

5 DISCUSIÓN

Estudios experimentales recientes muestran que las anomalías lipídicas pueden contribuir al inicio de la progresión de la glomerulosclerosis. También se ha observado que la presencia de hipertensión sistémica, una enfermedad glomerular preexistente, o la reducción del número de nefronas funcionales, conducen a un incremento en la extensión y severidad de la lesión glomerular²⁰⁹. Así por ejemplo, dietas ricas en colesterol están asociadas a albuminuria y lesión glomerular en una gran variedad de especies animales. Además, cuando esta dieta se halla en combinación con hipertensión u otras formas de lesión glomerular como la reducción de la masa renal, se produce un efecto aditivo en relación con la lesión renal. En este sentido, French y col²¹⁰ demostraron que dietas altas en colesterol administradas a conejillos de indias, incrementaban la incidencia de glomerulosclerosis, siendo el aumento del número de lesiones glomerulares proporcional al nivel de colesterol alcanzado. Estudios posteriores pusieron de manifiesto que dietas ricas en colesterol inducían hiperplasia glomerular y una expansión de la matriz extracelular. Por otro lado, en ratas alimentadas con dietas ricas en colesterol a las cuales se les había inducido hipertensión, se constató que la lesión glomerular aumentaba casi el doble respecto a cuando no se les inducía la hipertensión²¹¹.

Es importante remarcar el papel de la diabetes mellitus en la progresión de la enfermedad renal progresiva. En esta línea, Hirano y col²¹² demostraron que los perfiles plasmáticos de lipoproteínas eran más aterogénicos en pacientes con nefropatía diabética que en los que no tenían ninguna enfermedad renal o en aquellos que tenían una nefropatía no diabética. Además, los niveles de triglicéridos en plasma (altos per se en la diabetes II) se incrementan cuando existe microalbuminuria, poniéndose de manifiesto la importancia de la dislipemia en la diabetes mellitus tipo II. Por otro lado, también observaron que pacientes con microalbuminuria tienen un contenido de la enzima lipoproteína lipasa menor que pacientes normoalbuminúricos, indicándose el papel crítico de este enzima en la dislipemia asociado a estadios iniciales de la nefropatía diabética.

Estudios previos realizados por nuestro grupo probaron que en RZO alimentadas con una dieta con alto contenido graso se producía una aceleración de la nefropatía. El tratamiento de estas ratas con fosinopril normalizó la proteinuria y el número de macrófagos-ED1, además de reducir las cifras de colesterol²¹³. También observamos que en ratas Sprague-Dawley con una nefrectomía parcial alimentadas a partir de una dieta rica en colesterol se incrementaban significativamente el número de lesiones segmentarias focales y la proteinuria²¹⁴.

El objetivo del presente estudio se basó en valorar si la corrección primaria de la alteración lipídica en un modelo de diabetes mellitus tipo II disminuye la glomerulosclerosis y a través de qué

DISCUSIÓN

mecanismos ocurre. En estos últimos años, los inhibidores de la 3-hidroxi-3-metil-glutaril coenzima A-reductasa han demostrado tener efectos beneficiosos en diferentes modelos de ERP²¹⁵. Por otro lado, existen estudios previos^{216,213} que muestran que los inhibidores del enzima de conversión de la angiotensina-II en este modelo experimental reducen drásticamente la proteinuria, reduciendo a su vez la lesión renal. Es por esta razón que nos propusimos estudiar los mecanismos por los cuales la reducción primaria de los lípidos y las proteínas disminuyen la lesión renal mediante la utilización del inhibidor del enzima hidroximetil-glutaril coA reductasa (atorvastatina) y el inhibidor del enzima de conversión de la angiotensina (quinapril).

Para conseguir estos objetivos escogimos a la RZO y tal como ya hemos comentado en la introducción, la RZO constituye un modelo clave para el estudio de la DMNID. Estas ratas, a diferencia de las RZL (controles sanos) son obesas. La obesidad en esta cepa es su carácter recesivo autosómico consecuencia del fenotipo *fa/fa*, causante también de otras características que identifican a este tipo de rata: resistencia periférica a la insulina, hiperinsulinemia, hiperlipidemia y finalmente proteinuria y glomerulosclerosis. Diferentes estudios experimentales han sugerido que las anomalías lipídicas inherentes a estas ratas podrían jugar un papel importante en el desarrollo de la glomerulopatía²¹⁷.

Una de las primeras valoraciones que realizamos fue la determinación del estadio clínico de cada uno de los grupos experimentales. Entre los parámetros ponderables encontramos que las ratas de ambos grupos control experimentaron un aumento de peso exponencial entre las semanas 16 y 24 de vida, que se estabilizó posteriormente. Tal y como cabe esperar del genotipo de la RZO, ésta alcanzó valores de peso significativamente mayores que sus homólogas (RZL). Los grupos tratados con quinapril y atorvastatina, no evidenciaron aumento de peso alguno, a pesar de que la ingesta fue similar en todos los grupos. La incidencia de los fármacos en el peso de los animales ha sido documentado en algunos estudios previos²¹⁸ y podría explicarse por la reducción de los niveles plasmáticos del colesterol inducidos por los tratamientos.

La presión media tomada durante todos los meses de estabulación fue muy similar y no se observaron diferencias significativas entre los grupos control y los tratados, hecho que podría responder a la conocida variabilidad de la presión arterial. En cambio, si se estudiaban en más profundidad las presiones medias de los últimos meses se pudieron observar diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el tratado con quinapril, que presentaba valores inferiores de presión arterial. La reducción de la presión arterial provocada por los IECAs es un hecho conocido dado que la AII está implicada directamente en el control de la presión arterial.

Las RZO actuaron como modelo representativo de la evolución positiva de la edad, presentando todos los componentes del síndrome plurimetabólico X similar a la diabetes tipo II en humanos. Mostraron obesidad, glucosa moderadamente alta, hiperinsulinemia y una dislipemia en la que destacaban niveles muy altos de triglicéridos. Además, los animales manifestaron un incremento significativo de la proteinuria a partir de las 24 semanas de vida llegando a alcanzar proteinuria severa ($>50\text{mg}/\text{Kg peso}/\text{día}$) así como a exhibir lesiones glomerulares escleróticas y focales en la biopsia renal. Estos datos coinciden con la literatura²¹⁹ que demuestra que la RZO es un modelo espontáneo de glomerulosclerosis que desarrolla proteinuria a edades muy tempranas.

Existen estudios en la literatura que demuestran que los factores metabólicos propios del síndrome plurimetabólico X actúan favoreciendo la glomerulosclerosis. Así, Michel y col²²⁰ en un experimento llevado a cabo con RZO apuntaban que la insulina podía ser un factor implicado en la patogénia de la glomerulosclerosis actuando directa o indirectamente a través de la concentración de triglicéridos. Por otro lado, demostraron que la glucemia también estaba involucrada en esta enfermedad, ya que el bloqueo con ascarbosa de la absorción de glucosa al nivel intestinal reducía la insuficiencia renal crónica y la severidad de la glomerulosclerosis. Por otro lado, Gades estudió el papel de la obesidad en la RZO provocando breves períodos de iniesta ad libitum, en estos periodos observó que aumentaba la hipertrigliceridemia y con ésta la lesión glomerular²²¹.

Se ha demostrado que los lípidos contribuyen de una manera muy especial en la confección de la lesión renal. En concreto, se ha visto que las células glomerulares expresan receptores para las LDL y las VLDL, favoreciendo el depósito de estas partículas en el tejido renal. Estas partículas pueden oxidarse previa a la entrada o una vez el glomérulo las ha internalizado causando un daño deletéreo en las células mesangiales. Ishiyama y col en un estudio en el que abordaban la patogénesis de la glomerulosclerosis sugirieron que la peroxidación lipídica estaba implicada en la glomerulosclerosis inducida por lípidos apuntando que el O_2^- y OH^- jugaban un papel en este proceso. En concreto, el O_2^- es metabolizado a peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y radicales de oxígeno OH^- (especie capaz de oxidar los lípidos a peróxidos). La peroxidación de los ácidos poliinsaturados en la membrana celular puede interferir en las funciones celulares¹⁶⁰. También, se ha observado que la hiperlipidemia incrementa la concentración de oxidoreductasa xantina, enzima que cataliza la generación de los radicales de oxígeno²²². Además, la administración de antioxidantes como la vitamina E o ácidos grasos ω 6 modifican la oxidación de las lipoproteínas y subsecuentemente disminuyen la formación de células espumosas dentro del glomérulo²²³.

Además, estudios de micropunción han demostrado que las dietas ricas en colesterol incrementan de una manera modesta la presión del capilar intraglomerular. Estos cambios de presión ocurren sin alteración de la presión sistémica y están íntimamente relacionados con el incremento de la presión

DISCUSIÓN

oncótica²²⁴. También se ha constatado en ratas diabéticas una marcada disminución de la resistencia de la arteria glomerular, más evidente a nivel preglomerular, que permite la transmisión de la presión sistémica a la microcirculación glomerular²²⁵. Consecuentemente, el riñón diabético es más susceptible de sufrir daños deletéreos de la hipertensión sistémica por lo que la disminución de la presión sanguínea adquiere protagonismo en la reducción de la nefropatía.

Conocida la importancia de la dislipemia en la lesión glomerular, uno de nuestros objetivos fue evaluar el papel de la dislipemia en relación con la proteinuria y la producción de glomerulosclerosis y elucidar la acción de la atorvastatina y el quinapril en la prevención de la lesión renal de la RZO. En nuestro estudio experimental observamos que las RZL mostraron unos niveles de triglicéridos y colesterol constantes a lo largo del tiempo. En oposición, las RZO presentaron un incremento importante del colesterol a las 24 semanas mientras que los niveles de triglicéridos se mantuvieron constantes a esta edad. A las 32 semanas los niveles de colesterol exhibieron un incremento proporcional al que ya habían experimentado anteriormente, mientras que los niveles de triglicéridos aumentaron de una forma exponencial. La presencia de esta dislipemia tan marcada a las 24 semanas podría responder a la presencia de diabetes mellitus tipo II en nuestro modelo experimental y también secundariamente a la proteinuria.

En el presente estudio se pudo observar que las ratas que tenían el colesterol más elevado eran las que presentaban mayor proteinuria y lesiones glomerulares mientras que cuando se reducía la dislipemia se asociaba a una disminución de la proteinuria y de las lesiones glomerulares. En este sentido, Keane¹⁵⁵ observó que las dietas ricas en colesterol están asociados a la albuminuria y al lesión glomerular en una gran cantidad de especies animales. También, encontró que la hipercolesterolemia reduce la producción de substancias vasodilatadoras (prostaciclina, factores relajantes) e incrementa la producción de substancias vasoconstrictoras (tromboxano A2 y endotelina), moléculas relacionadas con la hemodinámica glomerular.

El tratamiento con atorvastatina disminuyó los niveles de triglicéridos a las 24 semanas alcanzando niveles muy próximos al de las RZL. Aunque los triglicéridos séricos a las 32 semanas de edad incrementaron, estos niveles se mantuvieron inferiores respecto las RZO ($p < 0.01$). También, se observó una disminución de los niveles de colesterol con la atorvastatina (32 semanas de edad). El tratamiento con quinapril inicialmente acompañado inicialmente de un incremento los niveles de triglicéridos, pero a las 32 semanas de edad existía una disminución de un 70%, llegando a la normalización de este parámetro. Por otro lado, el colesterol disminuyó ligeramente a las 24 semanas, alcanzando una reducción del 60% (a las 32 semanas de edad) respecto el grupo control (RZO).

Ambos tratamientos reducen eficazmente la dislipemia y aunque la atorvastatina parece disminuir inicialmente de manera más eficaz los triglicéridos, el quinapril es el tratamiento que finalmente normaliza la dislipemia en estos animales. Este hecho se podría atribuir a que la RZO presenta en las primeras semanas únicamente hiperlipidemia, hecho que explica que la atorvastatina sea el tratamiento más eficaz a las 24 semanas. Sin embargo, cuando se desarrolla proteinuria en la rata, los niveles de dislipemia no corresponden únicamente a un desorden primario sino que éstos se producen como un efecto aditivo secundario a la proteinuria. Es en este estadio cuando la proteinuria adquiere un papel relevante en la progresión de la lesión renal y es ahora (en presencia de proteinuria) cuando es más interesante la utilización de un IECA. En nuestro caso el quinapril disminuyó la hiperlipidemia como consecuencia de la normalización de la proteinuria severa, además de otros factores como la disminución de la presión arterial y conservando el estado de la barrera de filtración²²⁶.

Se observó que las ratas que tenían un colesterol más elevado presentaban proteinuria y lesiones glomerulares, mientras que cuando se disminuía la dislipemia se asociaba a una disminución de la proteinuria y de las lesiones glomerulares. En concreto, las RZO con 16 semanas de edad ya presentaban un pequeño número de glomérulos con lesiones focales. Este porcentaje incrementó de manera exponencial con la edad, llegando a tener a las 32 semanas un 10% de glomérulos afectados. A diferencia de éstas, las RZL no presentaron lesiones glomerulares en ningún momento. Así mismo ambos tratamientos disminuyeron el número de lesiones en un 70.3% (24 semanas de edad). En cambio, a las 32 semanas de edad la atorvastatina disminuía el número de lesiones en un 59%, mientras que el quinapril llegaba a normalizarlas por completo alcanzando valores similares a los de las RZL.

La proteinuria experimentó un patrón muy similar al reflejado por las lesiones glomerulares. Demostró ser un buen indicador del estado de la lesión glomerular. Ésto explica que las RZO empiecen a tener proteinuria a las 24 semanas de edad, cuando estas mismas ratas exhibían lesiones glomerulares ya con 16 semanas de edad. En lo que respecta a los tratamientos, el quinapril previno la aparición de proteinuria tanto a las 16 como 24 semanas de edad. Igualmente, la atorvastatina consiguió disminuir la proteinuria aunque en menor grado.

El análisis de regresión lineal múltiple nos permitió esclarecer los principales factores que podían determinar las lesiones glomerulares en nuestro modelo experimental. Reveló algunos de los posibles mecanismos de acción de los tratamientos utilizados. Así, se vió que las lesiones glomerulares están asociadas principalmente al colesterol. Además, puso de manifiesto que la atorvastatina disminuía las lesiones glomerulares a través de un efecto directo sobre la inhibición del enzima que regula la síntesis del colesterol (corroborado por Keane y col²²⁷) y por tanto

DISCUSIÓN

disminuyendo el colesterol y a través de un posible efecto pleiotrópico independiente de la disminución del colesterol, como podría ser la reducción en la proliferación de las células mesangiales previamente estudiada por nuestro grupo²²⁸. Cabría destacar otros efectos posibles como la menor producción de moléculas implicadas en la fibrogénesis²²⁹, la reducción de especies reactivas de oxígeno²³⁰, la disminución de la síntesis de ADN^{231,232}, el incremento de la apoptosis²³³ y la disminución de la migración de monocitos y macrófagos con la consecuente liberación de citocinas y factores de crecimiento que inducen al daño renal²³⁴. En cambio, el tratamiento con quinapril podría prevenir las lesiones glomerulares a través de la normalización de la proteinuria y secundariamente de la dislipemia. Remuzzi y col²³⁵ ofrecieron una posible explicación del mecanismo de acción de los IECAs, los cuales propusieron que este tipo de fármacos reducen la presión de los capilares intraglomerulares confiriendo así renoprotección.

Una vez conocido el perfil lipídico y su relación con la glomerulosclerosis se procedió a valorar el grado de hipertrofia en los glomérulos de las ratas de nuestro modelo experimental. En esta línea, Holy EW y col²³⁶ demostraron en una comunidad con obesidad, hipertensión y diabetes mellitus II que existía una correlación entre el desarrollo de la esclerosis focal y segmentaria y el grado de hipertrofia glomerular. Así mismo, se ha observado que cuando acontece un insulto renal que provoca la disminución del tejido renal funcional se produce una hipertrofia del glomérulo, siendo la magnitud de estos cambios superior cuanto mayor es el insulto. Por ello, creímos que la valoración del grado de hipertrofia de las ratas de este estudio experimental realizada a través del análisis de la área glomerular podría darlos una idea más precisa del estadio evolutivo de la progresión de la lesión glomerular.

Los grupos controles, RZO sin tratar y RZL, mostraron diferencias estadísticamente significativas a partir del cuarto mes de vida, observándose que las RZO sin tratar presentaban una área mucho mayor que los controles, RZL. Este hecho se ha corroborado en algunos estudios en los que se ha observado que ratas que habían sufrido un insulto renal (p.e. nefrectomía unilateral, diabetes mellitus o glomérulonefritis) presentaban un mayor desarrollo de hipertrofia y glomerulosclerosis²³⁷. También es interesante remarcar que la área glomerular de las RZO no mostró diferencias significativas entre las 24 y 32 semanas de edad, hecho que comentaremos más adelante. El tratamiento con atorvastatina disminuyó la área glomerular alcanzando diferencias significativas respecto a las RZO no tratadas en el cuarto mes de vida. Esta diferencia se podría deber a que la atorvastatina disminuye el contenido de lípidos de una manera muy eficaz a las 24 semanas de edad y por lo tanto la hipertrofia. En nuestro conocimiento este mecanismo no ha sido descrito previamente por ningún otro autor en la literatura. Los glomérulos de las ratas tratadas con quinapril mostraron unas áreas similares a las ratas control, RZL, a las 24 y 32 semanas de edad, poniéndose de manifiesto la acción normalizadora de los IECAs. Estos resultados coinciden con

trabajos anteriores de nuestro grupo que ponían de manifiesto el papel hipertrófico de la AII en cultivos de células mesangiales²⁰¹ y por Brunskill y col²³⁷, los cuales afirman que los IECAs tienen un efecto reductor en la hipertrofia en la glomerulosclerosis.

Uno de los eventos cruciales en el desarrollo de la FSGS es la retracción progresiva y el desprendimiento de los podocitos de la MBG. Las células parietales de la cápsula de Bowman se adhieren a la MBG desnuda permitiendo la extensión y adhesión de capilares vecinos produciéndose hialinosis y microtrombosis de los capilares. Los segmentos del ovillo esclerosados se hernian dando como consecuencia una filtración al intersticio.

Es conocido que las células podocitarias actúan como soporte de la tensión de la pared de los capilares. Se ha visto que los filamentos intermedios que forman parte del citoesqueleto de estas células juegan un papel importante no sólo proveyendo estabilidad mecánica sino también como señal de traducción de la fuerza mecánica. En particular, los cambios en el citoesqueleto de los podocitos han sido implicados en la activación de hormonas vasoactivas en la permeabilidad de la barrera del filtro glomerular. Estudios realizados *in vitro* por Endlich y col²³⁸ ponen de manifiesto que el estrés mecánico puede inducir una reorganización importante de los filamentos intermedios, en concreto del citoesqueleto de actina en los podocitos, formándose unas fibras radiales conectadas con un centro rico en F-actina (-tubulina). Por otro lado, aunque los podocitos puedan considerarse como células epiteliales según la clasificación de Bloom and Fawcett, los filamentos intermedios de los podocitos no contienen citoqueratinas (filamentos que caracterizan a las células epiteliales) sino vimentina²³⁹. Además, se ha visto que los podocitos de las ratas contienen desmina, filamento intermedio típico de las células musculares. La intensidad de la misma aumenta con la edad y con las condiciones de proteinuria²⁴⁰, aunque se ha visto que su distribución es muy heterogénea entre especies y cepas animales²⁴¹.

Con todos estos resultados, sería importante determinar qué factores son los que llevan a la lesión podocitaria. Hasta ahora, no existen evidencias de que el aumento de los niveles de concentración de glucosa sean directamente tóxicos para el podocito; sin embargo, hay bastantes evidencias de que los podocitos responden a la hiperglicemia con cambios en su metabolismo celular. Son relevante los cambios en la expresión de los filamentos intermedios de vimentina hacia desmina; los cuales son un síntoma más asociado a los crecientes cambios de los podocitos bajo una gran variedad de circunstancias. La creciente pérdida de proteínas por la barrera de filtración glomerular característica de la nefropatía diabética incipiente hace pensar rápidamente en su relación con los podocitos. Estas células son responsables del recambio de la MBG y es aceptado que el aumento de grosor de la MBG y su composición (pérdida de cargas negativas) son características propias de la ND. Gaster y col hipotetizaron que el aumento de filtración de macromoléculas en la MBG es el

DISCUSIÓN

principal factor de lesión podocitaria así como para la progresión de la lesión. Como parte de su función, los podocitos endocitan una gran variedad de macromoléculas para degradarlos en sus lisosomas. Se cree que los podocitos tienen una función limitada. Así en diversos estudios se han observado podocitos repletos de gotas y otros elementos lisosomales (incluidas gotas lipídicas). Esta sobrecarga de degradación lisosomal expone a los podocitos a un peligro de liberación de las enzimas lisosomales en el citoplasma, llevando a un daño severo y finalmente a la muerte celular. Así, se produce un círculo vicioso que hace que se de un incremento de la filtración de proteínas y un mayor lesión podocitaria. Recientes estudios en los que se utilizan IECAs apoyan esta teoría como posible mecanismo actuación de estos fármacos en su reducción de la proteinuria y progresión de la enfermedad.

Uno de los objetivos del presente estudio fue el estudio de la lesión podocitaria y/o alteración de la membrana basal glomerular como indicador del estado de la barrera de filtración glomerular y mecanismo mediante el cual se desarrolla la lesión glomerular en la RZO. Además, intentamos elucidar si la expresión del filamento intermedio desmina era un buen marcador de lesión podocitaria en nuestro modelo experimental. Encontramos que las RZL no mostraron positividad para este marcador en ninguna semana de vida. Por otro lado, las RZO presentaron positividad podocitaria para la desmina a las 18 semanas de edad, aumentando significativamente a las 24 semanas y disminuyendo a las 32 semanas. La diferencia de expresión entre las RZL y las RZO (controles de ausencia y presencia de la enfermedad) apunta a la desmina como un buen marcador de la lesión podocitaria del presente modelo experimental, sugiriendo además que la lesión podocitaria podría ser uno de los principales responsables de la lesión glomerular en la RZO. Estos resultados están en la línea de los trabajos de Floege y col ²⁴² que observaron en ratas Milan encontraban correlación entre el grado de hipertrofia y la expresión glomerular de novo de la desmina y por lo tanto con el grado de progresión de la nefropatía.

Si tenemos en cuenta que los podocitos son el único tipo de célula glomerular cuyo cuerpo celular no se encuentra unido al capilar sino que se haya libre en el espacio de Bowman podemos pensar que esta es una estructura vulnerable a cualquier cambio o agresión que pueda suceder. Si además consideramos que son responsables del mantenimiento de la estructura glomerular, podríamos hipotetizar que la presencia de lesiones en los podocitos de la RZO provoca el establecimiento de la proteinuria. Esta hipótesis estaría avalada por los estudios de regresión lineal múltiple realizados en el presente trabajo que apuntan a la proteinuria como variable independiente de la desmina (marcador de lesión podocitaria).

Algo también sorprendente es la disminución de la tinción inmunohistoquímica para la desmina de la semana 32 respecto la semana 24. Esta disminución podría ser debida a la pérdida de podocitos

durante la progresión de la lesión glomerular²⁴³. También, Meyer y col²⁴⁴ en un estudio con Indios Pima con DMNID en el cual afirmaba que el número de podocitos predecía la excreción de albúmina urinaria a largo plazo. De todas formas, cabe pesar que si el presente estudio hubiese contenido un grupo de animales de mayor edad, el grado de tinción histológica para la desmina hubiera incrementado, tal y como se muestra en el estudio de Floege y col²⁴². Aunque no se valoró morfológicamente, es interesante constatar que las ratas Zucker obese de 32 semanas de edad mostraron también positividad intersticial para este marcador, pudiendo indicar transformación de los miofibroblastos²⁴⁵.

El tratamiento con quinapril no mostró positividad para la desmina en ninguno de los meses de vida de las ratas tratadas con este fármaco. La negatividad de la tinción de este marcador coincide con el hecho de que este grupo presenta niveles normalizados de proteinuria y lípidos. Si a esto le añadimos el análisis de regresión lineal múltiple que propone a la proteinuria como variable independiente de la desmina, cabría la especulación de que los inhibidores del enzima de conversión de la angiotensina protegen al podocito confiriéndole una normalización de su función y por tanto de la proteinuria. En esta línea, Henger y col²⁴⁶ propusieron una posible explicación en la que demostraron que la angiotensina II despolarizaba a los podocitos de una manera calcio-dependiente a través del receptor AT1, apuntando que la angiotensina II podría influir en la función podocitaria en el glomérulo intacto. Además, la angiotensina II disminuye el coeficiente de ultrafiltración con un aumento de la filtración de macromoléculas. El tratamiento con atorvastatina disminuyó la positividad de la desmina, aunque no llegó a los niveles de normalización alcanzados por los grupos tratados con quinapril o por las ratas control, RZL. La disminución del grado de tinción con este marcador podría estar en relación con el grado de reducción de la dislipemia del animal.

Para poder comprobar el estado de la MBG, la ultraestructura glomerular y su relación con la desmina realizamos cortes ultrafinos que analizamos en el microscopio electrónico. En este estudio, las secciones renales de las RZO pusieron de manifiesto una fusión de pedicelos podocitarios, unos pliegues de la MBG y una acumulación de filamentos intermedios a nivel podocitario. Por el contrario, las RZL presentaron una estructura glomerular normal. Estos resultados están de acuerdo con las descripciones existentes en la bibliografía que afirman que la adhesión de los podocitos en la membrana basal glomerular está críticamente correlacionado con el correcto estado del filtro de la pared del capilar glomerular. En otras palabras, la proteinuria está invariablemente asociada al alisamiento de los pedicelos y el subsiguiente desprendimiento de los podocitos, siendo uno de los hechos patológicos más destacables de la nefrosis de cambios mínimos y de la glomerulosclerosis focal y segmentaria.²⁴⁷

DISCUSIÓN

Con todas las observaciones bioquímicas e histológicas realizadas hasta el momento, podríamos afirmar que el modelo experimental de la RZO exhibió proteinuria y glomerulosclerosis, hechos causados por la lesión podocitaria manifestado principalmente por la fusión podocitaria que alteró el filtro y consecuentemente la permeabilidad glomerular. También, mediante cortes ultrafinos observados en el microscopio electrónico se demostró la existencia de un acumulo de filamentos intermedios al nivel podocitario que puso de manifiesto la alteración del citoesqueleto como respuesta al estrés procedente de posibles descargas mecánicas provenientes del flujo, de la presión del capilar y de la dislipemia entre otros factores.

Dentro del estudio de los mecanismos implicados en la progresión de la lesión glomerular analizamos el papel de algunas citocinas glomerulares candidatas en el desarrollo de la ND. En concreto estudiamos el TGF- β_1 y el PDGF-B. El TGF- β_1 es un factor potente fibrogénico que activa la síntesis de proteínas de matriz extracelular, disminuye la degradación de la misma y aumenta los receptores de matriz. Esta proliferación de la matriz extracelular acompaña generalmente a una proliferación de las células mesangiales en la que está implicada principalmente la citocina PDGF-B. En el presente estudio experimental se evaluó el grado de expresión de ARN total del TGF- β_1 glomerular mediante PCR-competitiva e inmunolocalización in situ, sin hallar diferencias significativas en la expresión de esta citocina entre los grupos controles ni en los tratados. Aunque sin llegar a alcanzar diferencias significativas, tanto en la PCR-competitiva como en la inmunolocalización in situ se encontró que la mayor expresión del TGF- β_1 se encontraba en las RZL y tratamiento con quinapril (32 semanas de edad). Igualmente no se observaron cambios en la expresión proteica del TGF- β_1 en ninguno de los grupos estudiados.

Reeves WB y col²⁴⁸ demuestran que tanto en humanos como en modelos animales diabéticos, la expresión ARN mensajero y la proteína TGF- β_1 están aumentadas significativamente tanto en el glomérulo como en el intersticio. En la DMID (por ejemplo, modelos en lo que se induce la diabetes con estreptozotocina) se ha demostrado ampliamente que los niveles de glucosa altos estimulan la producción de esta citocina²⁴⁹. Por otro lado, constatamos en algunos modelos animales de DMNID como el ratón db/db (modelo de hiperfagia, obesidad, hiperinsulinemia e hiperglicemia²⁵⁰) la importancia del TGF- β_1 ²⁵¹. Todo ello nos sugiere que la RZO, a pesar de ser un modelo de DMNID y de tener la glucosa moderadamente alta, no alcanza niveles de hiperglicemia suficientes, adquiriendo un mayor perfil plurimetabólico en detrimento de uno exclusivamente hiperglicémico, lo cual podría explicar la ausencia de sobreexpresión de TGF- β_1 . Además, cabe considerar que las RZO se encuentran en un estado muy inicial de desarrollo de la nefropatía (encontramos a lo sumo riñones con un 10% de glomérulos con glomerulosclerosis), pudiendo expresar, únicamente, niveles basales de esta citocina.

El patrón de expresión del TGF- β_1 muestra una disminución a lo largo del tiempo. Esta dinámica guarda relación con la área glomerular. Estas dos expresiones parecen indicar que no existe aumento de la ECM al menos en los estadios estudiados. Por otro lado, parece que la actuación del TGF- β_1 en este modelo tenga una acción reparadora (acción natural de la citocina) más que inductora de una lesión glomerular, ya que los niveles de esta citocina son mayores en la RZL que en la RZO (aunque no existen diferencias significativas), y el tratamiento con quinapril (tratamiento que normaliza las lesiones glomerulares, la proteinuria y la desmina) tiende a igualar la expresión con las RZL.

Así mismo, no existe ninguna evidencia clara de que la reducción del área glomerular debida al tratamiento con quinapril o con la atorvastatina en menor medida, responda a una disminución de la producción de matriz extracelular. La disminución en el área podría deberse a razones hemodinámicas tal como indica la atenuación de la presión sistémica durante los dos últimos meses de tratamiento con el quinapril, pero no con la atorvastatina.

En lo que respecta a los niveles glomerulares de PDGF-B encontramos un patrón de expresión similar al del TGF- β_1 , lo que podría explicar una interregulación de ambas citocinas²⁵². En concreto, los niveles iniciales de esta citocina, a las 18 semanas de edad, no mostraron diferencias significativas entre ambos grupos control. En contraste, a las 24 y 32 semanas de edad las RZO disminuyeron considerablemente su expresión respecto a las RZL, alcanzando significación estadística. En referencia al tratamiento, el grupo tratado con quinapril mostró una diferencia significativa respecto a los controles. Es interesante remarcar que los niveles de expresión de esta citocina para las 24 semanas del tratamiento con quinapril fueron similares a las RZO, para incrementar posteriormente a las 32 semanas llegando a alcanzar niveles próximos a las RZL. Este hecho podría tener una posible relación con la reducción de lípidos y la disminución de angiotensina II alcanzados con el quinapril, haciendo que los niveles de citoquinas de este grupo se igualaran a las del grupo sano (RZL). El tratamiento con la atorvastatina, sin embargo, no presentó diferencias significativas a lo largo de todo el estudio. Cabe destacar, sin embargo, que los niveles de esta citocina a las 24 semanas se mantuvieron al nivel de las RZL, descendiendo ligeramente a las 32 semanas. Pudiéndose pensar, de nuevo, en la normalización de las citoquinas ya que se vuelven a asemejar a los de las RZL.

En la bibliografía Coimbra y col²⁵³ documentaron la ausencia de cualquier cambio de expresión del PDGF-B en el glomérulo e intersticio de las ratas Goto Kakizaki (modelo de diabetes mellitus II) similar al nuestro. Igualmente ocurre en el caso de TGF- β_1 que no altera los niveles de expresión en el glomérulo, llegando incluso a disminuir en el intersticio. Así mismo, se observa la ausencia de incremento en la expresión de moléculas de matriz que podrían estar reguladas por esta citocina

DISCUSIÓN

como la laminina, el colágeno IV o la fibronectina. Todo esto induce a pensar que realmente no se produce un aumento de matriz extracelular claro, al menos en los primeros meses de desarrollo de la glomerulosclerosis o que el crecimiento es tan pequeño que no se detecta con estudios puntuales de citocinas.

También, se procedió a estudiar el grado de proliferación en el riñón con el objetivo de conocer mejor la lesión de la RZO. Para ello realizamos un estudio inmunohistoquímico mediante el marcador de proliferación Ki-67, una proteína no histónica nuclear expresada en las células que están proliferando²⁵⁴. No se encontró expresión de esta proteína en las ratas control, ni tampoco en ninguno de los grupos estudiados (datos no mostrados). Esto nos sugiere que el tipo de nefropatía que caracteriza al modelo experimental de la RZO no se acompaña de proliferación celular significativa, como cabe esperar en la glomerulosclerosis, enfermedad renal no proliferativa.

Entre los diferentes factores implicados en la patogénesis de las lesiones glomerulares, la acumulación de los monocitos/ macrófagos circulantes dentro del glomérulo ha sido uno de los factores más descritos, sugiriéndose que la glomerulosclerosis comparte numerosos mecanismos con la aterosclerosis. Los macrófagos son capaces de liberar potentes mediadores como proteasas, radicales libres, citocinas o factores de crecimiento que alteran la biología de las células renales. En concreto, muchos de estos mediadores pueden activar a las células induciéndolas a proliferar y a producir proteínas de matriz extracelular^{255,256}. Debido a la importancia patogénica de estas células, nos propusimos abordar el estudio de éstas a varios niveles: (1) estudio del número de macrófagos infiltrados mediante una tinción inmunohistoquímica del marcador ED1 (antígeno presente en el citoplasma de los macrófagos), (2) Estudio de algunas moléculas (quimiocinas) implicadas en la migración de los leucocitos de la circulación periférica hacia los tejidos (glomérulos, vasos y túbulos), (3) Estudio de la activación de un factor de transcripción implicado en la expresión de muchas quimiocinas y moléculas de inflamación.

En lo que se refiere al primer objetivo, la tinción de ED1, tal y como muestran los resultados, no se observó la existencia de infiltrados de macrófagos en los glomérulos ni en las células tubulares tanto en los grupos control como en los grupos tratados. Estos resultados están en concordancia con la ausencia de diferencias en la expresión proteica del TGF- β_1 (los macrófagos son una de las principales fuentes productoras de esta citocina) y con la ausencia de proliferación celular indicada por el marcador Ki-67 (parte de la proliferación observada en el glomérulo se debe a la proliferación de las células infiltradas). Por otro lado, se observaron células ED1-positivas en los capilares y en el intersticio de las ratas control, ZO y ZL, siendo un 62 % mayor la infiltración en el grupo de las RZO no tratadas respecto a las RZL. Esto sugiere que el hecho más característico de nuestro modelo experimental es el infiltrado de macrófagos en el intersticio y en los capilares y no

en el glomérulo. Esto sugiere que el daño tubulointersticial podría ser un componente importante en la predicción de la lesión renal debido a que se correlaciona muy bien con el declive de la función renal y su progresión a largo plazo²⁵⁷.

El tratamiento con quinapril redujo el número de infiltrados en el intersticio y capilares en un 80.9% y un 98.9% respectivamente, mientras que la atorvastatina logró reducirlos en un 100% tanto en el intersticio y como en los capilares. El hecho de que la atorvastatina fuera más efectiva que el tratamiento con quinapril podría ser reflejo de alguno de los efectos pleiotrópicos de este fármaco y de alguna de las diferencias de los mecanismos de acción de ambas drogas.

La migración de los leucocitos de la circulación periférica al espacio intersticial implica una serie de interacciones entre las moléculas que se expresan en los leucocitos, en la superficie endotelial y en la matriz extracelular. El estadio inicial implica el rodamiento de los leucocitos a lo largo de la pared del vaso a través de interacciones específicas entre las selectinas y los ligandos. El siguiente paso trae asociada la activación de los leucocitos que acaba con la adhesión de la superficie endotelial a las integrinas. El estadio final ocurre la extravasación de los leucocitos que implica el paso del leucocito a través del endotelio, diapedesis y migración. Las quimiocinas juegan un papel muy importante en este proceso. Estas son producidas en el lugar donde se produce el daño o son liberadas por las plaquetas secuestradas en la superficie endotelial. Aquí actúan como señalización para determinados tipos de leucocitos que se encuentran en la circulación. Las quimiocinas unidas a la superficie endotelial causan la activación de los leucocitos (aumentan la regulación de las integrinas, arrojando y adheriendo los leucocitos de la circulación a la superficie endotelial). Después, los leucocitos migran a lo largo del gradiente quimiotáctico de quimiocinas hacia la zona lesionada. Cuando el leucocito llega al punto de máxima concentración, permanece allí aumentando la concentración de leucocitos en ese lugar. Es en este estadio cuando los leucocitos pasan a ser una fuente importante de citocinas.

Para el presente estudio experimental se seleccionaron dos quimiocinas pertenecientes a la familia CXC implicadas en la respuesta inflamatoria: la IL-8 (factor esencial en la filtración de neutrófilos) y la IP-10 (factor quimiotáctico de las células T y las NK). La tinción de IL-8 fue positiva en el epitelio de las células tubulares de las RZO sin tratamiento, mostrando diferencias significativas respecto sus homólogas las RZL y los respectivos tratamientos. Así mismo, la tinción para la IP-10 mostró positividad en el intersticio glomerular de las RZO. Este grupo encontró diferencias significativas con las RZL y con el grupo tratado con quinapril. De todos estos resultados podríamos concluir que las RZO presentaron una respuesta inflamatoria al nivel tubulointersticial. Además, es destacable que el intersticio vuelve a cobrar importancia, como ya sucedía con el TGF-₁ y con el ED1. El quinapril disminuyó esta infiltración para la quimiocina IP-10.

DISCUSIÓN

Respecto al tercer objetivo de estudio de la activación del NF-kB, parece que este juega un papel principal en el control de la expresión de los genes de las quimiocinas. Se ha observado la presencia de zonas de unión de NF-kB en muchos promotores de genes entre los cuales se encuentran: La molécula de adhesión vascular (VCAM-1), la molécula de adhesión intracelular (ICAM-1), quimiocinas como la proteína quimoactante de monocitos (MCP-1), IP-10 y IL-8, citocinas proinflamatorias como IL-1, enzimas proinflamatorias como la sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS) y la fosfolipasa A2 (PLA2), etc²⁵⁸. Amparados en esta hipótesis de partida planteamos como objetivo el estudio de la activación del NF- B, en un intento de conocer la implicación de este factor de transcripción en la patogénesis de la glomerulosclerosis.

En el presente estudio experimental se encontró una actividad mayor del NF-kB significativa respecto las RZL, principalmente en las células tubulares de las RZO sin tratar. Este hecho tiene una correlación con la expresión que se encuentra para IL-8 la cual también es positiva para las células tubulares. Esta valoración tiene una explicación en los resultados publicados por Hernández-Presa y col^{259,260} que demostraron que la actividad del NF- B radicaba en el área ocupada por los macrófagos y que aumentaba en respuesta a estímulos inflamatorios comúnmente expresados en lesiones arterioscleróticas.

En conclusión, nuestro estudio pone de manifiesto que la hiperlipidemia inicia la lesión glomerular en el modelo experimental de la RZO, por lo que su control adquiere relevancia en la terapia de pacientes con ERP. Sin embargo, son necesarios más estudios para profundizar los mecanismos por los que las lipoproteínas median la lesión renal entre los que se podría apuntar el abordaje del estrés oxidativo como principal candidato²⁶¹. Así, la utilización de modelos animales constituye una herramienta valiosa para el estudio de estos mecanismos. Conocida la incidencia de la hiperlipidemia es importante destacar el papel de los hipolipemiantes entre los que se encuentran las estatinas, grupo de fármacos utilizados en el presente estudio experimental. Estos actúan inhibiendo el enzima clave de la vía de la síntesis del colesterol así como a través de otras propiedades pleyotrópicas que favorecen la prevención y desarrollo de la lesión glomerular. En este estudio también se ha puesto de manifiesto la importancia de la proteinuria como principal factor de progresión de la lesión renal. Así, tal y como queda reflejado en el este estudio, el manejo de inhibidores del enzima de conversión de la AII tiene un papel decisivo en la prevención de la nefropatía. Estos disminuyen la presión sistémica (y posiblemente la presión intraglomerular), normalizan la proteinuria y la glomerulosclerosis normalizando secundariamente la dislipemia.

Por otro lado, cabe destacar el papel que desempeña la lesión podocitaria en el inicio del desarrollo de la lesión esclerótica y focal en la RZO (relacionada principalmente con la producción de proteinuria), la cual se pone de manifiesto con el marcador de la desmina así como en los estudios

de microscopía electrónica. En este punto es destacable la actuación del quinapril como posible normalizador de la célula podocitaria. Con todos estos resultados, sería importante determinar qué factores son los que llevan a la lesión podocitaria. Por ejemplo, hay estudios en los que se afirma que los podocitos responden a la hiperglicemia con cambios en su metabolismo celular, siendo relevantes los cambios en la expresión de los filamentos intermedios de vimentina hacia desmina. Gaster y col hipotetizaron que el aumento de filtración de macromoléculas de la MBG (proteinuria) induce un exceso en la endocitosis de macromoléculas por parte de los podocitos que provocaría una sobrecarga en las células con peligro de derramamiento del contenido lisosomal llevando a una lesión severo . Así, se podría producir círculo vicioso que daría como resultado un incremento de la filtración de proteínas y una mayor lesión podocitaria.

También, es destacable la presencia de lesión inflamatoria en el intersticio de las RZO, posiblemente inducida por la proteinuria²⁶². Las proteínas al pasar por el túbulo renal son capaces de activar a las células del epitelio tubular induciéndolas a expresar citocinas que atraigan infiltrado leucocitario y activar el factor de transcripción NF- B, molécula que amplifica la lesión de manera decisiva (existen estudios en la literatura que apuntan la inhibición del NF- B como posible diana terapéutica de la ERP).

Es conocido que las lesiones glomerulares que caracterizan a la nefropatía diabética humana presentan una expansión mesangial caracterizada por un incremento de la división celular (macrófagos y células mesangiales) y deposición de matriz. En cambio, en coincidencia con otros autores^{263, 264}, nosotros encontramos una escasa expansión mesangial en los glomérulos de la RZO. Por todo esto parece que la lesión glomerular de la RZO responde más una FSGS de origen plurimetabólico que a una nefropatía diabética, como cabría esperar por sus altos niveles de insulina.

6 CONCLUSIONES

OBJETIVO 1

- ✓ El inicio y progresión de las lesiones glomerulares en la RZO se produce a edades muy tempranas. Éstas se dan en ausencia de hiperglicemia marcada, pero en presencia de hiperlipidemia e hiperinsulinemia.
- ✓ La proteinuria precede al desarrollo de las lesiones segmentarias en la RZO, mostrando una correlación estadísticamente significativa con el colesterol, quinapril y la edad.
- ✓ Las lesiones glomerulares se hallan relacionadas principalmente con el colesterol.

OBJETIVO 2

- ✓ Las RZO mostraron un área glomerular significativamente mayor que sus homólogas las RZL, además ésta aumentaba con la edad.
- ✓ En la RZO se produce fusión de los podocitos que señala la existencia de lesión podocitario como evento principal de la nefropatía.
- ✓ Las RZO evidenciaron un incremento de la expresión inmunohistoquímica de desmina que mostraba positividad a nivel podocitario respecto las RZL que no presentaron tinción para la desmina, sugiriendo que la alteración de los podocitos podría ser la principal causa de proteinuria.
- ✓ Cortes ultrafinos observados al microscopio electrónico manifiestan una alta densidad de filamentos intermedios al nivel de las células epiteliales glomerulares, hecho que correlaciona con la positividad encontrada para la desmina.
- ✓ Los inhibidores del enzima de conversión de la angiotensina previenen el lesión podocitaria, disminuyen la proteinuria y normalizan el colesterol secundariamente.

OBJETIVO 3

- ✓ Este modelo experimental no se acompaña de incrementos en la expresión de las citocinas en glomérulo aislado de TGF- α y PDGF-B, como ocurre en nefropatías asociadas a la diabetes mellitus tipo I insulino dependiente. Lo que sugiere que la activación de las citocinas glomerulares tiene una contribución mayor en el inicio y/o progresión de la lesión en la

CONCLUSIONES

diabetes mellitus tipo I que en la no insulino dependiente o que están relacionadas con los niveles de glucemia.

OBJETIVO 4

- ✓ La lesión podocitaria es acompañada de la lesión y activación de las células intersticiales, como pone de manifiesto la quimioquina IP-10 y el factor de transcripción NF- B.
- ✓ El tipo de nefropatía que caracteriza al modelo experimental de la RZO es no proliferativa, como pone de manifiesto la ausencia de positividad del marcador de proliferación celular inmunohistoquímico Ki-67 en los glomérulos.
- ✓ Los riñones de las RZO con glomerulosclerosis presentaban una infiltración de macrófagos exclusivamente en el intersticio.
- ✓ La atorvastatina corrige la dislipemia mediante un efecto directo en la inhibición de la enzima HMG-CoA reductasa que regula la síntesis del colesterol y a través de un efecto pleiotrópico posiblemente a través de la disminución del NF- B y ED⁺1 en el intersticio.
- ✓ Tanto el quinapril como la atorvastatina al reducir la proteinuria disminuyen la lesión tubulointersticial.
- ✓ En este experimento se realza la importancia del intersticio en la evolución de las nefropatías de origen metabólico.

CONCLUSIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

- ✓ El colesterol es el factor metabólico más importante relacionado en la producción de la FSGS de la RZO. El presente estudio propone al daño podocitario como principal causa de proteinuria siendo característico también la lesión tubulointersticial inicial y finalmente la glomerulosclerosis.

7 BIBLIOGRAFIA

- ¹ Avendaño LH: Nefrología clínica. Ed Panamericana. Madrid, 1997.pp 6-7
- ² Higuieruelo, S: Glomerulosclerosis y colesterol. Tesis Doctoral, 1995.
- ³ Makino H, Ikeda S, Haramoto T, Ota Z: Heparan sulfate Proteoglycans are lost in patients with diabetic nephropathy. *Nephron* 1992; 61: 415-421.
- ⁴ Rodewald R, Karnosky MJ: Porous substructure of the glomerular slit diaphragm in the rat and mouse. *J. Cell Biol* 1974; 60: 423-433
- ⁵ Reiser J, Kriz W, Kretzler M, Mundel P: The glomerular slit diaphragm is a modified adherens junction. *J.Am Soc Nephrol* 2000; 1: 1-8
- ⁶ Smoyer WE, Mundel P: Regulation of podocyte structure during the development of nephrotic syndrome. *J.Mol Med* 1998; 76: 172-183
- ⁷ Mundel P, Shankland SJ: Glomerular podocytes and adhesive interaction with glomerular basement membrane. *Exp Nephrol* 1999; 7:160-166
- ⁸ Reiser J, Pixley FJ, Hug A, Kriz W, Smoyer WE, Stanley ER and Mundel P: Regulation of mouse podocyte process dynamics by protein tyrosine phosphatases. *Kidney Int* 2000; 57: 2035-2042
- ⁹ Wolthuis A, Goor HV, Weening JJ, Grond J: Pathobiology of focal sclerosis. *Current Opinion in Nephrology and hypertension* 1993; 2: 458-464
- ¹⁰ Savage C: The biology of the glomerulus: Endothelial cells 1994; 45: 314-319
- ¹¹ Kriz W, Elger M, Lemley K, Sakai T: Structure of the glomerular mesangium: A biochemical interpretation. *Kidney Int* 1990; 39: S2-S9
- ¹² Raij L, Keane W: Glomerular Mesangium: Its Function and Relationship to Angiotensin II. *Am J Med* 1985; 79 (suppl 3C): 24-30
- ¹³ Eng E, Floege J, Young BA, Couser WG, Johson RJ: Does extracellular matrix expansion in glomerular disease require mesangial cell proliferation? *Kidney Int* 1994; 45(suppl45): S45-S47

- ¹⁴ Rupperecht HD, Schöcklmann HO, Sterzel RB: Cell-matrix interactions in the glomerular mesangium. *Kidney Int* 1996; 49: 1575-1582
- ¹⁵ Davies M: The mesangial cell: A tissue view. *Kidney Int* 1994; 45: 320-327
- ¹⁶ Schlöndorff D: Roles of the mesangium in glomerular function. *Kidney Int* 1996; 49: 1583-1585
- ¹⁷ Floege J, Alpers CE, Burns MW, Pritzl P, Gordon K, Couser WG, Johnson RJ: Glomerular Cells, Extracellular Matrix Accumulation, and The Development of Glomerulosclerosis in The Remnant Kidney Model. *Lab Invest* 92,66:485-497
- ¹⁸ Johnson RJ, Raines E, Floege J, Yoshimura A, Pritzl P, Alpers C, Ross R: Inhibition of mesangial cell proliferation and matrix expansion in glomerulonephritis in the rat by antibody to platelet derived growth factor. *J Exp Med* 1992; 175: 1413-1416
- ¹⁹ Pippin JW, Qu Q, Meijer L, Shankland SJ: Direct in vivo inhibition of the nuclear cell cycle cascade in experimental mesangial proliferative glomerulonephritis with Roscovitine, a novel cyclin-dependent kinase agonist. *J Clin Invest* 1977; 100: 2512-2520
- ²⁰ Tarón M: Ciclo celular. *En: Manual de oncología clínica y molecular*. Rosell R, Abad A, Monzó M, Barnadas A (ed) Madrid, Ed Arán 2000; 49-57.
- ²¹ Shankland SJ: Cell cycle regulatory proteins in glomerular disease. *Kidney Int* 1999; 56: 1208-1215
- ²² Schöcklmann HO, Lang S, Sterzel B: Regulation of mesangial cell proliferation. *Kidney Int* 1999; 56: 1199-1207
- ²³ Wolf G, Sharma K, Chen Y, Ericksen M, Ziyadeh FN: High glucose-induced proliferation in mesangial cells is reversed by autocrine TGF- β . *Kidney Int* 1992; 42: 647-656.
- ²⁴ Romero R, Saladié JM: Esquemas clínicos-visuales en patología renal. Ed. J Uriach & Cia. Madrid, España 1996
- ²⁵ Hostetter Th, Oslon JL, Rennke HG, Venkatachala MA, Brenner BM: Hyperfiltration in remnant nephrons: A potentially adverse response to renal ablation. *Am J Physiol*, 1981; 241: F85-F93

-
- ²⁶ Rodríguez Pujol D, Praga M: Causas de insuficiencia renal crónica y sus mecanismos de progresión. *En: Nefrología clínica*. Henrando L. (Ed) Madrid, Editorial Médica Panamericana 1997; 294 -322
- ²⁷ Fogo AB: Current concepts in Glomerulosclerosis. *Am J Kid Dis* 1999; 35: liv-lvi
- ²⁸ Arbus GS. Baumal R: Focal Segmental Glomerulosclerosis. *En: Textbook of Nephrology (vol 1)*, editado por Massry SG, Glassock RJ, 2ed, USA, Williams &Wilkins, 1989, pp 634-638.
- ²⁹ Kriz W. The Role of the Podocyte in the Degeneration of a Renal Glomerulus. *En: Advances in Nephrology, Necker Hosp* 1997:1-27
- ³⁰ El Nahas M, Muchaneta-Kubara EC, Tamimi N, Goumenos D: Glomerulosclerosis: the role of interstitial myofibroblasts in its progression. *En: Current Topics in Pathology Vol 93*. Desmoulière B, Tuchweber B. Heidelberg 1999; 167-171
- ³¹ Ziyadeh FN: The Extracellular Matrix in Diabetic Nephropathy. *Am J Kid Dis* 1993; 22: 736-744
- ³² Ihm C-G, Lee GSL, Nast CC, Artishevsky A, Guillermo R, Levin PS, Glassock RJ, Alder SG: Early increased renal procollagen a (IV) mRNA levels in streptozotocin induced diabetes. *Kidney Int* 1992; 41: 768-777
- ³³ Churg J, Sobin LH: Renal Disease. Clasificación and atlas of glomerular diseases. Ed Igaku-Shoin. First Edition. Tokyo. New York 1982, pp226-238
- ³⁴ Martínez- Castelao A, Martín A L, Alvaro F. El riñón en las enfermedades metabólicas. *En: Nefrología clínica*. Henrando L. (Ed) Madrid, Editorial Médica Panamericana 1997; 294 -322
- ³⁵ Zatz: El riñón en la diabetes mellitus. *En: Tratado de Nefrología*. Maldonado MM, Rodicio JL, Acosta JH. Madrid, Ed Norma 1993; 671-684
- ³⁶ Wang S-N, LaPage J, Hirschberg R: Role of glomerular ultrafiltration of growth factors in progressive interstitial fibrosis in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2000; 57: 1002-1014
- ³⁷ Mulec H, Johnsen SA; Wiklund O, Blörck S: Cholesterol: A Renal Risk Factor in Diabetic Nephropathy? *Am J Kid Dis* 1993; 22: 196-201

- ³⁸ Pawluczyk IZ, Harris KP: Cholesterol feeding activates macrophages to upregulate rat mesangial cell fibronectin production. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15:161-166
- ³⁹ Guijarro C, Keane W: Lipid abnormalities and changes in plasma proteins in glomerular diseases and chronic renal failure. *Current Opinion in Nephrol and Hypertension* 1993; 2: 372-379
- ⁴⁰ Kasiske BL, O'Donnell MP, Schmitz PG, Kim Y, Keane WF: Renal injury of diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Kidney Int* 37; 1990: 880-891
- ⁴¹ Shohat J, Boner G: Role of lipids in the progression of renal disease in chronic renal failure: evidence from animal studies and pathogenesis. *Israel Journal of Medical Sciences* 1993; 29: 228-239
- ⁴² Kasiske LB, O'Donnell MP, Cleary MP, Keane WF: Treatment of hyperlipidemia reduces glomerular injury in obese Zucker rats. *Kidney Int* 1988; 33: 667-672
- ⁴³ Jandeleit-Dahm K, Cao Z, Cox AJ, Kellu DJ, Gilbert RE, Cooper ME: Role of hyperlipidemia in progressive renal disease: Focus on diabetic nephropathy. *Kidney Int* 1999; 56 (suppl 71): S31-S36
- ⁴⁴ Pawluczyk IZA, Harris KPG: Cholesterol feeding activates macrophages to upregulate rat mesangial cell fibronectin production. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 161-166
- ⁴⁵ Lee HS: Oxidized LDL, glomerular mesangial cells and collagen. *Diabetes Res Clin Pract* 1999; 45: 117-122
- ⁴⁶ Ishiyama A, Atarashi K, Minami M, Takagi M, Kimura K, Goto A, Omata M: Role of free radicals in the pathogenesis of lipid-induced glomerulosclerosis in rats. *Kidney Int* 1999; 55: 1348-1358
- ⁴⁷ Kaysen GA: Hyperlipidemia of the Nephrotic Syndrome. *Kidney Int* 1991; 31: S8-S15
- ⁴⁸ Radhakrishnan J, Appel AS, Valeri A, Appel GB: The nephrotic syndrome, lipids, and risk factors for cardiovascular disease. *Am J Kid Dis* 1993; 22:135
- ⁴⁹ Joven J, Villabona C, Vilella E et al: Abnormalities of lipoprotein metabolism in patients with nephrotic syndrome. *N Eng J Med* 1990; 323: 579.
- ⁵⁰ Baxter JH, Goodman HC, Allen JC: Effects of infusion of serum albumin on serum lipids and lipoproteins in nephrosis. *J Clin Invest* 1961; 40: 490

-
- ⁵¹ Demant T, Mathes C, Gutlich K, et al: A simultaneous study of the metabolism of apolipoprotein B and albumin in nephrotic patients. *Kidney Int* 1998; 54: 2064
- ⁵² Davies RW, Staprans I, Hutchison FN, Kaysen GA: Proteinuria, not altered albumin metabolism, affects hyperlipidemia in the nephrotic rat. *J Clin Invest* 1990; 86: 600
- ⁵³ Joles JA; Bijleveld C, van Tol A, et al: Plasma triglyceride levels are higher in nephrotic than in analbuminemic rats despite a similar increase in hepatic triglyceride secretion. *Kidney Int* 1995; 47: 566.
- ⁵⁴ Warwick GL, Packard CJ, Demant T: Metabolism of apolipoprotein B-containing lipoproteins in subjects with nephrotic-range proteinuria. *Kidney Int* 1991; 40: 129
- ⁵⁵ Reaven, GM: Role of insulin resistance in human diseases. *Diabetes* 1988; 34: 1595-1607
- ⁵⁶ Nakamura N, Yamada K. Studies on diabetic (KK) strain of the mouse. *Diabetologia* 1967; 3: 212-221
- ⁵⁷ Niniomiya H, Inomata T, Ogihara K: Glomerular vascular changes in KK-Ay mice with early diabetes: scanning electron microscopy of vascular resin casts. *J Vet Med Sci* 1998; 60: 130-106
- ⁵⁸ Veroni MC, Proietto J, Larkins RG: Evolution of insulin resistance in New Zealand obese mice. *Diabetes* 1991; 40: 1480-1487
- ⁵⁹ Bailey CV, Flatt PR, Radley NS: Effect of high fat and high carbohydrate cafeteria diets on the development of the obese hyperglycemic (ob/ob) syndrome in mice. *Nutr Res* 1985; 5: 1003-1010
- ⁶⁰ Chua SC, Chung WK, Wu-Peng XS, Zhang Y, Liu SM, Tartaglia L, Leibel RL: Phenotypes of mouse diabetes and rat fatty due to mutations in the OB (leptin) receptor. *Science* 1996; 271: 994-996
- ⁶¹ Coleman DL, Hummel KP: Hyperinsulinemia in pre-weaning diabetes (db) mice. *Diabetologia* 1977; 13: 26-26
- ⁶² Rosenmann E, Cohen AM: Nephropathy in Cohen's diabetic rat: characterization and prevention. In: Shafir E, Renold AE eds. *Lessons from animal diabetes*. John Libbey, London 1984; 398-401

- ⁶³ Cohen AM, Rosenmann E, Rosenthal T: The Cohen diabetic (non-insulin-dependent) hypertensive rat model. Description of the model and pathologic findings. *Am J Hypertens* 1993; 6: 989-995.
- ⁶⁴ Yagi K, Kim S, Wanibuchi H, Yamashita T, Yamamura Y, Iwao H: Characteristics of diabetes, blood pressure, and cardiac and renal complications in Otsuka Long-Evans Tokushima Fatty rats. *Hypertension* 1997; 29: 728-735
- ⁶⁵ Velasquez MT, Kimmel PL, Michaelis OE IV, Carswell N, Abraham A, Bosh JP: Effect of carbohydrate intake on kidney function and structure in SHR/N-cp rats. A new model of NIDDM. *Diabetes* 1989; 38: 679-685.
- ⁶⁶ Yamakawa T, Tanka S, Tamura K, Isoda F, Ukawa K, Yamakura Y, Takanashi Y, Kiuchi Y, Umemura S, Ishiura M, et al: Wistar fatty rat is obese and spontaneously hypertensive. *Hypertension* 1995; 25: 146-150.
- ⁶⁷ Ostenson CG, Khan A, Abdel-Halim SM, Guenifi A, Suzuki K, Goto Y, Efendie S: Abnormal insulin secretion and glucose metabolism in pancreatic islets from spontaneously diabetic GK rat. *Diabetologia* 1993; 36: 3-8
- ⁶⁸ Phillips A.O, Janssen U, Floege J: Progression of Diabetic nephropathy. *Kidney Blood Press Res* 1999; 22: 81-87
- ⁶⁹ Peterson RG, Shaw WN, Neel MA, Little LA, Eichberg J: Zucker Diabetic Fatty Rat as a Model for Non-insulin-dependent Diabetes Mellitus. *ILAR News* 1990; 32 (3)
- ⁷⁰ Bray GA: The Zucker-fatty rat: a review. *Federation Proceedings* 1977, 36: 148-153.
- ⁷¹ Kasiske BL, O'Donnell MP, Keane WF: The Zucker rat model of obesity, insulin resistance, hyperlipidemia and renal injury. *Hypertension* 1992, 19: I-110-I-115.
- ⁷² Kasiske BL, O'Donnell MP, Lee H, Kim Y, Keane WF: Impact of dietary fatty acid supplementation on renal injury in obese Zucker rats. *Kidney Int* 1991, 39: 1125-1134.
- ⁷³ Argilés JM: The obese Zucker rat: A choice for rat metabolism. 1968-1988: Twenty years of research on the insights of the Zucker mutation. *Prog lipid Res* 1989, 28: 53-66.

-
- ⁷⁴ Landgraf-Leurs MMC, Loy A, Christea C, Weber PC, Siess W, Herberg LL, Langraf R: Aggregation and tromboxane B₂ formation in platelets and vascular prostacyclin production from genetically obese rats. *Prostaglandins* 1981, 22: 521-536.
- ⁷⁵ Kamanna VS, Kirschenbaum MA: Association between very-low-density lipoprotein and glomerular injury in obese Zucker rats. *Am J Nephrol* 1993, 13:53-58
- ⁷⁶ Kasiske BL, O'Donnell MP, Keane WF: The obese Zucker rat model of chronic, progressive glomerular injury. Del libro: *Experimental and Genetic rat models of chronic renal failure*. Gretz N, Strauch M (eds). Basel, Karger 1993, pp 90-99.
- ⁷⁷ Paczec L, Teschner M, Schaefer RM, Heidland A: Intraglomerular fibronectin accumulation and degradation in obese Zucker rats. *Diabetologia* 1991, 34: 786-789.
- ⁷⁸ Kasiske BL, O'Donnell MP, Clearly MP, Keane WF: Effects of reduced renal mass on tissue lipids and renal injury in hyperlipidemic rats. *Kidney Int* 1989, 35: 40-47.
- ⁷⁹ Kasiske BL, O'Donnell MP, Clearly MP, Keane WF: Treatment of hyperlipidemia reduces glomerular injury in obese Zucker rats. *Kidney int* 1988, 33: 667-672.
- ⁸⁰ Klahr S, Schreiner G, Ichikawa I: The progression of renal disease. *New England Journal of Medicine* 1988, 25: 1657-1666
- ⁸¹ Klahr S, Schreiner G, Ichikawa I: The progression of renal disease. *New England Journal of Medicine* 1988, 25: 1657-1666
- ⁸² Rose BD: Secondary factors and progression of renal failure. *UpToDate* 2000; 8: No2
- ⁸³ Yoshida Y, Fogo A, Ichikawa I: Glomerular hemodynamic changes vs hypertrophy in experimental glomerular sclerosis. *Kidney Int* 1989; 35: 654-660
- ⁸⁴ Guevara MF, Acosta JH: Tratado de Nefrologia. En: "Mecanismos no inmunológicos de progresión de daño renal". Ed. Norma. 2ªEd. Madrid 1993; 661-670
- ⁸⁵ Wardle EN: Cellular Biology of Glomerulosclerosis. *Nephron* 1992; 61: 125-128
- ⁸⁶ Nath KA, Kren SM, Hostetter TH: Dietary protein restriction in established renal injury in the rat. Selective role of glomerular capillary pressure in progressive glomerular dysfunction. *J Clin Invest* 1986; 78: 1199-1205

- ⁸⁷ Mizuiri S, Miyuki M, Nakayashi T, Yoshikawa H, Miyagi M, Tanegashima M, Sakai K, Hayashi I, Fushimi T, Hasegawa A: Renal Angiotensin-Converting Enzyme Localization in Diabetic Rats and the Effect of Low Protein Diet. *Nephron* 1997; 76: 186-191
- ⁸⁸ Remuzzi G, Bertani T: Pathophysiology of Progressive Nephropathies. *The New England Journal of Medicine* 1998; 12: 1448-1456
- ⁸⁹ Fogo A: Glomerular hypertension, abnormal glomerular growth, and progression of renal diseases. *Kidney Int* 2000; 57 (suppl 75): S15-S21
- ⁹⁰ Klahr S, Schreiner G, Ichikawa I: The progression of renal disease. *New England Journal of Medicine* 1988, 25: 1657-1666
- ⁹¹ Wolf G, Ziyadeh FN: Molecular of diabetic renal hypertrophy. *Kidney Int* 1999; 56: 393-405
- ⁹² Pabst R y Sterzel RB: Cell renewal of glomerular cell types in normal rats: An autoraiographic analysis. *Kidney Int* 1983; 24: 626-631.
- ⁹³ Wolf G: Molecular mechanisms of renal hypertrophy: role of p27^{kip1}. *Kidney Int* 1999; 56: 1262-1265
- ⁹⁴ Wolf G, Ziyadeh F: Molecular mechanisms of diabetic renal hypertrophy. *Kidney Int* 1999; 56: 393-405
- ⁹⁵ ⁹⁵ Noronha IL, Niemir Z, Sstein H, Walderr R: Cytokines and growth factors in renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10-: 775-786
- ⁹⁶ Liu Y, Tolbert WM, Sun AM, Dworkin LD: In vivo and in vitro evidence for increased expression of HGF receptor in kidney of diabetic rats. *Am J Physiol* 1996; 271: F1202-F1210
- ⁹⁷ Liu Y: Hepatocyte growth factor promotes renal epithelial cell survival by dual mechanisms. *Am J Physiol (Renal Physiol 277)* 1999; F 624-F633.
- ⁹⁸ Gallego B, Lopez-Novoa JM, Barriocanal FP: Factores de crecimiento en la nefropatía diabética. *Nefrología* 1998; XVIII: 449-456
- ⁹⁹ Gospodarowicz D, Ferrara M, Schweigerer L, Neufeld G: Structural characterization and biological function of fibroblasts growth factor. *Endocrinol Rev* 1987; 8: 95-114

-
- ¹⁰⁰ Karpen CW, Spanheimer RG, Randolph AL, Lowe WL Jr: Tissue specific regulation of basic fibroblast growth factor mRNA levels by diabetes. *Diabetes* 1992; 41: 222-226
- ¹⁰¹ Nakamura T, Fukui M, Ebihar I, Osada S, Nagaoka I, Tomino Y, Koide H: mRNA expression of growth factors, in glomeruli from diabetic rats. *Diabetes* 1993; 42: 450-456
- ¹⁰² Nakamura T, Fukui M, Ebihar I, Osada S, Nagaoka I, Tomino Y, Koide H: mRNA expression of growth factors, in glomeruli from diabetic rats. *Diabetes* 1993; 42: 450-456
- ¹⁰³ Tipping PG, Leong TW, Holdworth SR: Tumor necrosis factor production by glomerular macrophages in anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis in rabbits. *Lab Invest* 1991; 65: 272-279
- ¹⁰⁴ Williams B, Gallacher B, Patel H, Orme C: Glucose-induce protein kinase C activation regulates vascular permeability factor mRNA expression and peptide production by human vascular smooth muscle cells in vitro. *Diabetes* 1997; 46: 1497-1503
- ¹⁰⁵ Hovind P, Tarnow L, Oestergaard PB, Parving H: Elevated vascular endothelial growth factor in type 1 diabetic patients with diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2000; 57 (*suppl* 75): S56-S61
- ¹⁰⁶ Masson et al: *Jam Soc Nephrol* 1997; 8: 642A
- ¹⁰⁷ Gupta S, Clarkson MR, Duggan J, Bandy HR: Connective tissue growth factor: Potential role in glomerulosclerosis and tubulointerstitial fibrosis. *Kidney Int* 2000; 58: 1389-1399
- ¹⁰⁸ Wayne A., Border and Noble N.A: TGF- β in Kidney fibrosis: A target for gene therapy. *Kidney Int.* 1997; 51: 1388-1396
- ¹⁰⁹ Border WA, Noble N: Evidence that TGF- β should be a therapeutic target in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 1998; 54: 1390-1391
- ¹¹⁰ Munger JS, Harpel JG, Gleizes PE, Mazzieri R, Nunes I, Rifkin DB: Latent transforming growth factor- β : Structural features and mechanisms of activation. *Kidney Int* 1997; 51: 1376-1382
- ¹¹¹ Floege J, Topley N, Resh K: Regulation of mesangial cell proliferation. *Am J Kid Dis* 1991; 17: 673-676
- ¹¹² Massagué J: Receptors for the TGF- β Family. *Cell* 1992; 69: 1067-1070

- ¹¹³ Wara JL, Attisano L, Wieser R, Ventura F, Massagué J: Mechanism of activation of the TGF-receptor. *Nature* 1994; 370: 341-347
- ¹¹⁴ Heldin C, Miyazono K, Dijke P: TGF signalling from cell membrane to nucleus through SMAD proteins. *Nature* 1997; 390: 465-471
- ¹¹⁵ Wrana JL, Attisano L, Cárcamo J, Zentella Z, Doody J, Laiho M, Wang XF, Massagué: TGF-Signals through a Heteromeric Protein Kinase Receptor Complex. *Cell* 1992; 71: 1003-1014.
- ¹¹⁶ Sharma K, McGowan T: TGF- in diabetic kidney disease: role of novel signaling pathways. *Cytokine & Growth Factors Reviews* 2000; 11: 115-123
- ¹¹⁷ Sharma K, McGowan T: TGF- in diabetic kidney disease: role of novel signaling pathways. *Cytokine & Growth Factors Reviews* 2000; 11: 115-123
- ¹¹⁸ Benito M, Lorenzo M: Platelet-derived growth factor/tyrosine receptor mediated proliferation. *Growth Regulation* 1993; 3: 172-179
- ¹¹⁹ Floege J, Topley N, Resh K: Regulation of mesangial cell proliferation. *Am J Kidney Dis* 1991; 17: 637-676.
- ¹²⁰ Nister M, Hammacher A, Mellstrom K, et al: A glioma derived Pdgf α chain homodimer has different functional activities from PDGFAB heterodimer purified from human platelets. *Cell* 1988; 52: 791-799.
- ¹²¹ Heldin C-H: Structural and functional studies of platelet-derived growth factor. *EMBO J* 1992; 11: 4251-4259
- ¹²² Westermark B, Sorg C: Biology of Platelet-Derived Growth Factor *in* *Cytokines*, edited by Westermark C, Sorg C, Basel S, Karger AG; 1993: 5: 31-43
- ¹²³ Wesson L.G: Physical Factors and Glomerulosclerosis. Cause or Coincidence? *Nephron* 1998; 78:125-1.
- ¹²⁴ Ruiz-Ortega M, Egido J: Angiotensin II modulates cell growth-related events and synthesis of matrix proteins in renal interstitial fibroblasts. *Kidney Int* 1997; 52: 1497-1510
- ¹²⁵ Taal MW, Brenner BM: Renoprotective benefits of RAS inhibition: From ACEI to angiotensin II antagonists. *Kidney Int* 2000; 57: 1803-1817

-
- ¹²⁶ Border WA, Noble NA: Interactions of Transforming Growth Factor- and Angiotensin II in Renal Fibrosis. *Hypertension* 1998; 31(part 2): 181-188.
- ¹²⁷ Border WA, Noble NA: Interactions of Transforming Growth Factor- and Angiotensin II in Renal Fibrosis. *Hypertension* 1998; 31(part 2): 181-188.
- ¹²⁸ Kagami S, Border WA, Miller DE, Noble NA: Angiotensin II stimulates extracellular matrix protein synthesis through induction of transforming growth factor- expression in rat glomerular mesangial cell. *J Clin Invest* 1994; 2431-2437
- ¹²⁹ Veniant M, Menard J, Bruneval P, Morley S, Gonzales MS, Mullins J: Vascular damage without hypertension in transgenic rats expressing prorenin exclusively in the liver. *J Clin Invest* 1996; 98: 1996-1970.
- ¹³⁰ Kelly FJ, Thompson MM, Oyama TT, Ledbetter SR, Pratt BM, Anderson S: Recombinant human TGF- 2 in the volumen depleted rat: *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 603 A. Abstract
- ¹³¹ Gupta P, Franco-Saenz R, Gentry LE, Mulrow PJ: Transforming growth factor b1 inhibits aldosterone and stimulates adrenal renin in cultured bovine zona glomerulosa cells. *Endocrinology* 1992; 131: 631-636
- ¹³² Greene EL, Kren S, Hostetter TH: Role of aldosterone in the rennant kidney model in the rat. *J Clin Invest* 1996; 98: 1063-1068
- ¹³³ Peters H, Border WA, Noble NA: Therapeutic reduction of TGF- and matrix proteins in thy 1-induced glomerulonephritis is enhance by angiotensin blockade at higher doses and further enhanced by addition of low protein diet. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 524A Abstract
- ¹³⁴ Kagami S, Border WA, Miller DE, Noble NA: Angiotensin II stimulates extracellular matrix protein synthesis though induction of transforming growth factor-b expression in rat glomerular mesangial cell. *J Clin Invest* 1994; 2431-2437
- ¹³⁵ Border WA, Noble NA: Interactions of Transforming Growth Factor- and Angiotensin II in Renal Fibrosis. *Hypertension* 1998; 31(part 2): 181-188
- ¹³⁶ Border WA, Noble NA: Interactions of Transforming Growth Factor- and Angiotensin II in Renal Fibrosis. *Hypertension* 1998; 31(part 2): 181-188.

- ¹³⁷ Veniant M, Menard J, Bruneval P, Morley S, Gonzales MS, Mullins J: Vascular damage without hypertension in transgenic rats expressing prorenin exclusively in the liver. *J Clin Invest* 1996; 98: 1996-1970.
- ¹³⁸ Nguyen G, Delarue F, Berrou J, Rondeau E, Sraer J-D: Specific receptor binding of renin on human mesangial cells in culture increases plasminogen activator inhibitor-1 antigen. *Kidney Int* 1996; 50: 1897-1903
- ¹³⁹ Leehey DJ, Singh AK, Alavi N, Singh R: Role of angiotensin II in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2000; 58 (suppl 77): S93-S98
- ¹⁴⁰ Weiss RH, Ramirez A: TGF- β and angiotensin-II-induced mesangial matrix protein secretion is mediated by protein kinase C. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 2804-2813
- ¹⁴¹ Lee LK, Meyer TW, Pollock AS, Lovett DH: Endothelial injury initiates glomerular sclerosis in the rat remnant kidney. *J Clin Invest* 1995; 96: 953
- ¹⁴² Brunner HR: ACE inhibitors in renal disease. *Kidney Int* 1992; 42: 463-479
- ¹⁴³ Remuzzi A, Puntorieri S, Battaglia C, Bertani T, Remuzzi G: Angiotensin converting enzyme inhibition ameliorates glomerular filtration of macromolecules and water and lessens glomerular injury in the rat. *J Clin Invest* 1990; 85: 541-549
- ¹⁴⁴ Nakamura T, Takahashi T, Fukui M, Ebihara I, Osada S, Tomino Y, Koide H: Enalapril attenuates increased gene expression of extracellular matrix components in diabetic rats. *J Am Soc Nephrol* 1995; 5: 1492-1497
- ¹⁴⁵ Bakris GL, Re RN: Endothelin modulates angiotensin II-induced mitogenesis of human mesangial cells. *Am J Physiol* 1993; 264: F937-F942
- ¹⁴⁶ Taal MW, Brenner BM: Renoprotective benefits of RAS inhibition: From ACEI to angiotensin II antagonists. *Kidney Int* 2000; 57: 1803-1817
- ¹⁴⁷ Robert S, Rosenson MD: Lipoprotein classification; metabolism; and role in atherosclerosis. *UpToDate* vol 7 No2
- ¹⁴⁸ Bnaa KH y Thelle DS: Association between blood pressure and serum lipids in a population: The Troms Study. *Circulation* 1991; 83: 1305-1314

-
- ¹⁴⁹ Koletsky S: Pathologic findings and laboratory data in a new strain of obese hypertensive rats. *Am J Pathol* 1975; 80: 129-142
- ¹⁵⁰ Salomen JT, Salomen R, Ihanainen M, et al: Blood pressure, dietary fats, and antioxidants. *Am J Clin Nutr* 1988; 48: 1226-1230
- ¹⁵¹ Kasiske BL, O'Donnell MP, Gravis WJ, Keane WF: Pharmacologic treatment of hyperlipidemia reduces glomerular injury in rats 5/6 nephrectomy model of chronic renal failure. *Circ Rec* 1988; 62: 367-374.
- ¹⁵² Raij L, Azar S, Keane WF: Role of hypertension in progressive glomerular immune injury. *Hypertension* 1985; 7: 398-404
- ¹⁵³ Kasiske BL, O'Donnell MP, Schmitz PG, Kim Y, Keane WF: Renal injury of diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Kidney Int* 37; 1990: 880-891
- ¹⁵⁴ Kasiske BL, O'Donnell MP, Gravis WJ, Keane WF: Pharmacologic treatment of hyperlipidemia reduces glomerular injury in rat 5/6 nephrectomy model of chronic renal failure. *Circ Rec* 1988; 62: 367-374.
- ¹⁵⁵ Keane WF, Mulcahy WS, Kasiske BL, Kim Y, O'Donnell MP: Hyperlipidemia and progressive renal disease. *Kidney Int* 1991; 39 (*suppl* 31): S41-S48
- ¹⁵⁶ Kasiske BL, O'Donnell MP, Schmitz PG, Youngki Y, Keane WF: Renal injury of diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Kidney Int* 1990; 880-891
- ¹⁵⁷ Wanner C, Greiber S, Krämer-Guth A, Heinloth A, Galle J: Lipids and progression of renal disease: Role of modified low density lipoprotein and lipoprotein(a). *Kidney Int* 1997; 52 (*suppl* 63): S102-S106
- ¹⁵⁸ Lynn EG, Siow YL, Karmin O: Very low-density lipoprotein stimulates the expression of monocyte chemoattractant protein-1 in mesangial cells. *Kidney Int* 2000; 57: 1472-1483
- ¹⁵⁹ Moorehead JF: Lipids and progressive kidney disease. *Kidney Int* 1991; 39 (*suppl* 31): S35-S40
- ¹⁶⁰ Ishiyama A, Atarashi K, Minami M, Takagi M, Kimura K, Goto A, Omata M: Role of free radicals in the pathogenesis of lipid-induced glomerulosclerosis in rats. *Kidney Int* 1999; 55: 1348-1358

- ¹⁶¹ Quinn MT, Parthasarathy S, fong LG, Steinberg D: Oxidatively modified low density lipoproteins: a potencial role in recruitment and retention of monocyte/macrophages during atherogenesis. Proc Natl Acad Sci USA 1987; 48: 2995-2998
- ¹⁶² Kamanna VS, Pai R, Ha H, Kirschenbaum MA, Roh DD: Oxidized low-density lipoprotein stimulates monocyte adhesion to glomerular endotelial cells. Kidney Int 1999; 55: 2192-2202
- ¹⁶³ Ding G, Goor HV, Ricardo SD, Orlowski JM, Diamond JR: Oxided LDL stimulates the expression of TGF- and fibronectin in human glomerular ephitelial cells. Kidney Int 1997; 51: 147-154.
- ¹⁶⁴ Lee HS, Kim BC, Kim YS, Choi KH, Chung HK: Involvement of oxidation in LDL-induced collagen gene regulation in mesangial cells. Kidney Int 1996; 50: 1582-1590
- ¹⁶⁵ Lee HS: Oxided LDL, glomerular mesangial cells and collagen. Diabetes Res Clin Pract 1999; 45: 117-122
- ¹⁶⁶ Galle J, Heermeier K, Wanner C: Atherogenic lipoproteins, oxidative stress, and cell death. Kidney Int 1999; 71 (*suppl jul*): S62-S65
- ¹⁶⁷ Rahman MM, Varghese Z, Fuller BJ, Moorhead JF: Reanl vasoconstriction induced by oxidized LDL is inhibite by scavengers of reactive oxigen species and L-arginine. Clin Nephrol 1999; 51: 98-107
- ¹⁶⁸ Ruan XZ, Varghese ZV, Powis SH, Moorhead JF: Human mesangial cells express inducible macrophage scavenger receptor. Kidney Int 1999; 56: 440-451.
- ¹⁶⁹ Nishida Y, Oda H, Yorioka N: Effect of lipoproteins on mesangial cell proliferation. Kidney Int 1999; 56 (*suppl 71*): S51-S53.
- ¹⁷⁰ Chana RS, Wheeler DC, Thomas GJ, Williams JD, Davies M: Low-density lipoprotein stimulates mesangial cell proteoglican and hyaluronan synthesis. Nephrol Dial Transplant 2000; 15: 167-172.
- ¹⁷¹ Nishida Y, Oda H, Yorioka N: Effect of lipoproteins on mesangial cell proliferation. Kidney Int 1999; 56 (*suppl 71*): S51-S53.
- ¹⁷² Moorhead JF: Lipids and progressive kidney disease. Kidney Int 1991; 39 (*suppl 31*): S35-S40.

-
- ¹⁷³ Wanner C, Greiber S, Krämer-Guth A, Heinloth A, Galle J: Lipids and progression of renal disease: Role of modified low density lipoprotein and lipoprotein (a). *Kidney Int* 1997; 52(suppl 63): S102-S 106.
- ¹⁷⁴ Bellosta S, Ferri N, Bernini F, Paoletti R, Corsini A: Non-lipid-related effects of statins, *Ann Med* 2000; 32: 164-176
- ¹⁷⁵ Wheeler DC: Statins and the kidney. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 1998; 7: 579-584
- ¹⁷⁶ Kim SY, Guijarro C, O'Donnell MP, Kasiske BL, Kim Y, Keane W: Human mesangial cell production of monocyte chemoattractant protein-1: Modulation by lovastatin. *Kidney Int* 1995; 48: 363-371.
- ¹⁷⁷ Kleinveld HA, Demacker PNM, De Haan AFJ, Stalenhoef AFH: Decreased in vitro oxidizability of low-density lipoprotein in hypercholesterolemic patients treated with 3-hydroxy-3methylglutaryl-CoA reductase inhibitors. *Eur J Clin Invest* 1993; 23: 289-295
- ¹⁷⁸ Giroux LM, Davignon J, Naruszewicz M: Simvastatin inhibits the oxidation of low-density lipoproteins by activated human monocyte-derived macrophages. *Biochim Biophys Acta* 1993; 1165: 335-338
- ¹⁷⁹ Wagner Ah, Köhler T, Rückschloss U, Just I, Hecker M: Improvement of nitric oxide-dependent vasodilatation by HMG-CoA reductase inhibitors through attenuation of endothelial superoxide anion formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 61-69
- ¹⁸⁰ Aviram M, Hussein O, Rosenblat M, Schlezinger S, Hayek T, Keidar S: Interactions of platelets, macrophages, and lipoproteins in hypercholesterolemia: antiatherogenic effects of HMG-CoA reductase inhibitor therapy. *J Cardiovasc Pharmacol* 1998; 31: 39-45
- ¹⁸¹ Sumura K, Yasuhara M, Tanaka K, Suzuki T: Protective effect of fluvastatin sodium (XU-62-320), a 3-hydroxy-3methylglutaryl-CoA (HMG-CoA) reductase inhibitor, on oxidative modification of human low-density lipoprotein in vitro. *Biochem Pharmacol* 1999; 57: 697-703
- ¹⁸² Jeserich M, Münzel T, Just H, Drexler H: Reduced plasma L-arginine in hypercholesterolemia. *Lancet* 1992; 339: 561

- ¹⁸³ Laufs U, La Fata V, Plutzky J, Liao JK: Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG-CoA reductase inhibitors. *Circulation* 1998; 97: 1129-1135
- ¹⁸⁴ Wagner Ah, Köhler T, Rückschloss U, Just I, Hecker M: Improvement of nitric oxide-dependent vasodilatation by HMG-CoA reductase inhibitors through attenuation of endothelial superoxide anion formation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20: 61-69
- ¹⁸⁵ Rouillet JB, Xue H, Papú AS, Rouillet C, Holcomb S, McCarron DA: Mevalonate availability and cardiovascular functions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1993; 90: 11728-11732
- ¹⁸⁶ Keane WF: The role of lipids in renal disease: Future challenges. *Kidney Int* 2000; S75: S27-S31
- ¹⁸⁷ Kasiske B, O'Donnell MP, Kim Y, Atluru D and Keane WF: Cholesterol synthesis inhibitors inhibit more than cholesterol synthesis. *Kidney Int* 1994; S45: S51-S53
- ¹⁸⁸ Le Quan Sang KH, Levenson J, Megnien JL, Simon A, Devynck MA: Platelet cytosolic Ca²⁺ and membranes dynamics in patients with primary hypercholesterolemia: effects of pravastatin. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995; 15: 759-764
- ¹⁸⁹ Dangas G, Badimon JJ, Smith DA, Unger AH, Levine D, Shao JH, et al: Pravastatin therapy in hyperlipidemia: effects on thrombus formation and the systemic hemostatic profile. *J Am Coll Cardiol* 1999; 33: 1294-1304
- ¹⁹⁰ Siperstein MD, UIDE AM, Morris HP: Loss of feedback control of hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase in hepatomas. *Proc Natl Acad Sci USA* 1971; 68: 315-317
- ¹⁹¹ Jones DB: Glomerulonephritis. *Am J Patol* 1953; 29: 33-43
- ¹⁹² Segerer S, Nelson PJ, Schlöndorff D: Chemokines, Chemokine Receptors, and Renal Disease: From Basic Science To Pathophysiologic and Therapeutic Studies. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 152-176
- ¹⁹³ Baggiolini M: Chemokines and leucocyte traffic. *Nature* 1998; 392. 565-1808
- ¹⁹⁴ Banas B, Wenzel U, Stahl RAK, Schöndorff D: Role of Chemokines in Glomerular Disease. *Kidney Blood Press Res* 1996; 19: 270-280.

-
- ¹⁹⁵ Romagnani P, Beltrame C, Annunziato F, Lasagni L, Lucomi M, Galli G, Cosmi L, Maggi E, Salvadori M, Pupilli C, Serio M: Role for interactions between IP-10/MIG and CXCR3 in proliferative glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 2518-2526
- ¹⁹⁶ Segerer S, Nelson PJ, Schlöndorff: Chemokines, Chemokine Receptors, and Renal Disease: From Basic Science To Pathophysiologic and Therapeutic Studies. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 152-176
- ¹⁹⁷ Massy ZA, Guijarro C, O'Donnell MP, Kim Y, Kashtan CE, Egido J, Kasiske BL, Keane WF: The central role of nuclear factor-kB in mesangial cell activation. *Kidney Int* 1999; 56 (suppl 71): S76-S79
- ¹⁹⁸ Egido J, Hernández-Presa MA, Tuñón J, Blanco-Colio LM, Ortego M, Suzuki Y, Plaza J, Guijarro C: El factor de transcripción kB (NF-kB) y las enfermedades cardiovasculares. *Cardiovascular Risk Factors* 2000; 9: 92-103.
- ¹⁹⁹ Kasiske BL, O'Donnell MP, Cleary MP and Keane WF: Treatment of hyperlipidemia reduces glomerular injury in obese Zucker rats. *Kidney Int* 1988; 33: 667-672.
- ²⁰⁰ Ikeda M, Ikeda U, Ohara T, Kusano E, Kano S: Recombinant interleukin-6 inhibits the growth of rat mesangial cell in culture. *Am J Pathol* 1992, 141: 327-324
- ²⁰¹ Higuero S and Romero R: Angiotensin II requires PDGF-BB to induce DNA synthesis in rat mesangial cells cultured in an exogenous insulin-free medium. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 694-700.
- ²⁰² Floege J, Topley N, Resh K: Regulation of mesangial cell proliferation. *Am J Kidney Diseases* 1991, 17: 673-676.
- ²⁰³ Avila J.T, Vara A.M et al: Análisis del DNA II: Clonar, secuenciar y PCR. *NEFROLOGIA* 1993; XIII:267-279
- ²⁰⁴ James N. Jarvis, Liangping Deng, Stanley M. Berry, Roberto Romero, Heide Moore: Fetal Cytokine Expression In Utero Detected by Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction. *Pediatric Research* 1995, 37: 450-454.
- ²⁰⁵ Shankland S.J, Scholey J.W. et al: Expression of transforming growth factor- 1 during diabetic renal hypertrophy. *Kid Int* 1994; 46: 430-442

- ²⁰⁶ Akai Y, Iwano M et al: Intraglomerular expressions of IL-1 and platelet-derived growth factor (PDGF-B) mRNA in experimental immune complex-mediated glomerulonephritis. *Clin Exp Immunol* 1994; 95: 29-34.
- ²⁰⁷ Peten E, Striker J. L. et al: The contribution of Increased Collagen Synthesis to Human Glomerulosclerosis: A Quantitative Analysis of $\alpha 2(\text{IV})$ Collagen mRNA Expression by competitive Polymerase Chain Reaction. *J Exp Med* 1992; 176: 1571-1576
- ²⁰⁸ Gilliland G, Perrin S et al: Competitive PCR for quantitation of mRNA. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. San Diego: Academic Press, 1990: 60-69.
- ²⁰⁹ Kasiske BL, O'Donnell MP, Schmitz PG, Kim Y, Keane WF: Renal injury of diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Kidney Int* 1990; 37: 880-891.
- ²¹⁰ French JW, Yamanaka BS, Ostwald R: Dietary induced glomerulosclerosis in the guinea pig. *Arch Pathol* 1967; 83: 204-220.
- ²¹¹ Kasiske BL, O'Donnell MP, Cowardin W, Keane WF: Lipids and the kidney. *Hypertension* 1990; 15: 443-450.
- ²¹² Hirano T: Lipoprotein abnormalities in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 1999; 56 (*suppl* 71): S22-S24
- ²¹³ Higuero S, Vaquero M, Pastor C, Galimany R, Romero R: Fosinopril ameliorates exogenous cholesterol-induced incipient glomerular lesions in obese Zucker rats. Effects on eicosanoid secretion. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 2227-2233.
- ²¹⁴ Romero R, Higuero S, Vaquero M, Biosca C, Martínez-Ocaña JC, Pastor C: Effects of polyunsaturated acids on rat glomerulosclerosis induced by hypercholesterolaemic diet. *Res Exp Med* 1998; 198: 1-10.
- ²¹⁵ Jandeleit-Dahm K, Cao Z, Cox AJ, Kelly DJ, Gilbert RE, Cooper ME: Role of hyperlipidemia in progressive renal disease: Focus on diabetic nephropathy. *Kidney Int* 1999; 56 (*suppl* 71): S31-S36.
- ²¹⁶ Reddi AS, Ramamurthi R, Miller M, Dhuper S, Lasker N: Enalapril improves albuminuria by preventing glomerular loss of heparan sulfate in diabetic rats. *Biochemical Medicine and Metabolic Biology* 1991; 45: 119-131

²¹⁷ Gretz N, Strauch M (eds): Experimental and Genetic Rat Models of Chronic Renal Failure. Basel, Kager, 1993, pp90-99

²¹⁸ Jandeleit-Dahm K, Cao Z, Cox AJ, Kelly DJ, Gilbert RE, Cooper ME: Role of hyperlipidemia in progressive renal disease: Focus on diabetic nephropathy. *Kidney Int* 1999; 56 (Suppl 71): S31-S36

²¹⁹ Kasiske LB, O' Donnell MP, Keane F: The Zucker rat model of obesity, insulin resistance, hyperlipidemia and renal injury. *Hypertension* 1992; 19 (Suppl 1): I110-I115

²²⁰ Michel O, Heudes D, Lamarre I, Masurier C, Lavau M, Bariety J, Chevalier J: Reduction of insulin and triglycerides delays glomerulosclerosis in obese Zucker rats. *Kidney Int* 1997; 52: 1532-1542.

²²¹ Gades MD, Goor HV, Kaysen GA, Johnson PR, Horwitz BA, Stern JS: Brief periods of hyperphagia cause renal injury in the obese Zucker rat. *Kidney Int* 1999; 56: 1779-1787.

²²² Scheuer H, Gwinner W, Hohbach J, Grone EF, Brandes RP, Malle E, Olbricht CJ, Walli AK, Grone HJ: Oxidant stress in hyperlipidemia-induced renal damage. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 278 (1): F63-74.

²²³ Kaysen GA, Stevenson FT: Hyperlipidemia and renal disease: the use of animal models in understanding pathophysiology and approaches to treatment. *Wien Klim Wochenschr* 1999; 111/8: 307-314.

²²⁴ Keane WF, Mulcahy WS, Kasiske BL, Kim Y, O'Donnell MP: Hyperlipidemia and progressive renal disease. *Kidney Int* 1991; 39 (suppl 31): S41-S48.

²²⁵ Fabris B, Candido R, Armini L, Fischetti F, Calci M, Bardelli M, Fazio M, Campanacci L, Carretta R:

Control of glomerular hyperfiltration and renal hypertrophy by an angiotensin converting enzyme inhibitor prevents the progression of renal damage in hypertensive diabetics rats. *J Hypert* 1999; 17: 1925-1931.

²²⁶ Reddi AS, Ramamurthi R, Miller M, Dhuper S, Lasker N: Enalapril improves albuminuria by preventing glomerular loss of heparan sulfate in diabetic rats. *Biochemical Medicine and Metabolic Biology* 1991; 45: 119-131.

- ²²⁷ Keane WF, Mulcahy WS, Kasiske BL, Kim Y, O'Donnell MP: Hyperlipidemia and progressive renal disease. *Kidney Int* 1991; 39 S(31): S41-S48.
- ²²⁸ Higuero S, Romero R: Comparative effects of pravastatin-induced DNA synthesis on serum-stimulated synchronized and proliferative rat mesangial cells. *Pharmacological Research* 1996; 34: 117-120.
- ²²⁹ Keane WF: The role of lipids in renal disease: Future challenges. *Kidney Int* 2000; 57 (S75): S27-S31
- ²³⁰ Oda H and Keane WF: Recent advances in statins and the kidney. *Kidney Int* 1999; S56: S2-S5
- ²³¹ Kasiske B, O'Donnell MP, Kim Y, Atluru D and Keane WF: Cholesterol synthesis inhibitors inhibit more than cholesterol synthesis. *Kidney Int* 1994; S45: S51-S53
- ²³² Yosimura A, Nemoto T, Sugeno Y, Inui K, Watanabe S, Inoue Y, Sharif S, Hyokota N, Uda S, Morita H, Ideura T: Effect of simvastatin on proliferative nephritis and cell-cycle protein expression. *Kidney Int Suppl* 1999; 71: S84-S87
- ²³³ Guijarro C, Blanco-Colio LM, Massy ZA, O'Donnell MP, Kasiske BL, Keane WF, Egido J: Lipophilic statins induce apoptosis of human vascular smooth muscle cells. *Kidney Int* 1999; 56(S71): S88-S91
- ²³⁴ Park Y-S, Guijarro C, Kim Y, Massy ZA, Kasiske BL, Keane WF, O'Donnell MP: Lovastatin Reduces Glomerular Macrophage Influx and Expression of Monocyte Chemoattractant Protein-1 mRNA in Nephrotic Rats. *AmJ Kid Dis* 1998; 31: 190-194
- ²³⁵ Remuzzi G, Bertani T: Pathophysiology of Progressive Nephropathies. *The New England Journal of Medicine* 1998; 12: 1448-1456
- ²³⁶ Hoy WE, Mathews JD, McCredie DA, Pugsley DJ, Hayhurst BG, Ress M, Kile E, Walker KA, Wang Z: The multidimensional nature of renal disease: Rates and associations of albuminuria in an Australian Aboriginal community. *Kidney Int* 1998; 54: 1296-1304
- ²³⁷ Klahr S, Brunskill N: Mechanisms of progressive renal failure. *En el libro: Prevention of Progressive Chronic Renal Failure*. El Nahas AM, Mallick NP, Anderson S (eds) Oxford University Press 1993, pp15-17

-
- ²³⁸ Endlich N, Kress KR, Reiser J, Uttenweiler D, Kriz W, Mundel P, Endlich K: Podocytes Respond to Mechanical Stress In Vitro. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 413-422.
- ²³⁹ Blomm W, Fawcett DW (1975) A textbook of histology, 10 th edn. Sanders, Philadelphia, pp1-1033
- ²⁴⁰ Yaiota E, Franke WW, Yamamoto T, Kawasaki K, Kihara I: Identification of renal podocytes in multiple species: higher vertebrates are vimentin positive/lower vertebrates are desmin positive. *Histochem Cell Biol* 1999; 111: 107-115
- ²⁴¹ Yaiota E, Kawasaki K, Yamamoto T, Kihara I: Variable expression of desmin in rat glomerular epithelial cells. *Am J. Pathol.* 1990; 4: 899-908
- ²⁴² Floege J, Hackmann B, Kliem V, Kriz W, Alpers CE, Johnson RJ, Kühn KW, Koch KM, Brunkhorst R: Age-related glomerulosclerosis and interstitial fibrosis in Milan normotensive rats: A podocyt disease. *Kidney Int* 1997; 51: 230-243
- ²⁴³ Pagtalunan ME, Miller PL, Jumping-Eagle S, Nelson RG, Myers BD, Rennke HG, Coplon NS; Sun L, Meyer TW: Podocyte loss and progressive glomerular injury in type II diabetes. *Journal Clinical Investigation* 1997; 99: 342-348.
- ²⁴⁴ Meyer TW, Bennett PH, Nelson RG: Podocyte number predicts long-term urinary albumin excretion in Pima Indians with Type II diabetes and microalbuminuria. *Diabetologia* 1999; 42: 1341-1344.
- ²⁴⁵ Joles JA, Kunter U, Janssen U, Kriz W, Rabelink TJ, Koomans HA, Floege J: Early Mechanisms of Renal Injury in Hypercholesterolemic or Hypertriglyceridemic Rats. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 669-683
- ²⁴⁶ Henger A, Huber T; Fischer K-G, Nitschke R, Mundel P, Schollmeyer P, Greger R, Pavenstädt: Angiotensin II increase the cytosolic calcium activity in rat podocytes in culture. *Kidney Int* 1997; 52: 687-693
- ²⁴⁷ Regele HM, Fillipovic E, Langer B, Poczewski H, Krawxberger I, Bittner RE, Kerjaschki D: Glomerular Expression of Dystroglycans Is Reduced in Minimal Change Nephrosis But not in Focal Segmental Glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 403-112.

- ²⁴⁸ Reeves WB, Andreoli ET: Transforming Growth Factor β contributes to progressive diabetic nephropathy. PNAS 2000; 97: 7667-7669
- ²⁴⁹ Sharma K, McGowan TA: TGF- β in diabetic kidney disease: role of novel signaling pathways. Cytokine & Growth Factors Reviews 2000; 11: 115-123
- ²⁵⁰ Jassen U, Phillips AO, Floege J: Rodent models of nephropathy associated with type II diabetes. J Nephrol 1999; 12: 159-172
- ²⁵¹ Ziyadeh FN, Hoffman BB, Han DC, Iglesias-de la Cruz MC, Hong SW, Isono M, Chen S, McGowan TA, Sharma K: Long-term prevention of renal insufficiency, excess matrix gene expression, and glomerular mesangial matrix expansion by treatment with monoclonal antitransforming growth factor- β in db/db diabetic mice. PCNA 2000; 97: 8015-8020
- ²⁵² Yamabe H, Osawa H, Kaizuba M, Tsunoda S, Shirato K, Tateyama F, Okumura K: PDGF, bFGF, and INF- γ increase type IV collagen production in human fetal mesangial cells via a TGF- β dependent mechanism
- ²⁵³ Phillips AO, Jassen U, Floege J: Progression of Diabetic Nephropathy. Kidney Blood press Res 1999; 22:81-97
- ²⁵⁴ Nabokov A, Waldherr R, Ritz E: Demonstration of the Proliferation Marker Ki-67 in Renal Biopsies: Correlation to Clinical Findings. Am J Kid Dis 1997; 30: 87-97
- ²⁵⁵ Ihn G-C: Monocyte chemotactic peptide-1 in diabetic nephropathy. Kidney Int 1997; 52 (S60): S20-S22
- ²⁵⁶ Sterzel RB, Schulze-Lohoff E and Marx M: Cytokines and mesangial cells. Kidney Int 1993; S39: S26-S31
- ²⁵⁷ Mezzano SA, Droguett MA, Burgos ME, Ardiles LG, Aros CA, Caorsi I, Egidio J: Overexpression of chemokines, fibrogenic cytokines, and myofibroblasts in human membranous nephropathy. Kidney Int 2000; 57: 147-158
- ²⁵⁸ Massy ZA, Guijarro C, O'Donnell MP, Kim Y, Kashtan CE, Egidio J, Kasiske BL, Keane WF: The central role of nuclear factor-kB in mesangial cell activation. Kidney Int 1999; 56 (S71); S76-S79

-
- ²⁵⁹ Hernández-Presa MA, Gómez-Guerrero C, Egado J: In situ non-radioactive detection of nuclear factors in paraffin sections by southwestern histochemistry. *Kidney Int* 1999; 55: 209-214
- ²⁶⁰ Hernández-Presa MA, Bustos C, Ortego M, Tuñón J, Ortega L, Egado J: ACE Inhibition Quinapril Reduces Arterial Expression of NF-kB-Dependent Proinflammatory Factors but not Collagen I in a Rabbit Model of Atherosclerosis. *Am J Pathol* 1998; 153: 1825-1837
- ²⁶¹ Poirier B, Lannaud-Bournoville M, Conti M, Bazin R, Michel O, Bariéty J, Chavalier J, Myara I: Oxidative stress occurs in absence of hyperglycaemia and inflammation in the onset of kidney lesions in normotensive obese rats. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13: 2781-2798.
- ²⁶² Wang S-N, LaPage J, Hirschberg R: Role of glomerular ultrafiltration of growth factors in progressive interstitial fibrosis in diabetic nephropathy. *Kidney Int* 2000; 57: 1002-1014
- ²⁶³ Gassler N, Elger M, Kränzlin B, Kriz W, Gretz N: Podocyte injury underlies the progression of focal segmental glomerulosclerosis in the fa/fa Zucker rat. *Kidney Int* 2001; 60: 106-116.
- ²⁶⁴ Coimbra TM, Janssen U, Gröne HJ, Ostendorf T, Kunter U, Schmidt H, Brabant G, Floege J: Early events leading to renal injury in obese Zucker (fatty) rats with type II diabetes. *Kidney Int* 2000; 57: 17-182