

## FORMACION CONTINUADA

# *Bases moleculares del tratamiento de las nefropatías glomerulares*

**A. Ortiz y J. Egido**

Servicio de Nefrología. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.

El glomérulo es un vaso especializado con dos componentes fundamentales: células y matriz extracelular. Durante el daño glomerular se activan procesos de regulación del número y fenotipo celular y del depósito de matriz extracelular. Como consecuencia de estos procesos, la morfología de las enfermedades glomerulares es muy dispar y oscila desde la normalidad óptica del síndrome nefrótico de cambios mínimos al exceso de células de la glomerulonefritis postinfecciosa y a la práctica sustitución del ovillo glomerular por matriz extracelular acelular en los estadios avanzados de obsolescencia glomerular.

A pesar de la heterogeneidad etiológica y morfológica, los factores que controlan la celularidad y el depósito de matriz extracelular, denominados en conjunto mediadores de la inflamación, son comunes a muchas enfermedades glomerulares, y, en general, a los procesos de inflamación y fibrosis de otros órganos. La contribución relativa de cada mediador de la inflamación varía con el modelo experimental estudiado y con el estadio de la lesión, por lo que es difícil extrapolar su significado en patología humana. De hecho, aunque la lista de maniobras terapéuticas destinadas a antagonizar mediadores de la inflamación específicos que han resultado útiles en modelos experimentales es larga, casi ninguna de ellas ha pasado a la práctica clínica habitual todavía.

Las técnicas de biología molecular han contribuido al conocimiento de la patogenia de las nefropatías glomerulares y probablemente contribuirán a su terapéutica a medio plazo. Estas técnicas han permitido estudiar la regulación génica de la produc-

ción de mediadores de la inflamación, obtener proteínas recombinantes para estudios funcionales y terapéuticos, producir anticuerpos específicos, desarrollar nuevos modelos experimentales (tabla I) (revisado en 1) y ensayar en modelos animales nuevas opciones terapéuticas como oligonucleótidos antisentido y transferencia de genes a células glomerulares.

Vamos a revisar las etapas del daño glomerular, los mecanismos básicos de lesión que determinan los cambios observados durante el año glomerular y los mediadores de la inflamación que los modulan. Terminaremos con un resumen de cómo el mejor conocimiento de la patogenia influye en nuestro arsenal terapéutico en el momento actual y cómo podría influir en el futuro.

### ETAPAS DEL DAÑO GLOMERULAR

Las múltiples causas de daño renal comparten elementos comunes en la respuesta glomerular a la agresión. En el desarrollo del daño glomerular distinguimos varias etapas. Por razones docentes vamos a exponerlas por separado, aunque se solapan en el tiempo.

### Desencadenamiento

Los factores que desencadenan nefropatías glomerulares se pueden clasificar en grandes grupos (tabla II) (revisado en 2). La causa de la lesión glomerular puede dañar directamente las células o la

Correspondencia: Dr. Alberto Ortiz Arduan.  
Servicio de Nefrología.  
Fundación Jiménez Díaz.  
Avda. Reyes Católicos, 2.  
28040 Madrid.

**Tabla I.** Modelos de daño glomerular directamente relacionados con técnicas de manipulación de genes.

Gen	Función	Lesión
<i>Ratones transgénicos</i> <sup>1</sup>		
T de SV40	Gen viral	Glomeruloesclerosis
HIV	Virus	Glomeruloesclerosis
GH	Hormona	Glomeruloesclerosis
IL-6	Citoquina	Proliferación mesangial, aumento de matriz, nefropatía membranosa
Pax-2	Factor de transcripción	Síndrome nefrótico congénito <sup>2</sup>
Transtiretina mutada	Proteína plasmática	Amiloidosis
Bcl-2	Previene apoptosis	Glomerulonefritis autoinmune
Fli-1	Factor de transcripción	Glomerulonefritis por inmunocomplejos
TGF $\alpha$	Citoquina	Expansión mesangial
<i>Ratones knock-out</i> <sup>3</sup>		
Mpv 17	Oxidación	Glomeruloesclerosis
Bcl-2	Previene apoptosis	Poliquistosis renal, proliferación glomerular
Fas	Apoptosis	Glomerulonefritis autoinmune
TGF $\beta$ 1	Citoquina	Enfermedad inflamatoria multifocal
COX-2	Ciclooxigenasa	Glomeruloesclerosis, detención maduración renal
PDGF-B y receptor	Citoquina	Ausencia de células mesangiales
Uteroglobina	Inhibe depósito matriz	Fibrosis glomerular
<i>Implantación de genes in vivo</i>		
PDGF o TGF $\beta$ 1 en glomérulo	Aumento matriz extracelular (sobre todo TGF $\beta$ 1), aumento proliferación mesangial (sobre todo PDGF)	
CSF-1/TNF $\alpha$ en células tubulares	Infiltración por macrófagos de glomérulos e intersticio	

<sup>1</sup> Los animales transgénicos tienen aumentada la expresión de un gen (transgen), lo que aumenta la producción de una proteína. El transgen puede no estar producido en el riñón: vg bcl-2 en linfocitos B, TGF $\beta$ 1 en hígado.

<sup>2</sup> Pax-2 no está implicado en el síndrome nefrótico congénito tipo finlandés.

<sup>3</sup> Los animales knock-out carecen de un gen funcional.

**Tabla II.** Factores desencadenantes.

Inmunidad.
Inmunidad humoral.
Inmunidad celular.
Activación inespecífica de la inflamación.
Cambios en el microambiente celular: factores metabólicos, depósitos.
Factores hemodinámicos.
Factores tóxicos y genéticos.

matriz glomerular, pero su propiedad más importante es la capacidad para inducir la producción de otros mediadores de la inflamación que amplifican el daño glomerular<sup>3</sup>. En el caso de las glomerulonefritis primarias de causa inmune la activación del complemento y de receptores Fc de las células glomerulares serían los principales mecanismos de ampliación de la lesión. La unión de los inmunocomplejos a receptores Fc de las células mesangiales activa el factor de transcripción NF $\kappa$ B y la secreción de citoquinas proinflamatorias<sup>4</sup> (fig. 1). Los cambios en el microambiente celular pueden también modificar el fenotipo de las células renales. Así la hiper glucemia disminuye la expresión de bcl-2 y aumenta

la de su antagonista, bax, favoreciendo así la apoptosis<sup>5</sup> (fig. 2).

### Ampliación y mantenimiento

Como consecuencia del factor desencadenante se producen tres respuestas que colaboran a amplificar y mantener el daño glomerular:

#### Quimiotaxis de leucocitos

El reclutamiento de neutrófilos es un hecho precoz de diversas nefropatías inmunes experimentales. El complemento, los eicosanoides, el PAF, las quimioquinas y las moléculas de adhesión participan en este proceso. El infiltrado por neutrófilos es transitorio y por ello es difícil de observar en glomerulopatías humanas, excepto que la clínica sea muy florida. Posteriormente son sustituidos por monocitos y, en menor cuantía, linfocitos T. Este cambio va asociado a una evolución en el patrón glomerular de producción de mediadores de la inflamación, con disminución de los que promueven el reclutamiento de neutrófilos.

La unión de inmunocomplejos a receptores Fc para inmunoglobulinas activa el factor de transcripción NFκB, que, a su vez, induce la transcripción de diversos mediadores de la inflamación, lo que favorece la amplificación del daño glomerular. NFκB puede ser también activado por otros mediadores de la inflamación. Las estrategias destinadas a antagonizar cada uno de estos mediadores individualmente limitan sólo parcialmente la activación de este factor de transcripción. Sin embargo, los corticoides impiden la activación de NFκB inducida por varios estímulos, aunque tiene otras acciones, algunas de ellas indeseables. Las estrategias antisentido anti-NFκB evitan, de forma específica, las consecuencias de la activación de NFκB.

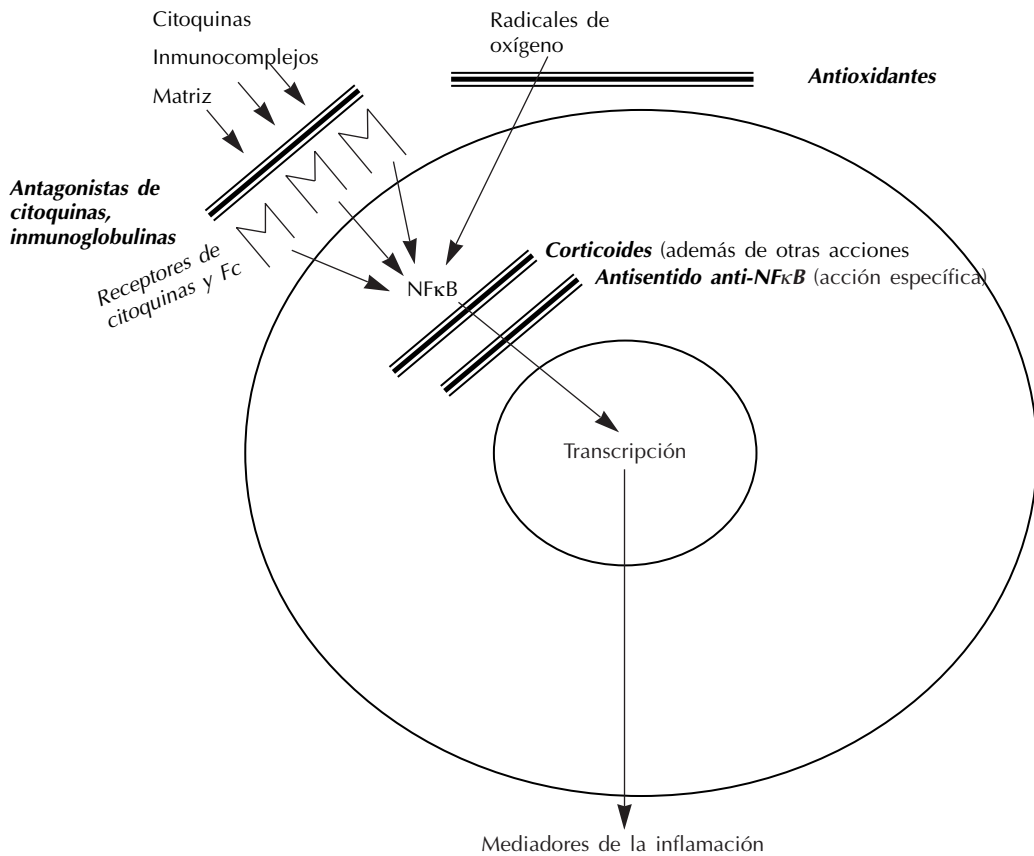


Fig. 1.—Amplificación de la lesión glomerular y posibles estrategias terapéuticas.

Promueven la apoptosis	Promueven la supervivencia	
Ligando de Fas, TNF, TRAIL	Receptores Fas y TNFR solubles	Espacio extracelular
Fas, TNFR, TRAIL y TRAILR <sub>2</sub>	TRAILR <sub>3</sub>	Membrana celular
FADD	FAP-1	
FLICE/Caspasa 8	Isoformas no letales de FLICE/Caspasa 8	
Otras caspasas	Proteínas virales FLIP y otros antagonistas no caracterizados en mamíferos	
Bax	Bcl2	
Bad	BclxL	

Fig. 2.—Factores que favorecen la muerte celular por apoptosis y sus antagonistas.

### ***Proliferación y lesión de células glomerulares***

La proliferación de células glomerulares es frecuente en las glomerulonefritis, e implica un aumento de las tasas de mitosis y apoptosis, con predominio de la mitosis. Habitualmente no ha existido una fase previa de pérdida de células glomerulares, aunque esto sí ocurre en el caso de las mesangiales en la nefritis por anticuerpos anti-Thy-1<sup>6</sup>. En este caso la proliferación de las células mesangiales tiende a restablecer la estructura mesangial, pero puede llevar a la formación de lesiones proliferativas focales.

### ***Expansión de matriz extracelular***

El incremento en la producción y depósito de matriz extracelular es un fenómeno precoz y frecuente en las glomerulonefritis.

### **Resolución**

La resolución del daño glomerular implica la restauración de la celularidad y matriz normal. Este proceso requiere: 1) el remodelamiento de la matriz extracelular por la liberación de enzimas degradadoras de matriz y por el cese de la producción de matriz, 2) normalización de la celularidad glomerular, que implica el cese de la quimiotaxis de leucocitos, y el eflujo o apoptosis de los ya presentes en el glomérulo. La normalización del número de células mesangiales requiere la proliferación cuando ha habido pérdida de células o la apoptosis del exceso de células y 3) el remodelamiento de los capilares glomerulares (angiogénesis).

La resolución del daño glomerular puede ocurrir como consecuencia de una maniobra terapéutica o espontáneamente. La resolución espontánea indica que existen factores endógenos con propiedades antiinflamatorias que en algún momento predominan sobre los que tienden a mantener y ampliar el daño glomerular. Entre los posibles mediadores antiinflamatorios se han propuesto las lipoxinas, el ácido 15(S) hidroxieicosatetranoico, las interleuquinas 4 y 13, el óxido nítrico y el TGFβ1<sup>7</sup>.

### **Progresión y fibrosis**

El daño glomerular puede evolucionar a un estadio de cicatrización glomerular, caracterizado por la desaparición progresiva de las células glomerulares, y la aparición de matriz extracelular cicatricial<sup>8,9</sup>. La progresión del daño glomerular puede ocurrir por la

persistencia de la causa que lo originó o a pesar del cese de la causa original, por un fracaso de los mecanismos de reparación glomerular. Por ejemplo, la apoptosis de células mesangiales normaliza el número de células mesangiales en las glomerulonefritis proliferativas<sup>10</sup>, pero si la tasa de apoptosis es excesiva puede llevar a una hipocelularidad glomerular.

### **Lesión tubulointersticial**

Todas las glomerulopatías crónicas progresivas se asocian a una lesión tubulointersticial caracterizada por un infiltrado inflamatorio mononuclear, fibrosis intersticial y atrofia tubular. Asimismo es frecuente una lesión vascular. La patogenia de la lesión tubulointersticial ha despertado mucho interés porque su magnitud se correlaciona mejor con el pronóstico de la función renal que la magnitud del daño glomerular, lo que implica que debería ser un objetivo de la intervención terapéutica.

Existen varios factores que pueden contribuir al daño intersticial (revisado en 11). Los que más atención han recibido son la filtración de mediadores de la inflamación por el glomérulo y el efecto tóxico de la proteinuria, ya que ofrecen la oportunidad de una intervención específica. Así, por ejemplo, se ha comprobado que la producción glomerular de TNF está aumentada en las glomerulonefritis y que el TNFα se filtra y aparecen en orina, donde es capaz de inducir apoptosis y de activar células tubulares<sup>12-14</sup>.

### **MECANISMOS BASICOS DE LESION**

Las distintas etapas del daño glomerular están caracterizadas por cambios en el número de células y en la cantidad de matriz extracelular. La mejor comprensión de la regulación de estos procesos puede facilitar su manipulación terapéutica.

### **Regulación del número de células glomerulares**

Una clasificación clásica de las glomerulonefritis las divide en proliferativas y no proliferativas. Las glomerulonefritis proliferativas son aquellas en las que existe un incremento en el número de células. Parte del exceso de células está constituido por células inflamatorias y parte por células glomerulares. En las glomerulonefritis o glomerulopatías no proliferativas el número de células glomerulares es esencialmente normal. Esta clasificación tiene un sentido patogénico puesto que en las glomerulonefritis proliferativas se han encontrado alteraciones en la

expresión de genes reguladores de la mitosis y apoptosis que están ausentes en las no proliferativas (revisado en 15). Durante el daño glomerular existen además cambios en el fenotipo celular: las células glomerulares intrínsecas y los leucocitos están «activados» y aumenta su capacidad sintética de receptores y mediadores de la inflamación.

El número de células glomerulares aumenta por quimiotaxis de leucocitos y mitosis de leucocitos y de células glomerulares intrínsecas, y disminuye por eflujo de leucocitos y apoptosis de éstos y de las células intrínsecas. Estos procesos están interrelacionados y suelen ocurrir simultáneamente, de tal manera que, si por ejemplo, aumenta la tasa de mitosis glomerular, se produce un aumento compensatorio de la tasa de apoptosis, que puede predominar o no sobre la mitosis. Dependiendo del proceso que predomine, el efecto neto será un aumento o disminución de la celularidad glomerular.

**Quimiotaxis:** La quimiotaxis de leucocitos implica el reconocimiento de un gradiente de concentración de factores quimiotácticos, y la participación de selectinas, PAF, leucotrienos, quimioquinas e integrinas<sup>16-19</sup>. Tanto las células mesangiales como las tubulares y los fibroblastos intersticiales secretan factores quimiotácticos<sup>19,20</sup>.

**Mitosis:** Los términos proliferación y mitosis se suelen emplear de forma intercambiable. La mitosis es el nacimiento de nuevas células por división celular. Durante el daño glomerular se pueden dividir las células endoteliales, las mesangiales y los leucocitos, pero se cree que los podocitos no son capaces de dividirse en el adulto<sup>21</sup>. La proliferación celular puede ser beneficiosa o perjudicial, dependiendo del estadio de la lesión glomerular y de su equilibrio con la muerte celular. Las citoquinas, y concretamente el PDGF, el FGF y la angiotensina II, son los factores más conocidos que regulan la mitosis de células glomerulares, aunque otros mediadores de la inflamación también tienen esta capacidad<sup>8,22,23</sup>. Si bien existen múltiples genes que participan en la división celular, el factor de transcripción E2F destaca por su capacidad para inducir la transcripción de varios de estos genes.

**Muerte celular:** La apoptosis y la lisis mediada por complemento han sido consideradas las dos formas principales de muerte celular en el glomérulo inflamado. La apoptosis es una forma de muerte celular activa, que requiere la integridad de una maquinaria letal, compuesta de sensores del microambiente extracelular, activadores y efectores de la muerte celular<sup>15,24</sup> (fig. 2). Los efectores de la muerte celular mejor conocidos son enzimas proteolíticas, las caspasas, aunque también se degrada el DNA de una forma característica (internucleosomal). Ciertas pro-

teínas, como bcl-2 y bclxL protegen de la muerte celular. La muerte celular está regulada por el microambiente. Existen factores externos letales para células mesangiales, como el TNF $\alpha$  y el ligando de Fas<sup>25-30</sup>. Otros son factores de supervivencia, como el IGF-1, cuya presencia es necesaria para evitar la activación del programa letal y la muerte celular<sup>30</sup>. Estudios recientes sugieren que la lisis por complemento no es una forma directa de muerte celular glomerular, ya que las células nucleadas son relativamente resistentes a la lisis por complemento y las células glomerulares expresan proteínas protectoras como la clusterina<sup>26</sup>. Estudios detallados de la glomerulonefritis mesangial por anticuerpos antitimocito (un ejemplo clásico de muerte celular por complemento) sugieren que la apoptosis sería la forma de muerte celular mesangial tanto en estadios precoces (causa de la lesión), como en estadios avanzados (mecanismo compensador reparador para eliminar el exceso de células acumuladas)<sup>10</sup>. La apoptosis en estadios tempranos podría ser la consecuencia de la activación del receptor Thy-1 o de la lesión subclínica por complemento.

Nuestro grupo ha comprobado recientemente que la activación del receptor Fas *in vivo* es un nuevo mecanismo de daño de la célula mesangial<sup>29</sup>. La apoptosis mediada por Fas podría colaborar a la pérdida de células parenquimatosas que caracteriza la esclerosis glomerular. Por otra parte, una tasa insuficiente de apoptosis podría colaborar a la acumulación de fibroblastos en la fibrosis intersticial. En este sentido, la sensibilidad de los fibroblastos renales a los factores letales secretados por los leucocitos (TNF, ligando de Fas) que infiltran el riñón depende del número de receptores que expresen en la membrana celular. La presencia en el medio de determinadas citoquinas, como el IGF-1, disminuye el número de receptores letales y protege a los fibroblastos de la apoptosis inducida por ligando de Fas<sup>30</sup>. Deberían estudiarse tratamientos que aumenten la expresión de Fas en fibroblastos renales, colaborando así a mantener controlado su número.

### Matriz extracelular

La matriz extracelular glomerular tiene numerosos componentes<sup>31</sup>. En las glomerulonefritis existen cambios en las características de la matriz extracelular, desde desequilibrios entre los distintos componentes de la matriz a un incremento franco de la cantidad total de matriz depositada. El ejemplo más extremo es la obsolescencia glomerular, en la que prácticamente todo el glomérulo está sustituido por matriz extracelular anómala.

Durante el daño glomerular aumenta la expresión de la matriz extracelular habitual del glomérulo, se producen nuevas proteínas de matriz (como colágenos I y III) no presentes en el glomérulo normal, varía el patrón de producción de isoformas de la matriz habitual, se producen fragmentos de matriz extracelular con acciones distintas a la molécula entera, y aumenta la producción de enzimas degradadoras, de sus inhibidores, y de receptores de matriz, como las integrinas<sup>8,31,32</sup>.

La matriz extracelular tiene varias funciones: 1) medio de anclaje para las células, 2) unión a sustancias bioactivas, como FGF, TGFβ1 y quimioquinas, inhibiendo su acción, estabilizándolas o actuando como reservorio<sup>33</sup>, 3) activación de receptores celulares específicos como las integrinas y regulación de la proliferación y muerte celular y de la producción de matriz extracelular y citoquinas<sup>34</sup>. Estas propiedades de la matriz extracelular han llevado a intervenciones terapéuticas que incluyen la administración de moléculas completas o fragmentos de matriz extracelular y el antagonismo de integrinas<sup>33,35</sup>. Así, por ejemplo, la fibronectina es una glicoproteína con varias isoformas que tienen distintas acciones biológicas<sup>35</sup>. Además, los fragmentos de fibronectina generados durante la inflamación glomerular favorecen la producción de citoquinas por las células glomerulares en cultivo y son quimiotácticos, mientras que la fibronectina intacta carece de estas características<sup>34</sup>. Esto puede ser la base de la efectividad terapéutica de la fibronectina parenteral en las glomerulopatías experimentales<sup>13</sup>. La decorina, un proteoglicano, antagoniza la acción de TGFβ1, y gracias a esta actividad, tiene un efecto terapéutico beneficioso en las glomerulonefritis experimentales<sup>33</sup>. Los componentes de la matriz extracelular glomerular están continuamente siendo sintetizados, depositados y degradados, de una forma finamente regulada.

**Síntesis:** Las tres estirpes de células glomerulares intrínsecas, mesangiales, epiteliales y endoteliales, contribuyen a la síntesis de matriz extracelular<sup>32,34,36</sup>. La síntesis de matriz extracelular está regulada por mediadores de la inflamación (destaca el TGFβ1, pero también TNFα, PDGF, angiotensina II, endotelina 1), por factores metabólicos y hemodinámicos, como el estrés mecánico<sup>31,37</sup>.

**Degradación:** Durante el daño glomerular se activan enzimas degradadoras de matriz extracelular, cuya actividad está controlada por un sistema de inhibidores. Del equilibrio entre enzimas y sus inhibidores depende el efecto final sobre la degradación de matriz. La degradación de la matriz contribuye a su remodelamiento y además origina fragmentos de matriz con propiedades diferentes a la matriz intacta,

que participan en la regulación de la inflamación. Estas y otras enzimas pueden también activar propéptidos y procitoquinas a sus formas activas. Así, por ejemplo, la convertasa de la angiotensina es producida localmente en el riñón y su actividad está aumentada durante el daño glomerular<sup>38</sup>.

**Depósito:** El depósito de matriz en el espacio extracelular es un proceso independiente de su síntesis y requiere de la interacción entre los distintos componentes de la matriz. Por ejemplo, la fibronectina y el nidógeno actúan de andamios sobre los que se depositan otras moléculas de matriz extracelular. La ausencia de un determinado componente de la matriz, como la cadena α5 del colágeno IV en el síndrome de Alport, impide el depósito normal de otros, como la cadena α3 del colágeno IV<sup>39</sup>. La carencia de la proteína uteroglobina en ratones *knock-out* conduce a una glomerulopatía con proteinuria caracterizada por intensos depósitos de fibronectina y colágeno<sup>40</sup>. La uteroglobina interfiere con la deposición de fibronectina, y su ausencia favorece el acúmulo de matriz extracelular a pesar de que la síntesis no está aumentada<sup>40</sup>.

## MEDIADORES DE LA INFLAMACION

El comportamiento celular está gobernado por una serie de sustancias que han sido denominadas colectivamente mediadores de la inflamación porque durante la inflamación su producción está aumentada (tabla III) (revisado en 2). Esto no descarta que jueguen un papel en la fisiología del glomérulo sano. De entre los numerosos mediadores de la inflamación los que han recibido más atención en los últimos años son los mediadores proteicos, y, concretamente, las citoquinas. Se han establecido criterios para implicar con seguridad a una citoquina en la patogenia del daño glomerular (tabla IV), que incluyen la capacidad de los antagonistas específicos para mejorar la evolución de las lesiones glomerulares (tabla V)<sup>8,9,12,41</sup>. Con fines docentes se puede establecer una clasificación simplificada de las cito-

**Tabla III.** Mediadores de la inflamación

---

Peptidos: citoquinas.
Lípidos: eicosanoides y PAF.
Moléculas de adhesión.
Inmunoglobulinas.
Complemento.
Pequeñas moléculas: radicales de oxígeno y óxido nítrico (NO).
Factores de la coagulación y fibrinólisis.
Enzimas y sus inhibidores.
Matriz extracelular

---



**Tabla IV.** Criterios para considerar que una citoquina participa en el daño renal.

Producción local incrementada durante el daño renal.  
Acciones *in vitro* sobre células renales.  
Su administración o expresión *in vivo* produce o agrava las lesiones renales.  
Antagonistas específicos protegen del daño renal.

**Tabla V.** Estrategias anticitoquinas específicas útiles en glomerulonefritis experimentales.

- Anti-TNF $\alpha$  y receptores solubles de TNF en nefritis nefrotóxica.
- Anti-IL1 $\beta$  en síndrome nefrótico por adriamicina.
- IL-1RA en nefritis nefrotóxica.
- Anti-TGF $\beta$ 1, decorina y oligonucleótidos antisentido anti-TGF $\beta$ 1 en glomerulonefritis proliferativa mesangial por anti-Thy-1.
- Anti-PDGF y antirreceptor de PDGF en glomerulonefritis proliferativa mesangial por anti-Thy-1.
- Anti-IL-8 y glomerulonefritis por inmunocomplejos aguda.
- Inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina y losartán en varias nefropatías.
- Antagonistas de la endotelina 1 en varias nefropatías.

quinas (tabla VI) teniendo siempre presente que todas ellas tienen múltiples acciones. En conjunto los mediadores de la inflamación regulan la celularidad y la matriz extracelular, y son objetivos obvios de la intervención terapéutica. Sin embargo, los recientes avances en el conocimiento de la patogenia del daño glomerular no se han traducido hasta el momento en grandes cambios terapéuticos en clínica. La interferencia con mediadores lipídicos, citoquinas específicas y matriz extracelular ha resultado útil en modelos experimentales (tabla VII), pero no se usa rutinariamente en clínica. Esto puede deberse en parte a la existencia de múltiples mediadores actuando simultáneamente sobre diferentes estirpes celulares, por lo que es difícil que al anular uno concreto se produzca una mejoría de una nefropatía clínica ya establecida. Por ello se están buscando estrategias que inhiban al mismo tiempo varios mediadores de la inflamación. Un objetivo reciente de la intervención terapéutica es la interferencia con factores de transcripción capaces de inducir la pro-

**Tabla VI.** Una visión simplificada de las citoquinas.

Proinflamatorias: TNF $\alpha$ , IL-1 $\beta$ .  
Fibrogénicas: TGF $\beta$ 1.  
Mitogénicas/factores de supervivencia: PDGF, IL-6, EGF, IGF-1.  
Letales: ligando de Fas, TNF $\alpha$ .  
Quimiotácticas: quimioquinas.  
Péptidos vasoactivos: angiotensina II, endotelina.  
Antiinflamatorias: IL-4, IL-13.

**Tabla VII.** Maniobras terapéuticas frente a mediadores específicos de utilidad en glomerulonefritis experimentales.

Antagonismo de citoquinas.  
Inhibidores/antagonistas de mediadores lipídicos (PAF, tromboxano, leucotrienos).  
Interferencia con moléculas de adhesión.  
Inmunoglobulinas intravenosas.  
Decomplementación.  
Antioxidantes e inhibidores de la síntesis de NO.  
Inhibidores de proteasas.  
Administración de matriz extracelular.  
Transfección de genes.  
Depleción de leucocitos.

ducción de varias citoquinas proinflamatorias, como el NF $\kappa$ B<sup>42</sup> (fig. 1). Desde este punto de vista no es sorprendente que las estrategias terapéuticas útiles en patología renal tengan múltiples efectos sobre distintos mediadores de la inflamación, que sólo se están reconociendo recientemente.

#### BASES RACIONALES PARA EL TRATAMIENTO DE LAS GLOMERULONEFRITIS

En los últimos años se están caracterizando con detalle los mecanismos de acción de los corticoides, la ciclosporina A, los inhibidores de la enzima de conversión y la dieta.

Los *corticoides* tienen efectos antiinflamatorios e inmunosupresores por su acción sobre macrófagos y linfocitos. Entre ellos se ha descrito recientemente su capacidad para inducir apoptosis de linfocitos. Los corticoides inhiben la activación del factor de transcripción NF $\kappa$ B, y, a través de esta acción, la expresión de varias citoquinas proinflamatorias<sup>43</sup> (fig. 1). Además tiene acciones sobre células glomerulares intrínsecas que incluyen la inhibición de la producción de citoquinas, y de las enzimas COX-2 y NO sintasa inducible, y el aumento de la actividad de enzimas antioxidantes y de la producción de glicosaminoglicanos<sup>44-49</sup>, que disminuyen la inflamación glomerular, protegen de la lesión celular y favorecen el mantenimiento de la barrera de filtración glomerular.

La *ciclosporina A* es un inmunosupresor que también tiene efectos sobre células glomerulares, como el incremento en la síntesis de glicosaminoglicanos por células epiteliales glomerulares, lo que podría facilitar la normalización de la barrera de filtración glomerular en el síndrome nefrótico de cambios mínimos<sup>36</sup>. La ciclosporina A también induce apoptosis de linfocitos<sup>50</sup> y nuestro grupo ha comprobado que la apoptosis de células

tubulares renales puede ser un mecanismo de nefrotoxicidad (50b).

Los *inhibidores de la enzima de conversión* actúan fundamentalmente porque impiden la formación de angiotensina II. La angiotensina II es un factor vasoactivo que además tiene efectos sobre la inflamación y fibrosis, como regular la síntesis de matriz a través del TGFβ1 y la proliferación de células glomerulares, fibroblastos intersticiales y linfocitos<sup>22,23,51</sup>. Estos efectos tipo citoquina probablemente explican la observación de que su administración resulta beneficiosa en modelos experimentales de nefritis por inmunocomplejos en los que no existe hipertensión arterial<sup>22,38</sup>. En este modelo se ha comprobado que existe una activación local renal, pero no sistémica, de la enzima convertidora de la angiotensina y que los IECA disminuyen la expresión renal de TGFβ1 y la fibrosis resultante de la acción de esta citoquina<sup>38</sup>. Será interesante comprobar si los antagonistas de los receptores AT1, como el losartán, tienen similares efectos. Estos receptores, al no bloquear los receptores AT2, en teoría podrían potenciar los efectos dependientes de su activación, como la capacidad para inducir apoptosis<sup>51</sup>.

La *dieta hipoproteica* es un tratamiento eficaz de diversas nefropatías experimentales, aunque ha sido más difícil demostrar su efecto beneficioso en el ser humano. La dieta hipoproteica disminuye la producción renal de varias citoquinas implicadas en el daño glomerular como TNFα, IP-10 y TGFβ1, al disminuir los niveles de expresión del mRNA<sup>19,52</sup>.

Las *inmunoglobulinas intravenosas* se han utilizado en el tratamiento de ciertas nefropatías. Se han sugerido varios posibles modos de actuación. Uno de ellos podría ser el antagonismo competitivo de la unión de los inmunocomplejos a los receptores Fc de las células glomerulares<sup>44</sup>. Esto evitaría que los inmunocomplejos depositados en el glomérulo activaran la producción de mediadores de la inflamación por las células intrínsecas como las mesangiales.

## TERAPIA GENICA

El conocimiento de las bases moleculares de las glomerulonefritis puede ser el primer paso en el desarrollo de la terapia génica en patología glomerular<sup>53</sup>. Se han comunicado ya los primeros resultados del efecto de la implantación de transgenes *in vivo*. La mayoría de estos trabajos estaban destinados a elucidar la patogenia del daño glomerular (tabla I), o, simplemente, a comprobar las posibilidades de estas técnicas mediante el empleo de genes marca-

dores. Sin embargo, otros pueden considerarse los primeros intentos de terapia génica en las glomerulonefritis.

Los ratones transgénicos y *knock-out* han suministrado información sobre las posibilidades de la terapia génica. Así, los ratones transgénicos para un antagonista de la GH están protegidos de la nefropatía diabética, y los ratones *knock-out* para MHC clase II no desarrollan nefritis lúpica<sup>54,55</sup>.

El gran reto de la terapia génica es el de la localización en el espacio y el tiempo de la expresión del gen. Esto es, nos interesa que determinado gen se exprese en una estirpe celular concreta, y, en ocasiones, durante un período concreto. La elección de un promotor adecuado puede mitigar este problema. El promotor es una porción de DNA que controla la expresión del gen<sup>1</sup>. Existen promotores que son relativamente específicos de una célula concreta. Así, los promotores de la metalotioneína y de la gamma-glutamyltranspeptidasa promueven la expresión renal del gen específicamente en las células tubulares, sobre todo en las proximales (revisado en 56). En otros casos se usan promotores fuertes, habitualmente virales, que promueven la expresión del gen que nos interesa en cualquier estirpe celular. En este caso el problema a solucionar es la entrada del transgen únicamente en una estirpe celular concreta. Desde el punto de vista del glomérulo se ha demostrado experimentalmente la posibilidad de transfectar células mesangiales en cultivo y posteriormente inyectarlas en la arteria renal del animal de experimentación<sup>57</sup>. Las células mesangiales inyectadas se depositan en los glomérulos y se consigue así una expresión del transgen específicamente en las células mesangiales glomerulares *in vivo*. Las células mesangiales pueden ser obtenidas de biopsias renales, transfectarse en cultivo y reinyectarse en el mismo paciente, con lo que se evita el rechazo al emplear células autólogas<sup>58</sup>. El problema de la expresión temporal del gen se ha intentado solucionar con promotores que responden a la presencia en el ambiente de drogas, como la tetraciclina<sup>59</sup>. La inyección en la arteria renal de células mesangiales con un vector de expresión, que contiene un promotor de este tipo, da lugar a la expresión en glomérulos del gen marcador, de forma regulada por la ingesta de tetraciclina. La administración oral de tetraciclina inhibe la expresión del gen, que vuelve a expresarse cuando se suspende la tetraciclina<sup>59</sup>.

Los primeros ensayos de terapia génica han intentado modificar procesos básicos de lesión en el glomérulo, como la producción de matriz extracelular, la proliferación y la muerte celular:

*Síntesis de matriz extracelular:* La expresión forzada de un transgen que codifica la proteína de ma-



triz extracelular decorina en el músculo esquelético protege de la nefritis proliferativa mesangial experimental en ratas<sup>60</sup>. La decorina es un antagonista del TGF $\beta$ <sub>1</sub> y el efecto de su producción por el músculo es similar al de la administración parenteral de decorina<sup>35</sup>. Otra estrategia consistió en inhibir la producción de mRNA de TGF $\beta$ <sub>1</sub> en este mismo modelo mediante la inyección en la arteria renal de oligodeoxinucleótidos antisentido antiTGF $\beta$ <sub>1</sub> vehiculizados por liposomas que contiene proteínas fusigénicas del virus HVJ. Con esta maniobra los oligodeoxinucleótidos se acumularon en el núcleo de las células mesangiales y disminuyó la producción de TGF $\beta$ <sub>1</sub>, y, como consecuencia, la acumulación de matriz extracelular<sup>61</sup>.

**Mitosis:** La transferencia de un gen modificado que codifica la síntesis de TGF $\beta$ <sub>1</sub> activo en células mesangiales y posterior inyección de las células mesangiales transfectadas en la arteria renal resulta en la síntesis de TGF $\beta$ <sub>1</sub> en el glomérulo<sup>62</sup>. Esta estrategia se ha aplicado en el modelo de glomerulonefritis proliferativa mesangial por inyección de anticuerpo, consiguiendo una reducción de la proliferación mesangial<sup>62</sup>. Otro abordaje ha aprovechado los conocimientos recientes sobre la biología molecular de la división celular. El factor de transcripción E2F promueve la transcripción de varios factores implicados en la división celular, como PCNA, cdc2 quinasa, y c-myc. Como otros factores de transcripción, E2F actúa a través de la unión a determinadas secuencias de DNA (secuencia consenso) en la región promotora del gen. A fin de inhibir la proliferación celular se ha insertado en células oligodeoxinucleótidos similares a la secuencia consenso para el E2F, que compiten con el DNA celular en su unión a E2F e impide la acción de este último. Este tratamiento ha sido empleado con éxito *in vivo* en la prevención de la hiperplasia de la glomerulonefritis proliferativa mesangial<sup>63</sup>. Para ello los oligodeoxinucleótidos se inyectaron en la arteria renal vehiculizados por liposomas que contienen proteínas fusigénicas del virus HVJ<sup>63</sup>.

**Muerte celular:** En el laboratorio de inmunopatología renal de la Fundación Jiménez Díaz estamos abordando la intervención sobre otro de los procesos básicos de lesión: la muerte celular por apoptosis. Existe evidencia de que la pérdida de masa tubular renal tiene lugar por apoptosis. Durante diversas nefropatías, incluida la glomerulonefritis proliferativa por inmunocomplejos<sup>12</sup>, el aumento de la producción glomerular de TNF conlleva su filtración y eliminación urinaria<sup>13,14</sup>. De esta forma las células tubulares están expuestas al TNF durante el daño glomerular. Hemos comprobado que el TNF induce apoptosis de células tubulares y modifica la expresi

ón de genes reguladores de la apoptosis (Ortiz A. y cols., manuscrito en preparación). Así, el TNF disminuye la expresión de los genes antiapoptóticos bcl2 y bclxL y aumenta la expresión de su antagonista endógeno bax<sup>64</sup> (fig. 2). Estos cambios se asocian a la muerte por apoptosis del 80% de las células. Sin embargo, durante el fracaso renal agudo y durante el daño glomerular agudo, la expresión renal de bclxL aumenta<sup>64</sup>. En ambos casos aunque la tasa de apoptosis está aumentada, existen más células que sobreviven que en el sistema de cultivo, lo que permite la recuperación del riñón. Nosotros hipotetizamos que el aumento de la expresión de bclxL observado *in vivo* juega un papel en la resistencia parcial a la lesión y en la recuperación de la función renal y de la celularidad tubular a medio plazo. A fin de explorar el papel que puede jugar bclxL en la protección frente a la necrosis tubular, y, por el mismo mecanismo, frente a la atrofia tubular hemos generado un vector en el que la expresión de bclxL está gobernada por el promotor de la gammaglutamiltranspeptidasa, y estamos ensayando el efecto de este vector sobre la resistencia de las células tubulares cultivadas a la apoptosis inducida por citoquinas que participan en el daño renal.

## BIBLIOGRAFIA

1. Ortiz A, Alonso J, Egido J: Contribuciones de la biología celular y molecular al estudio de la patogenia de las glomerulonefritis. *Nefrología* 14: 561-573, 1994.
2. Ortiz A, Egido J: Etiopatogenia de las enfermedades glomerulares. En: Hernando L, ed. *Nefrología Clínica* (Panamericana Madrid 1997, 228-237).
3. Ortiz A, Gómez-Chiarri M, Alonso J, Bustos C, Gómez-Guerrero C, López-Armada MJ, Gómez-Garre D, Palacios I, Ruíz-Ortega M, Gutiérrez S, González E, Egido J: The potential role of inflammatory mediators and fibrogenic cytokines in the pathogenesis of glomerular disease. *J Lipid Med* 9: 55-74, 1994.
4. Duque N, Gómez Guerrero C, Egido J: Interaction of IgA with Fc (receptors of mesangial cells activates transcription factor NF $\kappa$ B (B and induces mRNA expression of MCP-1, IL-8 and IP-10. *J Immunol* 159:3474-3482, 1997.
5. Ortiz A, Zlyadeh FN, Neilson EG: Expression of apoptosis-regulatory genes in renal proximal tubular epithelial cells exposed to high ambient glucose and in diabetic kidneys. *J Invest Med* 45: 50-56, 1997.
6. Bagchus WM, Hoedemaeker PJ, Rozing J, Bakker WW: Glomerulonephritis induced by monoclonal anti-Thy 1.1. antibodies. A sequential histological and ultrastructural study in the rat. *Lab Invest* 55: 680-687, 1986.
7. Kluth DC, Rees AJ: Inhibiting inflammatory cytokines. *Semin Nephrol* 16: 576-582, 1996.
8. Ortiz A, Egido J, Gómez-Chiarri M, Bustos C, Alonso J, González E. La participación de citoquinas y matriz extracelular en la progresión del daño renal. *Nefrología* 12 (Suppl. 5): 22-32, 1992.
9. Egido J, Ruiz Ortega M, Bustos C, Gómez-Garre D, González S, Gómez Guerrero C, López-Armada MJ, Ortiz A: Cito-

- quinas profibrogénicas y angiotensina II en la patogenia de la esclerosis renal. *Nefrología* 16 (Suppl. 3): 22-28, 1996.
10. Baker AJ, Mooney A, Hughes J, Lombardi D, Johnson RJ, Savill J: Mesangial cell apoptosis: the major mechanism for resolution of glomerular hypercellularity in experimental mesangial proliferative nephritis. *J Clin Invest* 94: 2105-2116, 1994.
  11. Ortiz A: Nefropatías intersticiales no infecciosas. En: Hernando L ed. *Nefrología Clínica* Panamericana, Madrid 1997, 384-395.
  12. Ortiz A, Bustos C, Alonso J, Alcázar R, López-Armada MJ, Plaza JJ, González E, Egido J. Involvement of tumor necrosis factor alfa in the pathogenesis of experimental and human glomerulonephritis. *Adv Nephrol* 24: 53-78, 1995.
  13. Ortiz A, Alonso J, Gómez-Chiarri M, Lerma JL, Seron D, Condom E, González E, Egido J. Fibronectin decreases glomerular lesions and synthesis of TNF $\alpha$ , PAF and fibronectin in proliferative glomerulonephritis. *Clin Exp Immunol* 101: 334-340, 1995.
  14. Noble B, Ren K, Tavernes J y cols.: Mononuclear cells in glomeruli and cytokines in urine reflect the severity of experimental proliferative immune complex glomerulonephritis. *Clin Exp Immunol* 80: 281-287, 1990.
  15. Ortiz A, González Cuadrado S, Lorz C, Egido J: Apoptosis in renal diseases. *Front Biosci* 1: D30-47, 1996 (<http://www.bioscience.org/1996/v1/d/ortiz1/htmls/30-47.htm>).
  16. Gómez-Chiarri M, Ortiz A, Lerma JL, Mampaso F, González E, Egido E: Involvement of tumor necrosis factor and platelet activating factor in the pathogenesis of experimental nephrosis in rats. *Lab Invest* 70: 449-459, 1994.
  17. Gómez-Chiarri M, Ortiz A, Seron D, González E, Egido J: The intercrine superfamily and renal disease. *Kidney Int Suppl.* 39:S81-S85, 1993.
  18. Bustos C, González E, González-Cuadrado S, Ortiz A, Muley R, de Nicolás R, Plaza JJ, Egido J: Urinary excretion of platelet-activating factor in human and experimental nephrosis. *Nephrol Dial Transplant* 11: 282-286, 1996.
  19. Ortiz A, Gómez-Chiarri M, González-Cuadrado S, Serón D, Emancipator SN, Hamilton TA, Barat A, Plaza JJ, González E, Egido J: Interferon-inducible protein 10 (IP-10) is highly expressed in rats with experimental nephrosis. *Am J Pathol* 148: 301-311, 1996.
  20. González-Cuadrado S, Bustos C, Ruiz Ortega M, Ortiz A, Guijarro C, Plaza JJ, Egido J: Expression of leukocyte chemoattractants by interstitial renal fibroblasts: upregulation by drugs associated with interstitial fibrosis. *Clin Exp Immunol* 106: 512-518, 1996.
  21. Adler S: Glomerular epithelial cells. En: Neilson EG, Couser WG, eds. *Immunologic Renal Diseases*. Lippincot, Philadelphia, 655-667, 1997.
  22. Egido J: Vasoactive hormones and renal sclerosis. *Kidney Int* 49: 578-597, 1996.
  23. Gómez-Garre D, Ruiz-Ortega M, Ortega M, Largo R, López-Armada MJ, Plaza JJ, González E, Egido J: Effects and interactions of endothelin-1 and angiotensin II on matrix protein expression and synthesis and mesangial cell growth. *Hypertension* 27: 885-892, 1996.
  24. Ortiz-Arduan A, Neilson EG: Apoptotic cell death in renal disease. *Nefrología* 14: 391-407, 1994.
  25. Ortiz A, González-Cuadrado S, Bustos C, Alonso J, Gómez-Guerrero C, López-Armada MJ, González E, Plaza JJ, Egido J: Tumor necrosis factor and glomerular damage. *J Nephrol* 8: 27-34, 1995.
  26. Ortiz A, Karp SL, Neilson EG: Clusterin (SGP2) mRNA expression by mesangial cells and its regulation by cytokines. *J Am Soc Nephrol* 4: 626, 1993.
  27. Ortiz-Arduan A, Danoff TM, Kalluri R, González-Cuadrado S, Karp SL, Elkon K, Egido J, Neilson EG: Regulation of Fas and Fas ligand expression in cultured murine renal cells and in the kidney during endotoxemia. *Am J Physiol* 241: F1193-F1201, 1996.
  28. González-Cuadrado S, López-Armada MJ, Gómez-Guerrero C, Subirá D, Ortiz-González A, Neilson EG, Egido J, Ortiz A: Anti-Fas antibodies induce cytolysis and apoptosis in cultured human mesangial cells. *Kidney Int* 49: 1064-1070, 1996.
  29. González-Cuadrado S, Lorz C, García del Moral R, O'Valle F, Alonso C, Ramiro F, Ortiz-González A, Egido J, Ortiz A: Agonistic anti-Fas antibodies induce glomerular cell apoptosis in mice *in vivo*. *Kidney Int* 51: 1739-1746, 1997.
  30. Ortiz A, González-Cuadrado S, Lorz C, García del Moral R, O'Valle F, Egido J: Cytokines and Fas regulate apoptosis in murine renal interstitial fibroblast. *J Am Soc Nephrol* 8: 1845-54, 1997.
  31. Rupprecht HD, Schöcklmann HO, Sterzel RB: Cell-matrix interactions in the glomerular mesangium. *Kidney Int* 49: 1575-1582, 1996.
  32. Alonso J, Gómez-Chiarri M, Ortiz A, Serón D, Condom E, López-Armada MJ, Largo R, Barat A, Egido J: Glomerular upregulation of EIIIA and V120 fibronectin isoforms in proliferative immune complex nephritis. *Kidney Int* 50: 908-919, 1996.
  33. Border WA, Noble NA, Yamamoto T, Harper JR, Yamaguchi YU, Pierschbacher MD, Ruoslahti E: Natural inhibitor of transforming growth factor-beta protects against scarring in experimental kidney disease. *Nature* 360: 361-364, 1992.
  34. López-Armada MJ, González E, Gómez-Guerrero C, Egido J: The 80-kD fibronectin fragment increases the production of fibronectin and tumour necrosis factor-alpha (TNF-alpha) in cultured mesangial cells. *Clin Exp Immunol* 107: 398-403, 1997.
  35. Ortiz A, Egido J: Fibronectina e inflamación: el papel de la fibronectina en las glomerulonefritis. *Inflamación* 93 3: 327-340, 1992.
  36. Bustos C, González-Cuadrado S, Ruiz-Ortega M, Gómez-Guerrero C, González E, Plaza JJ, Egido J: Cyclosporin A (CsA) modulates the glomerular production of inflammatory mediators and proteoglycans in experimental nephrosis. *Clin Exp Immunol* 102: 608-613, 1995.
  37. Hirakata M, Kaname S, Chung UG, Joki N, Hori Y, Noda M, Takuwa Y, Okazaki T, Fujita T, Katoh T, Kurokawa K: Tyrosine kinase dependent expression of TGF-beta induced by stretch in mesangial cells. *Kidney Int* 51: 1028-1036, 1997.
  38. Ruiz Ortega M, González S, Serón D, Condom E, Bustos C, Largo R, González E, Ortiz A, Egido J: ACE inhibition reduces proteinuria, glomerular lesions and extracellular matrix production in a normotensive rat model of immune complex nephritis. *Kidney Int* 48: 1778-1791, 1995.
  39. Kalluri R, Weber M, Netzer KO, Sun MJ, Neilson EG, Hudson BG: COL4A5 gene deletion and production of post-transplant anti-alpha 3(IV) collagen alloantibodies in Alport syndrome. *Kidney Int* 45: 721-726, 1994.
  40. Zhang Z, Kundu GC, Yuan CJ y cols.: Severe fibronectin-deposit renal glomerular disease in mice lacking uteroglobin. *Science* 276: 1408-1412, 1997.
  41. Ortiz A, Egido J: Is there a role for specific anti-TNF strategies in glomerular diseases? *Nephrol Dial Transplant* 10: 309-311, 1995.
  42. Neurath MF, Pettersson S, Meyer zum Buschenfelde KH, Strober W: Local administration of antisense phosphorothioate oligonucleotides to the p65 subunit of NF-kappa B abrogates established experimental colitis in mice. *Nat Med* 2: 998-1004, 1996.
  43. Brattasand R, Linden M: Cytokine modulation by glucocorticoids: mechanisms and actions in cellular studies. *Aliment Pharmacol Ther* 10 (Suppl. 2): 81-90, 1996.

44. Feng L, Xia Y, Kreisberg JJ, Wilson CB: Interleukin-1 alpha stimulates KC synthesis in rat mesangial cells: glucocorticoids inhibit KC induction by IL-1. *Am J Physiol* 266: F713-F722, 1994.
45. Coyne DW, Nickols M, Bertrand W, Morrison AR: Regulation of mesangial cell cyclooxygenase synthesis by cytokines and glucocorticoids. *Am J Physiol* 263: F97-F102, 1992.
46. Kunz D, Walker G, Eberhardt W, Pfeilschifter J: Molecular mechanisms of dexamethasone inhibition of nitric oxide synthase expression in interleukin 1beta-stimulated mesangial cells: evidence for the involvement of transcriptional and post-transcriptional regulation. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 255-259, 1996.
47. Chansel D, Llorens-Cortés C, Vandermeersch S, Pham P, Ardaillou R: Regulation of angiotensin II receptor subtypes by dexamethasone in rat mesangial cells. *Hypertension* 27: 867-874, 1996.
48. Yoshioka T, Kawamura T, Meyrick BO, Beckman JK, Hoover RL, Yoshida H, Ichikawa I: Induction of manganese superoxide dismutase by glucocorticoids in glomerular cells. *Kidney Int* 45: 211-219, 1994.
49. Kasinath BS, Singh AK, Kanwar YS, Lewis EJ: Dexamethasone increases heparan sulfate proteoglycan core protein content of glomerular epithelial cells. *J Lab Clin Med* 115: 196-202, 1990.
50. Gottschall AR, Boise LH, Thompson CB, Quintans J: Identification of immunosuppressant-induced apoptosis in a murine B-cell line and its prevention by bcl-x but not bcl-2. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 7350-7354, 1994.
50. b. Ortiz A, Lorz C, Catalan MP, Ortiz A, Coca S, Egido J: Cyclosporine A induces apoptosis in murine tubular epithelial cells: role of caspases. *Kidney Int* (aceptado para publicación).
51. Yamada T, Horiuchi M, Dzau VJ: Angiotensin II type 2 receptor mediates programmed cell death. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 156-160, 1996.
52. Ortiz-Arduan A: Aporte nitrogenado y mediadores de la inflamación. En: Ortiz A, González-Parra E, Rodeles M, Fanlo B, eds. Nutrición y riñón. Fresenius, Barcelona, 17-26, 1996.
53. Isaka Y, Imai E: Molecular biological intervention. *Semin Nephrol* 16: 591-598, 1996.
54. Jevnikar AM, Grusby MJ, Grincher LH: MHC class II deficient MRL-lpr mice do not develop autoimmune lupus nephritis. *J Am Soc Nephrol* 4: 608, 1993.
55. Isaka Y, Brees DK, Ikegaya K, Kaneda Y, Imai E, Noble NA, Border WA: Gene therapy by skeletal muscle expression of decorin prevents fibrotic disease in rat kidney. *Nat Med* 2: 418-423, 1996.
56. Briand P, Kahn A, Vandewalle A: Targeted oncogenesis: a powerful method to derive renal cell lines. *Kidney Int* 47: 188-394, 1997.
57. Kitamura M, Taylor S, Unwin R, Burton S, Shimizu F, Fine LG: Gene transfer into the rat renal glomerulus via a mesangial cell vector: site-specific delivery, *in situ* amplification, and sustained expression of an exogenous gene *in vivo*. *J Clin Invest* 94: 497-505, 1994.
58. Kitamura M, Burton S, Yokoo T, Fine LG: Gene delivery into the renal glomerulus by transfer of genetically engineered, autologous mesangial cells. *Exp Nephrol* 4: 56-59, 1996.
59. Kitamura M: Creation of a reversible on/off system for site-specific *in vivo* control of exogenous gene activity in the renal glomerulus. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 7387-7391, 1996.
60. Esposito C, Liu ZH, Striker GE, Phillips C, Chen NY, Chen WY, Kopchick JJ, Striker LJ: Inhibition of diabetic nephropathy by a GH antagonist: a molecular analysis. *Kidney Int* 50: 506-514, 1996.
61. Akagi Y, Isaka Y, Arai M y cols.: Inhibition of TGF-beta 1 expression by antisense oligonucleotides suppressed extracellular matrix accumulation in experimental glomerulonephritis. *Kidney Int* 50: 148-155, 1996.
62. Kitamura M, Burton S, English J, Kawachi H, Fine LG: Transfer of a mutated gene encoding active transforming growth factor-beta 1 suppresses mitogenesis and IL-1 response in the glomerulus. *Kidney Int* 48: 1747-1757, 1995.
63. Dzau VJ, Mann MJ, Morishita R, Kaneda Y: Fusogenic viral liposome for gene therapy in cardiovascular diseases. *Proc Natl Acad Sci USA* 93: 11421-11425, 1996.
64. Ortiz A, Neilson EG: Expression of bax and bcl-x, members of the bcl-2 gene family, in murine tubular cells and acute renal failure. *J Am Soc Nephrol* 5: 906, 1994.