup>28</sup> y la fibronectina puede activar los linfocitos T y monocitos<sup>95-97</sup> y así contribuir al mantenimiento y progresión de la insuficiencia renal.

#### La definición de los factores que participan en la fibrosis renal como base para el desarrollo de estrategias terapéuticas específicas

Hasta hace poco tiempo, las principales drogas conocidas que reducen la síntesis de citoquinas eran los corticosteroides y la ciclosporina<sup>106,107</sup>. Recientemente se ha demostrado que otros fármacos, como la pentoxifilina y la talidomina<sup>107,108</sup>, disminuyen la secreción de TNF. De hecho, la talidomina ha sido empleada con éxito para tratar la enfermedad injerto contra huésped en el ser humano<sup>109</sup>. Es más, en los últimos años se ha demostrado que el contenido proteico de la dieta modifica la expresión de genes y la síntesis de diversas proteínas, como albúmina y renina<sup>110</sup>. Además, en distintos modelos experimentales de daño renal, la dieta hipoproteica reduce la expresión y/o síntesis renal de las citoquinas TNF, TGF- $\beta$  e IGF-1<sup>111-113</sup>, abriendo la posibilidad de que al menos parte de su efecto beneficioso se deba a su acción sobre la producción de citoquinas. Los ácidos grasos omega-3, que pueden tener un efecto favorable sobre la evolución de la aterosclerosis, un proceso que recuerda a la glomerulosclerosis, también influyen sobre la síntesis de citoquinas<sup>114</sup>. De especial interés para el nefrólogo es el hecho de que las lipoproteínas LDL estimulan la síntesis de fibronectina y otras proteínas de matriz extracelular por células mesangiales<sup>115</sup> y los fármacos hipolipemiantes disminuyeron la expresión de genes de estas proteínas en el intersticio de ratas con síndrome nefrótico, quizá a través de una reducción de la expresión de TGF- $\beta$ <sup>116</sup>. Finalmente, existen estrategias anticitoquinas específicas que ayudarán a comprender mejor el papel de éstas en la inflamación y fibrosis renal y podrían tener un valor terapéutico en aquellas patologías mediadas por citoquinas<sup>117</sup> (tabla XII). Entre éstas están los antagonistas de citoquinas, como los receptores solubles de TNF y el antagonista del receptor de IL-1 (IL-1ra) y los anticuerpos anticitoquinas<sup>117</sup>.

**Tabla XII.** Estrategias específicas anticitoquinas en glomerulonefritis

*Han demostrado su utilidad en nefropatías humanas:*

- Ninguna.

*Han demostrado un efecto beneficioso en nefropatías experimentales: anticuerpos anticitoquinas:*

- Anti-TNF en nefritis nefrotóxica.
- Anti-IL-1 en nefrosis por adriamicina.
- Anti-TGF $\beta$  y anti-PDGF en nefritis proliferativa por anticuerpos antitímocito.

*Pueden ser útiles en el futuro:*

- Antagonistas de citoquinas: receptores solubles de TNF, antagonista del receptor de la IL-1\*.
- Matriz extracelular: decorina.

\* Han sido empleados con éxito en otras enfermedades inflamatorias.

Estos tratamientos se han empleado ya con éxito en modelos experimentales.

El papel de la matriz extracelular en el tratamiento de nefropatías apenas ha sido estudiado. Nuestro grupo ha demostrado un efecto beneficioso de la fibronectina parenteral sobre la evolución de la nefropatía proliferativa por inmunocomplejos<sup>26,118</sup>. Aunque el mecanismo de este efecto no está claro, podría estar relacionado con la capacidad de la fibronectina para modificar el comportamiento y la síntesis de citoquinas y otros mediadores de la inflamación por células renales y leucocitos. Recientemente, Border y cols. han sugerido, basándose en estudios *in vitro*, que la decorina, que inhibe la acción del TGF- $\beta$ , podría tener un valor terapéutico<sup>4</sup>, aunque este extremo no ha sido confirmado todavía.

#### Conclusión

En conclusión, la expresión génica y la síntesis local de citoquinas y de matriz extracelular están incrementadas en diversas glomerulonefritis humanas y experimentales y en modelos de esclerosis renal. Los efectos de las citoquinas y de la matriz extracelular sobre las células glomerulares son numerosos, complejos y mal conocidos (fig. 3). Diversas citoquinas modulan la proliferación y la producción de matriz extracelular por células glomerulares y fibroblastos intersticiales<sup>119</sup>. A su vez, la matriz extracelular modula los efectos de las citoquinas sobre las células. Experimentos animales e *in vitro* sugieren que alteraciones de los mecanismos de regulación específicos de las citoquinas y las proteínas de matriz podrían tener un papel en el desarrollo de las enfermedades renales crónicas, independientemente de la causa, contribuyendo a la proliferación celular y al acúmulo de matriz extracelular que caracterizan la esclerosis renal. Del mejor conocimiento de estos factores podrían surgir nuevas estrategias terapéuticas, más específicas y efectivas que las actualmente disponibles.



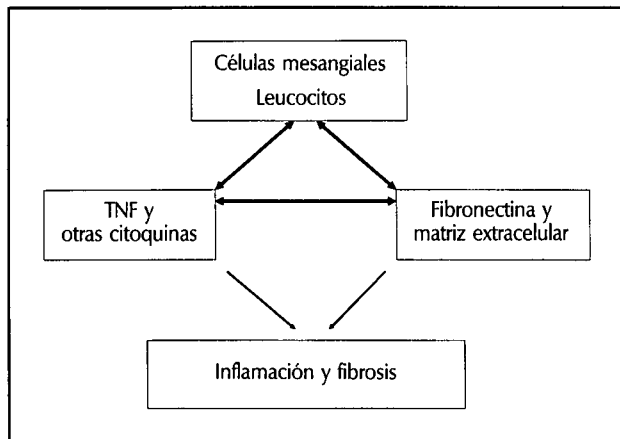


Fig. 3.—Participación de citoquinas y matriz extracelular en la patogenia del daño glomerular. En el glomérulo inflamado, tanto las células glomerulares intrínsecas como los leucocitos tienen la capacidad de secretar citoquinas, como el TNF. Estas actúan de un modo autocrino o paracrino sobre las células glomerulares y tienen diversas acciones biológicas que incluyen quimiotaxis, citotoxicidad, mitogénesis y favorecen la secreción de mediadores de la inflamación y componentes de la matriz extracelular. El acúmulo de matriz extracelular es una de las características de la esclerosis glomerular. Las proteínas de la matriz extracelular modulan el comportamiento de las células adyacentes y la acción de los citoquinas. En algunos casos, como la fibronectina, los propios leucocitos pueden secretar formas proinflamatorias de proteínas de matriz.

#### Agradecimientos

Los estudios de los autores han sido financiados por el Ministerio de Educación y Ciencia (MEC) (PM 89/0065), Fondo de Investigaciones Sanitarias de la Seguridad Social (91/0162, 92/972), Comunidad Autónoma de Madrid (C 079/91) y Fundación Iñigo Alvarez de Toledo.

#### Bibliografía

1. Yee J, Kuncio GS y Neilson EG: Tubulointerstitial injury following glomerulonephritis. *Semin Nephrol*, 11:361-366, 1991.
2. Klahr S, Schreiner G e Ichikawa I: The progression of renal disease. *N Engl J Med*, 318:1657-1666, 1988.
3. Atkins RC: Pathogenesis of glomerulonephritis-1990. En Hatano M (ed.). *Nephrology*. Springer-Verlag, Tokyo, pp. 4-17, 1991.
4. Border WA, Noble NA, Yamamoto T, Tomooka S y Kagami S: Antagonists of transforming growth factor- $\beta$ : a novel approach to treatment of glomerulosclerosis. *Kidney Int*, 41:566-570, 1992.
5. Johnson R, Iida H, Yoshimura A, Floege J y Bowen-Pope DF: Platelet-derived growth factor: a potentially important cytokine in glomerular disease. *Kidney Int*, 41:590-594, 1992.
6. Kuncio GS, Neilspron EG y Haverty T: Mechanisms of tubulointerstitial fibrosis. *Kidney Int*, 39:550-556, 1991.
7. Nathan C y Sporn MB: Cytokines in contest. *J Cell Biol*, 113:981-986, 1991.
8. Schreiner GF y Kohan DE: Regulation of renal transport processes and hemodynamic by macrophages and lymphocytes. *Am J Physiol*, 258:F761-F767, 1990.
9. Baud L, Oudinet JP, Bennis M y cols.: Production of tumor necrosis factor by rat mesangial cells in response to bacterial lipopolysaccharide. *Kidney Int*, 39:822-830, 1989.
10. Gómez-Chiari M, Lerma JL, González A, Hemando L y Egido J: Involvement of tumor necrosis factor in the pathogenesis of experimental nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol*, 1:522, 1990.
11. Jevnikar AM, Brennan DC, Singer GG y cols.: Stimulated kidney tubular epithelial cells express membrane associated and secrete TNF $\alpha$ . *Kidney Int*, 40:203-211, 1991.
12. Sedor JR, Nakazato Y y Konieczkowski M: Interleukin-1 and the mesangial cell. *Kidney Int*, 41:595-599, 1992.
13. Radeke HH, Kelting C, Topley N, Emmendoerffer A, Schindler R, Subkowski T y Resch K: Monokine profile of cultured human, intrinsic, mesangial cells. *J Am Soc Nephrol*, 2:558A, 1991.
14. Kishimoto T: The biology of interleukin-6. *Blood*, 74:1-10, 1989.
15. Ruef C, Budde K, Lacy J, Northemann W, Baumann M, Sterzel RB y Coleman DL: Interleukin-6 is an autocrine growth factor for mesangial cells. *Kidney Int*, 38:249-257, 1990.
16. Shultz PJ, DiCorleto PE, Silver BJ y Abboud HE: Mesangial cells express PDGF mRNAs and proliferate in response to PDGF. *Am J Physiol*, 255:F674-F684, 1988.
17. Striker LJ: Effect of insulin-like growth factor-I on glomerular cells in vitro. En Hatano M (ed.). *Nephrology*. Springer-Verlag, Tokyo, pp. 915-922, 1991.
18. MacKay K, Kondajah P, Danielpour D, Austin HA y Brown PD: Expression of transforming growth factor- $\beta$ 1 and  $\beta$ 2 in rat glomeruli. *Kidney Int*, 38:1095-1100, 1990.
19. Gómez-Chiari M, Ortiz A, Serón D, González E y Egido J: The intercrine superfamily and renal disease. *Kidney Int*, 1992 (en prensa).
20. Ortiz A, Gómez-Chiari M, Bustos C, Alonso J, Gómez-Guerrero C, González E y Egido J: The potential role of inflammatory mediators and fibrogenic cytokines in the pathogenesis of glomerular diseases. *J Lipid Med*, 1992 (en prensa).
21. Vilecek J y Lee TH: Tumor necrosis factor. News insights into the molecular mechanisms of its multiple actions. *J Biol Chem*, 266:7313-7316, 1991.
22. Dinarello CA: Interleukin-1 and its biologically related cytokines. *Adv Immunol*, 44:153-205, 1989.
23. Egido J, Gómez-Chiari M, Ortiz A, Alonso J, Gómez-Guerrero C, Gómez-Garré D, López-Armada MJ, Plaza JJ y González E: The role of tumor necrosis factor alfa in the pathogenesis of glomerular diseases. *Kidney Int*, 1992 (en prensa).
24. Gresser J, Woodrow D, Moss J, Maury C, Tavemier J y Fiers W: Toxic effects of recombinant tumor necrosis factor in suckling mice. Comparisons with interferon  $\alpha$ /beta. *Am J Pathol*, 128:13-18, 1987.
25. Bertani T, Abbate M, Zojá C, Coma D, Perico N, Ghezzi P y Remuzzi G: Tumor necrosis factor induces glomerular damage in the rabbit. *Am J Pathol*, 134:419-430, 1989.
26. Ortiz A, Gómez-Chiari M, Quirós J, López-Armada MJ, Alonso J, González E y Egido J: Exogenous fibronectin modifies tumor necrosis factor and fibronectin gene expression and catabolism of immune complexes in proliferative glomerulonephritis (abstract). *Nephrol Dial Transplant*, 1992 (en prensa).
27. Alonso J, Gómez-Chiari M, González E y Egido J: Different expression of fibronectin mRNA induced by cytokines and EIIIB fibronectin pattern in renal cells in culture. 5.º International Congress on Cell Biology, Madrid, 1992.
28. Piguet PF, Collart MA, Grau GE, Kapanci Y y Vassalli P: Tumor necrosis factor/cacectin plays a key role in bleomycin-induced pneumopathy and fibrosis. *J Exp Med*, 170:655-663, 1989.
29. Tomosugi NI, Cashman SJ, Hay H, Pusey CD, Evans DJ, Shaw A y Rees AJ: Modulation of antibody-mediated glomerular injury in vivo by bacterial lipopolysaccharide, tumor necrosis factor and IL-1. *J Immunol*, 142:3470-3490, 1989.
30. Hruby ZW, Shiota K, Jothy S y Lowry RP: Antiserum against tumor necrosis factor alpha and protease inhibitor reduce immune glomerular injury. *Kidney Int*, 40:43-51, 1991.
31. Camussi G, Tetta C, Bussolino F, Turello E, Brentjens J, Montrucchio G y Anres G: Effect of leukocyte stimulation on rabbit immune complex glomerulonephritis. *Kidney Int*, 38:1047-1055, 1990.
32. Brennan DC, Yui MA, Wuthrich RP y Kelley VE: Tumor necrosis factor and IL-1 in New Zealand black/white mice. Enhanced gene expression and acceleration of renal injury. *J Immunol*, 143: 3470-3475, 1989.

33. Jacob CO y McDevitt HO: Tumor necrosis factor-alpha in murine autoimmune lupus nephritis. *Nature*, 331:354-357, 1988.
34. Boswell JM, Yui MA, Burt DW y Kelley VE: Increased tumor necrosis factor and IL-1 gene expression in the kidneys of mice with lupus nephritis. *J Immunol*, 141:3050-3054, 1988.
35. Akamine M, Arima S, Nakayama M y Sato T: Analysis of intraglomerular IL-1 and IL-6 activities in IgA nephropathy. *J Am Soc Nephrol*, 2:587A, 1991.
36. Werber HI, Emancipator SN y Tykocinsky ML: The interleukin-1 gene is expressed by rat glomerular mesangial cells and is augmented in immune complex glomerulonephritis. *J Immunol*, 138:3207-3212, 1987.
37. Bricio R, Mampaso F y Molina A: Effect of anti-interleukin-1 administration to rats with adriamycin-induced nephrosis. *J Am Soc Nephrol*, 2:534A, 1991.
38. Matsumoto K, Dowling JP y Atkins RC: Production of interleukin-1 in glomerular cultures from patients with rapidly progressive glomerulonephritis. *Am J Nephrol*, 8:463-470, 1988.
39. Coleman DL y Ruef C: Interleukin-6: an autocrine regulator of mesangial cell growth. *Kidney Int*, 41:604-606, 1992.
40. Horikoshi S, Ray PE, Adler SH, Kopp JB, Koide H y Klotman PE: Interleukin-6 stimulates fibronectin expression in human mesangial cells. *J Am Soc Nephrol*, 2:576A, 1991.
41. Suematsu S, Matsuda T, Aozasa K, Akira S, Nakano N, Ohno S, Miyazaki JI, Yamamura KI, Hirano T y Kishimoto T: IgG1 plasmocytosis in interleukin-6 transgenic mice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 86:7547-7551, 1989.
42. Horii Y, Muraguchi A, Iwano M, Matsuda T, Irayama I, Yamada H, Fujii Y, Dohi K, Ishakawa H, Ohmoto Y, Yoshizaki K, Hirano T y Kishimoto T: Involvement of IL-6 in mesangial proliferative glomerulonephritis. *J Immunol*, 143:3949-3995, 1989.
43. Fukatsu A, Matsuo S, Tamai H, Sakamoto N, Matsuda T e Irano T: Distribution of interleukin-6 in normal and diseased human kidney. *Lab Invest*, 65:61-66, 1991.
44. Dohi K, Iwano M, Muraguchi A, Horii Y, Irayama I, Ogawa S, Shiiki H, Hirano T, Kishimoto T e Ishakawa H: The prognostic significance of urinary interleukin-6 in IgA nephropathy. *Clin Nephrol*, 35:1-5, 1991.
45. Iwano M, Hirata E, Matsumura N, Kato K, Horii Y, Hirayama T, Ogawa S, Shiiki H, Dohi K e Ishikawa H: Urinary IL-6 in patients with active systemic lupus erythematosus. *J Am Soc Nephrol*, 2:269A, 1991.
46. Ross R: Platelet-derived growth factor. *Lancet*, i:1179-1182, 1989.
47. Abboud HE: Platelet-derived growth factor and mesangial cells. *Kidney Int*, 41:581-583, 1992.
48. Gesualdo L, Pinzani M, Floriano JJ, Hassan MO, Nagy MU, Schena FP, Emancipator SN y Abboud HE: Platelet-derived growth factor expression in mesangial proliferative glomerulonephritis. *Lab Invest*, 65:160-167, 1991.
49. Iida H, Seifert R, Alpers CE, Gronwald RGC, Phillips PE, Pritzl P, Gordon K, Gow AM, Ross R, Bowen-Pope DF y Johnson RJ: Platelet-derived growth factor (PDGF) and PDGF receptor are induced in mesangial proliferative nephritis in the rat. *Proc Natl Acad Sci*, 88:6560-6564, 1991.
50. Fjellstrom B, Klareskog L, Heldin CH, Larsson E, Rönstrand L, Terracia L, Tufveson G, Wahlberg J y Rubin K: Platelet-derived growth factor receptors in the kidney; upregulated expression in inflammation. *Kidney Int*, 36:1099-1102, 1989.
51. Floege J, Burns M, Alpers C, Yoshimura A, Pritzl P, Gordon K, Seifert R, Bowen-Pope D, Couser W y Johnson R: Glomerular cell proliferation and PDGF expression precede glomerulosclerosis in the remnant kidney model. *Kidney Int*, 41:297-309, 1992.
52. Johnson RJ, Raines EW, Floege J, Yoshimura A, Pritzl P, Alpers C y Ross R: Inhibition of mesangial cell proliferation and matrix expansion in the rat by antibody to platelet-derived growth factor. *J Exp Med*, 175:1413-1416, 1992.
53. Roberts AB, Heine UI, Flanders KC y Sporn MB: TGF- $\beta$ : major role in regulation of extracellular matrix. *Ann NY Acad Sci*, 580:225-232, 1990.
54. Massague J: The TGF- $\beta$  family of growth and differentiation factors. *Cell*, 49:437-438, 1987.
55. Border AW, Okuda S, Languino LR y Ruoslahti E: Transforming growth factor- $\beta$  regulates production of proteoglycans by mesangial cells. *Kidney Int*, 37:689-695, 1990.
56. Kehrl JH: Transforming growth factor  $\beta$ : a important mediator of immunoregulation. *Int J Cell Cloning*, 9:438-450, 1991.
57. Meyers CM, Roth DA y Kelly CJ: TGF- $\beta$  functionally inhibits a renal tubular antigen-reactive cytotoxic T cell. *J Am Soc Nephrol*, 2:553, 1991.
58. MacKay K, Striker LJ, Stauffer JW, Doi T, Agodoa LY y Striker GE: Transforming growth factor- $\beta$ . Murine glomerular receptors and responses of isolated glomerular cells. *J Clin Invest*, 83:1160-1167, 1989.
59. Okuda S, Languino LR, Ruoslahti E y Border WA: Elevated expression of transforming growth factor  $\beta$  and proteoglycan production in experimental glomerulonephritis. Possible role in expansion of the mesangial extracellular matrix. *J Clin Invest*, 86:453-462, 1990.
60. Coimbra T, Wiggins R, Noh JW, Merritt S y Phan SH: Transforming growth factor- $\beta$  production in anti-glomerular basement membrane disease in the rabbit. *Am J Pathol*, 138:223-234, 1991.
61. Eddy AA, Liu E y McCulloch L: Macrophages may mediate interstitial fibrosis via transforming growth factor  $\beta$ 1 (TGF $\beta$ ) synthesis in passive Heymann nephritis. *J Am Soc Nephrol*, 2:573A, 1991.
62. Noh JW, Wiggins RC y Phan SH: Transforming growth factor  $\beta$  (TGF $\beta$ ) in urine predicts renal cortical scarring in rabbit anti-GBM disease. *J Am Soc Nephrol*, 2:556A, 1991.
63. Border AW, Okuda S, Languino LR, Sporn MB y Ruoslahti E: Suppression of experimental glomerulonephritis by antiserum against transforming growth factor  $\beta$ 1. *Nature*, 346:371-374, 1990.
64. Waterfield MD: Epidermal growth factor and related molecules. *Lancet*, i:1243-1246, 1989.
65. Harris RC: Epidermal growth factor and the kidney. En Hatano M (ed.). *Nephrology*. Springer-Verlag, Tokyo, pp. 1311-1321, 1991.
66. Lowden DA, Meerlino GT, Calvet JP, Barash BD y Gattone VH: Renal pathology in transforming growth factor-alpha (TGF- $\alpha$ ) transgenic mice. *J Am Soc Nephrol*, 2:440, 1991.
67. Badr KF, Munger KA y Miller E: Increased glomerular synthesis of a novel monocyte-derived peptide agonist, neutrophil activating factor (NAF) during late nephrotoxic serum nephritis in rats. *Kidney Int*, 37:362A, 1990.
68. Rifai A, Montinaro V, Sakai H, Yagame M, Emancipator S, Esparza A y Avenaggiato L: Phenotyping of multiple cytokine mRNA expression in renal biopsies from IgA nephropathy patients. *J Am Soc Nephrol*, 2:603, 1991.
69. Doi T, Striker LJ, Quaipe CJ, Conti FG, Palmiter RD, Behringer RR, Brinster RL y Striker GE: Progressive glomerulosclerosis develops in transgenic mice chronically expressing growth hormone and growth hormone releasing factor but not in those expressing insulin-like growth factor-I. *Am J Pathol*, 131:398-403, 1988.
70. Emancipator SN y Sedor JR: Cytokines and renal disease. En: Remick DG y Kunkel SL (eds.). *Cytokines in Health and Disease: Physiology and Pathophysiology*. New York, Marcel Dekker, pp. 467-488, 1992.
71. Weber M: Basement membrane proteins. *Kidney Int*, 41:620-628, 1992.
72. Striker LJ, Doi T, Elliot S y Striker GE: The contribution of mesangial cells to progressive glomerulosclerosis. *Semin Nephrol*, 9:318-328, 1989.
73. Downer G, Phan SH y Wiggins CG: Analysis of renal fibrosis in a rabbit model of crescentic nephritis. *J Clin Invest*, 82:998-1006, 1988.
74. Nakamura T, Ebihara I, Fukui M, Tomino Y y Koide H: Effects of methylprednisolone on glomerular and medullary mRNA levels for extracellular matrices in puromycin aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int*, 40:874-881, 1991.
75. Davies M, Martin J, Thomas GJ y Lovett DH: Proteinases and glomerular matrix turnover. *Kidney Int*, 41:671-678, 1992.
76. Von der Mark K, Von der Mark H y Goodman S: Cellular responses to extracellular matrix. *Kidney Int*, 41:632-640, 1992.
77. Ruoslahti E: Integrins. *J Clin Invest*, 87:1-5, 1991.
78. Pacifici R, Basilio C, Roman J, Zutter MM, Santoro SA y McCracken R: Collagen-induced release of interleukin-1 from human

A. ORTIZ y cols.

- blood mononuclear cells. Potentiation by fibronectin binding to the  $\alpha_5\beta_1$  integrin. *J Clin Invest*, 89:61-67, 1992.
79. Goodman SL:  $\alpha_5\beta_1$  integrin and laminin E8: an increasingly complex simple story. *Kidney Int*, 41:650-656, 1992.
  80. Pejler G, Bäckstöm G, Lindahl U, Paulsson M, Dziadek M, Fujiwara S y Timpl R: Structures and affinity for antithrombin of heparan sulfate chains derived from basement membrane proteoglycans. *J Biol Chem*, 262:5036-5043, 1987.
  81. Yamaguchi Y, Mann DM y Ruoslahti E: Negative regulation of transforming growth factor- $\beta$  by proteoglycan decorin. *Nature*, 346:281-284, 1990.
  82. Hynes RO: *Fibronectins*. New York, Springer-Verlag, 1990.
  83. Laitinen L, Vartio T y Virtanen I: Cellular fibronectins are differentially expressed in human fetal and adult kidney. *Lab Invest*, 64:492-498, 1991.
  84. Samuel JL, Barrieux A, Dufour S y cols.: Accumulation of fetal fibronectin mRNAs during the development of rat cardiac hypertrophy induced by pressure overload. *J Clin Invest*, 88:1737-1746, 1991.
  85. La Celle P, Blumenstock FA y Saba TM: Blood-borne fragments of fibronectin after thermal injury. *Blood*, 77:2037-2041, 1991.
  86. Goyal M y Wiggins R: Fibronectin mRNA and protein accumulation, distribution, and breakdown in rabbit anti-glomerular basement membrane disease. *J Am Soc Nephrol*, 1:1334-1342, 1991.
  87. Lohr KM, Kurth CA, Xie DL, Seyer JM y Homandberg GA: The amino-terminal 29- and 72-Kd fragments of fibronectin mediate selective monocyte recruitment. *Blood*, 76:2117-2124, 1990.
  88. Eierman DF, Johnson CE y Haskill JS: Human monocyte inflammatory mediator gene expression is selectively regulated by adherence substrates. *J Immunol*, 142:1970-1976, 1989.
  89. Laurent F, Benollet AM, Capo C y Bongrand P: Oxidative metabolism of polymorphonuclear leukocytes: modulation by adhesive stimuli. *J Leukoc Biol*, 49:217-226, 1991.
  90. Odekon LE, Frewin MB, Del Vecchio P, Saba TM y Gudewicz PW: Fibronectin fragments released from phorbol ester-stimulated pulmonary artery endothelial cell monolayers promote neutrophil chemotaxis. *Immunology*, 74:114-120, 1989.
  91. Wachtfogel YT, Abrams W, Kucich U, Weimbaum G, Schapira M y Colman RW: Fibronectin degradation products containing the cytoadhesive tetrapeptide stimulate human neutrophil degranulation. *J Clin Invest*, 81:1310-1316, 1988.
  92. Laurent F, Benollet AM, Capo C y Bongrand P: Oxidative metabolism of polymorphonuclear leukocytes: modulation by adhesive stimuli. *J Leukoc Biol*, 49:217-226, 1991.
  93. Thorens B, Mermod JJ y Vasali P: Phagocytosis and inflammatory stimuli induce GM-CSF mRNA in macrophages through posttranscriptional regulation. *Cell*, 48:671-679, 1987.
  94. Ager A y Humphries MJ: Use of synthetic peptides to probe lymphocyte-high endothelial cell interactions. Lymphocytes recognize a ligand on the endothelial surface which contains the CS1 adhesion motif. *Int Immunol*, 2:921-928, 1990.
  95. Nojima Y, Humphries MJ y Mould AP: VLA-4 mediates CD2-dependent CD4<sup>+</sup> T cell activation via the CS1 alternatively spliced domain of fibronectin. *J Exp Med*, 172:1185-1192, 1990.
  96. Yamada A, Nikaido T, Nojima Y, Schlossman SF y Morimoto C: Activation of human CD4 T lymphocytes. Interaction of fibronectin with VLA-5 receptor on CD4 cells induces the AP-1 transcription factor. *J Immunol*, 146:53-56, 1991.
  97. Takahashi K, Nakamura T, Adachi H, Yagita H y Okumura K: Antigen-independent T cell activation mediated by a very late activation antigen-like extracellular matrix receptor. *Eur J Immunol*, 21:1559-1562, 1991.
  98. Fukai F, Suzuki H, Suzuki K, Tsugita A y Katayama T: Rat plasma fibronectin contains two distinct chemotactic domains for fibroblastic cells. *J Biol Chem*, 266:8807-8813, 1991.
  99. Godfrey HP, Canfield LS, Angadi CV, Zagachin LM, Kielpinski GG y Colvin RB: Characterization of lymphokine fibronectin from guinea pig lymphoid cell culture supernatants. *Immunobiology*, 180:109-123, 1990.
  100. Bergijk EC, Baelde JJ, Prins F, De Heer E, Hoedemaeker PJ y Brujin JA: An important role for fibronectin in experimental glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol*, 2:571, 1991.
  101. Cosio FG, Sedmak DD y Nahman NS: Cellular receptors for matrix proteins in normal human mesangial kidneys and human mesangial cells. *Kidney Int*, 38:886-895, 1990.
  102. Waldherr R, Cuzic S y Noronha IL: VLA  $\alpha_1$ - $\alpha_6$  and  $\alpha$ 5 integrins in glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol*, 2:586, 1991.
  103. Hogendoorn PCW, Brujin JA, Gelok EWA, Van den Broek LJC y Fleuren GJ: Development of progressive glomerulosclerosis in experimental chronic serum sickness. *Nephrol Dial Transplant*, 5:100-109, 1990.
  104. Sánchez Crespo M, Alonso F, Barat A y Egido J: Rat serum sickness: possible role of inflammatory mediators allowing deposition of immune complexes in the glomerular basement membrane. *Clin Exp Immunol*, 49:631-638, 1982.
  105. Funabiki K, Horikoshi S, Tomino Y, Nagai Y y Koide H: Immunohistochemical analysis of extracellular components in the glomerular sclerosis of patients with glomerulonephritis. *Clin Nephrol*, 34:239-246, 1990.
  106. Nguyen DT, Eskanadari MK, Deforge LE, Raiford CL, Strieter RM, Kunkel SL y Remick D: Cyclosporin A modulation of tumor necrosis factor gene expression and effects in vitro and in vivo. *J Immunol*, 144:3822-3828, 1990.
  107. Han J, Thompson P y Beutler: Dexamethasone and pentoxifylline inhibit endotoxin-induced cachectin/tumor necrosis factor synthesis at separate points in the signaling pathway. *J Exp Med*, 172:393-394, 1990.
  108. Sampaio EP, Sarno Euzenir N, Galilly R, Cohn ZA y Kaplan G: Thalidomide selectively inhibits tumor necrosis factor production by stimulated human monocytes. *J Exp Med*, 173:699-703, 1991.
  109. Vogelsang GB: Thalidomide for the treatment of chronic graft-versus-host disease. *New Engl J Med*, 326:1055-1058, 1992.
  110. Rosenberg ME, Chmieliewski ED y Hostetter TH: Effect of dietary protein on rat renin and angiotensinogen gene expression. *J Clin Invest*, 85:1144-1149, 1990.
  111. Gómez-Chiarri M, Ortiz A, Lerma JL, González E y Egido J: Low protein diet modifies proteinuria and glomerular production of inflammatory mediators in an experimental model of nephrosis. *J Am Soc Nephrol*, 2:542, 1991.
  112. Okuda S, Nakamura T, Yamamoto T, Ruoslahti E y Border WA: Dietary protein restriction rapidly reduces transforming growth factor  $\beta$ 1 expression in experimental glomerulonephritis. *Proc Natl Acad Sci*, 88:9765-9769, 1991.
  113. El Nahas AM, Le Carpentier JE, Basset AH y Hill DJ: Dietary protein and insulin-like growth factor-I content following unilateral nephrectomy. *Kidney Int*, 36 (suppl. 27):S15-S19, 1988.
  114. Endres S, Ghorbani R, Kelley VE, Georgilis K, Lonemann G, Van der Meer JWM, Cannon JG, Rogers TS, Klempner MS, Weber PC, Schefer EJ, Wolf SM y Dinarello CA: The effect of dietary supplementation with n-3 polyunsaturated fatty acids on the synthesis of interleukin-1 and tumor necrosis factor by mononuclear cells. *N Engl J Med*, 320:265-271, 1989.
  115. Rovin BH y Tan LC: Low density lipoprotein stimulates production of fibronectin by human mesangial cells in culture. *J Am Soc Nephrol*, 2:581, 1991.
  116. Eddy AA, Wong MG, Buch S y Jones CL: Lipid-lowering drugs in experimental nephrosis reduce mRNA levels for extracellular matrix genes and the inhibitor of metalloproteinases. *J Am Soc Nephrol*, 2:573, 1991.
  117. Dinarello C: Anti-cytokine strategies. *Eur Cytokine Netw*, 3:7-17, 1992.
  118. Quirós J, González Cabrero J, Ejido J, Herrero Beaumont G y Martínez Montero JC: Beneficial effect of fibronectin administration on chronic nephritis in rats. *Arthritis Rheum*, 33:685-692, 1990.
  119. Kovacs EJ: Fibrogenic cytokines: the role of immune mediators in the development of scar tissue. *Immunol Today*, 12:17-23, 1991.