

La proteína relacionada con la paratirina: un nuevo mediador en la nefropatía diabética

Arantxa Ortega^a, Montserrat Romero^a, Adriana Izquierdo^a, Sergio Pemau^a,
Yolanda Arce^b, Sheila Fernández^b, Pedro Esbrit^c, Pilar López-Luna^a,
Jordi Bover^b y Ricardo J. Bosch^a

^aLaboratorio de Fisiología Renal y Nefrología Experimental. Departamento de Fisiología.
Universidad de Alcalá. Alcalá de Henares. Madrid. España.

^bServicio de Nefrología. Fundació Puigvert. Barcelona. España.

^cLaboratorio de Metabolismo Mineral y Óseo. Fundación Jiménez Díaz. Madrid. España.

Resumen

La proteína relacionada con la paratirina (PTHrP) y su receptor tipo 1 (PTH1R) se expresan ampliamente en el riñón, tanto a nivel glomerular como tubular, donde es capaz de modular la función renal. Recientemente hemos analizado el posible papel de esta proteína en un modelo experimental de nefropatía diabética (ND).

Utilizando ratones CD1 controles y ratones transgénicos, con sobreexpresión renal de PTHrP, hemos observado que con ND hay un incremento significativo en la expresión del sistema renal de PTHrP/PTH1R tanto a nivel glomerular como tubular. Esta activación se asoció con el desarrollo de hipertrofia y proteinuria. Asimismo, el análisis de regresión logística puso de manifiesto que en los animales con mayor expresión renal de PTHrP y PTH1R hay un riesgo mayor de desarrollar proteinuria.

En estudios in vitro, observamos que una elevada concentración de glucosa incrementa la expresión del sistema PTHrP/PTH1R en células glomerulares (podocitos y células mesangiales) y en tubuloepiteliales mediante un mecanismo que implica a la angiotensina II.

La PTHrP, factor capaz de modular la hemodinámica glomerular, podría además participar en la fisiopatología asociada a la hiperfiltración glomerular. Datos preliminares de nuestro grupo señalan que la PTHrP, a través p27^{Kip1} (regulador negativo del ciclo celular), forma parte de los mecanismos moleculares implicados en la hipertrofia del riñón diabético.

Por otra parte, hemos observado un aumento de PTHrP en el glomérulo de pacientes diabéticos, proporcionando las primeras evidencias de la implicación de la PTHrP en la patología renal humana.

Finalmente, la infiltración de macrófagos en el riñón diabético ha sido motivo de renovado interés y recientemente se ha demostrado acciones proinflamatorias/profibrogénicas de la PTHrP, efectos que favorecerían el proceso inflamatorio asociado a la ND. Estos hallazgos indican a la PTHrP como un nuevo agente involucrado en los cambios renales asociados a la diabetes.

Palabras clave: Sistema PTHrP/PTH1R. Angiotensina II. Nefropatía diabética.

PARATHYROID-RELATED PROTEIN: A NEW MEDIATOR IN DIABETIC NEPHROPATHY

Abstract

Parathyroid-related protein (PTHrP) and its type 1 receptor (PTH1R) are abundantly present in the kidney, where they appear to act as a local regulating factor at the vascular,

Correspondencia: Dr. R.J. Bosch.
Laboratorio de Metabolismo Mineral y Óseo.
Fundación Jiménez Díaz.
Avda. Reyes Católicos, 2. 28040 Madrid. España.
Correo electrónico: ricardoj.bosch@uah.es

Recibido el 5-12-2006; aceptado para su publicación el 12-2-2007.

glomerular and tubular levels. We recently studied the possible role of this protein in an experimental model of diabetic nephropathy (DN).

Using CD-1 mice as controls and transgenic mice with chronic PTHrP overexpression in the kidney, we observed a significant increase in activation of the renal PTHrP-PTH1R system at both the glomerular and tubular levels. This activation was associated with the development of renal hypertrophy and proteinuria. Logistic regression analysis revealed that animals with higher PTHrP and PTH1R levels had a greater risk of developing proteinuria.

In vitro studies revealed that high glucose concentrations increased both PTHrP and PTH1R expression in tubulopodocytes and mesangial cells through a mechanism suggesting angiotensin II activation.

In addition to being able to modulate glomerular hemodynamics, PTHrP could also play a role in the physiopathology of glomerular hyperfiltration. Preliminary data from our group indicate that through p27^{Kip1} (a negative cell cycle regulator), PTHrP forms part of the molecular mechanisms involved in hypertrophy of the diabetic kidney.

Moreover, we observed upregulation of PTHrP in the glomeruli of diabetic patients, providing the first evidence of the participation of this protein in human renal disease. Finally, macrophage infiltration in the diabetic kidney has renewed interest in this phenomenon and PTHrP has been shown to have proinflammatory/profibrogenic effects, favoring the inflammatory process associated with DN. These findings suggest the role of PTHrP as a new mediator in the renal changes associated with diabetes.

Key words: PTHrP/PTH1R system. Angiotensin II. Diabetic nephropathy.

Introducción

La proteína relacionada con la paratirina (PTHrP) y su receptor PTH1R están en el riñón, donde tienen capacidad de modular la función renal¹. Estudios pioneros de Soifer et al², en los años noventa, implicaron a la PTHrP en los mecanismos de daño y/o reparación del epitelio tubular tras el fracaso renal agudo isquémico. Desde entonces, la mayoría de las investigaciones, si no todas, se han centrado en el

estudio de nefropatías experimentales caracterizadas por lesión tubulointersticial.

Recientemente, en nuestro grupo nos hemos planteado que la implicación de la PTHrP en la patología renal pudiera estar no sólo limitada a enfermedades renales con afección tubular, sino también en enfermedades glomerulares, como es el caso de la nefropatía diabética (ND)³.

La ND, principal causa de la enfermedad renal crónica en los países desarrollados, se caracteriza por una fase inicial de hipertrofia tanto glomerular como tubular, seguida por un incremento de la excreción urinaria de albúmina (EUA), acompañada por la pérdida progresiva de la función renal⁴⁻⁷.

Nuestro grupo ha estudiado los posibles cambios de expresión de la PTHrP en el riñón diabético utilizando un modelo de DM-1 inducido por la estreptozotocina³. Este modelo, considerado “el caballo de batalla” para los estudios experimentales en el campo de la ND, se caracteriza por el desarrollo, de forma rápida, de hipertrofia renal e incremento en la EUA^{8,9}.

En los ratones diabéticos, observamos, en el riñón, un incremento significativo en la expresión (proteica) de PTHrP y de su receptor PTH1R (común para PTH y PTHrP), a partir de las 2 semanas de la inducción de la diabetes, que se mantuvo durante las 8 semanas del estudio³. Además, el estudio inmunohistológico renal en los animales diabéticos mostró una intensa tinción de ambas proteínas, tanto glomerular como tubular.

Es interesante destacar que, a diferencia de los animales sanos, los túbulos de los riñones diabéticos presentaron tinción de PTHrP a nivel nuclear. En los últimos años se ha reconocido un dominio de localización nuclear (NLS), situado en la región 88-106 de PTHrP. Estos hallazgos indican acciones intracrininas de la PTHrP en el riñón diabético^{10,11}.

Mediante una aproximación in vitro, observamos que células renales, cultivadas en un medio con elevada concentración de glucosa (25 mM), presentan

un incremento en la expresión (proteica) de la PTHrP y del PTH1R tanto en células tubuloepteliales como en células mesangiales y en podocitos. La sobreexpresión de PTHrP, pero no del PTH1R, fue inhibida por el losartán, un inhibidor de los receptores AT₁ de la angiotensina II (Ang II). Este último hallazgo indica que la activación de la Ang II, hecho ampliamente estudiado en la ND^{12,13}, podría tener como “diana mediadora” el sistema PTHrP/PTH1R, del mismo modo que el observado en el fracaso renal agudo¹⁴. Sin embargo, también hay datos que indican que hay mecanismos independientes de los receptores AT₁ que podrían ser los causales del aumento de expresión del PTH1R inducido por una elevada concentración de glucosa en estas células. En este sentido, estudios llevados a cabo en un modelo experimental de infusión de Ang II en rata demuestran un aumento de PTHrP y de PTH1R en el parénquima renal. Sin embargo, este agente vasoactivo no es capaz de ejercer un efecto similar, con respecto al PTH1R, en células mesangiales de rata ni en células tubuloepteliales de ratón (MCT) *in vitro*¹⁵. Así, los mecanismos implicados en el aumento de PTH1R en el riñón diabético son, hasta el momento, desconocidos.

Estos datos en conjunto indican que se debe incluir también entre las alteraciones fisiopatológicas capaces de activar el sistema renal de PTHrP/PTH1R una alta concentración de glucosa. Por otro lado, la PTHrP parece ser capaz de actuar de forma autocrina/paracrina así como intracrina, en el riñón diabético.

Cambios morfológicos en la nefropatía diabética: hipertrofia renal y PTHrP

Se analizaron las consecuencias funcionales de la sobreexpresión crónica de la PTHrP³. Para ello se utilizaron ratones controles y animales transgénicos con sobreexpresión de PTHrP en el túbulo proximal. Ob-

servamos un incremento en el índice de hipertrofia renal en los animales diabéticos con sobreexpresión constitutiva de PTHrP comparado con los ratones controles sin sobreexpresión constitutiva de PTHrP. Aunque los mecanismos asociados a la hipertrofia renal en la ND son todavía poco conocidos, la Ang II y el factor de crecimiento transformador beta (TGF- β_1) parecen tener un papel relevante en esta condición¹². Una elevada concentración de glucosa es capaz de estimular la expresión de TGF- β_1 ; este factor puede transformar un estímulo mitogénico en hipertrófico en células tubuloepteliales en cultivo¹⁶⁻¹⁹. En este sentido, la PTHrP es un factor mitogénico para las células tubuloepteliales proximales, y ha mostrado actuar como efector del TGF- β_1 al menos en algunos tipos celulares²⁰⁻²².

Por otra parte, la PTHrP parece ser un importante factor regulador de la hemodinámica glomerular, y podría participar en la fisiopatología asociada a la hiperfiltración glomerular, favoreciendo el desarrollo de la hipertrofia renal en la diabetes²³.

En los últimos años, el estudio^{24,25} de los mecanismos moleculares asociados al desarrollo de la ND se ha centrado en el inhibidor de las cinasas dependientes de ciclinas p27^{Kip1}. Este modulador del ciclo celular parece tener un papel fundamental en el desarrollo de la hipertrofia celular glomerular en la ND^{24,25}. Estudios preliminares de nuestro grupo han mostrado, tanto en células mesangiales humanas como en podocitos de ratón, que la sobreexpresión de p27^{Kip1}, inducida por una elevada concentración de glucosa, se inhibe en presencia de anticuerpos neutralizantes de la acción de PTHrP. Estos hallazgos, preliminares, pondrían de manifiesto un mecanismo molecular por el cual la PTHrP participa en el proceso hipertrófico asociado al riñón diabético^{26,27}.

Adicionalmente, hemos encontrado un aumento de PTHrP en el riñón de pacientes diabéticos, lo que proporciona las primeras evidencias de la implicación de la PTHrP en la patología renal humana²⁷.

Cambios funcionales en la nefropatía diabética: proteinuria y PTHrP

Los animales diabéticos con sobreexpresión de PTHrP mostraron un incremento significativo en la EUA, asociado a un descenso significativo de proteínas plasmáticas, en comparación con los animales diabéticos sin sobreexpresión constitutiva de PTHrP. En este sentido, el análisis por regresión logística mostró un riesgo de desarrollar proteinuria 6 veces mayor en los animales con mayor expresión de PTHrP y PTH1R³.

Progresión del daño renal en la nefropatía diabética: inflamación y PTHrP

Junto con la expansión de la matriz del mesangio glomerular y la fibrosis intersticial, la infiltración de macrófagos, tanto glomerular como tubulointersticial, es una característica que ha sido ampliamente documentada en la ND durante los últimos años^{28,29}. Así, biopsias procedentes de pacientes con ND muestran que las células inflamatorias se asocian a la progresión del daño renal y la fibrogenesis³⁰.

Estudios desarrollados por Mesah-Brown et al³¹ en modelos animales de ND han revelado que la infiltración de células mononucleadas en el parénquima renal (el glomérulo es el lugar más afectado) se asocia con la liberación local de citocinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), y óxido nítrico. En estos estudios, el incremento de las concentraciones de TNF- α , tanto tisulares como urinarias, se correlaciona positivamente con la EUA, lo que indica la implicación del TNF- α en el desarrollo de microalbuminuria³¹.

Elegantes estudios clínicos de Navarro et al³²⁻³⁴, en pacientes con diabetes mellitus de tipo 2, han demostrado que desde estadios tempranos de la ND hay marcadores inflamatorios plasmáticos y urinarios

que se correlacionan, de forma significativa e independientemente, con la EUA. Estos autores observaron que la excreción urinaria de TNF- α se incrementaba significativamente con la progresión de la enfermedad, así la media de las concentraciones urinarias de TNF- α eran de 7 pg/mg en los sujetos con una excreción normal de albúmina, de 13 pg/mg en los pacientes con microalbuminuria y de 18 pg/mg en los sujetos con albuminuria. La excreción urinaria de TNF- α no se correlacionó con sus concentraciones plasmáticas, lo que indica que esta citocina podría estar producida en el propio riñón³³.

En este contexto, el aumento del sistema renal PTHrP/PTH1R en el ND podría favorecer la progresión del daño renal en el riñón diabético. Desde una perspectiva fisiopatológica, la PTHrP es un potente vasorrelajante y puede interaccionar con factores vasoactivos y afectar, como se comentó anteriormente, a la permeabilidad y la hemodinámica glomerular^{23,35-37}. Estos efectos parecen ocurrir por su interacción con PTH1R y posterior activación de la vía de señalización intracelular de NO/guanosinmonofosfato cíclico³⁵. Además, debido a las características proinflamatorias/profibrogénicas de la PTHrP, incluida la inducción de la proteína quimiotrayente de monocito/macrófago (MCP)-1 e interleucina (IL)-6 en varios tipos celulares³⁸⁻⁴¹, podría favorecer el proceso inflamatorio asociado al desarrollo de la enfermedad.

Es tentador especular que cualquiera de estos mecanismos podría contribuir a la relación entre el sistema PTHrP/PTH1R y la proteinuria en el modelo diabético. En cualquier caso, todos estos datos indican que cambios en el sistema renal PTHrP/PTH1R tienen un valor predictivo en el desarrollo de proteinuria en la ND experimental.

Aunque el modelo de STZ tiene sus limitaciones para estudiar los cambios histomorfológicos a largo plazo en el riñón diabético^{8,9}, estos resultados pudieran tener implicaciones fisiopatológicas, ya que las concentraciones de proteinuria tienen un gran valor predictivo en la ND^{42,43}.

En resumen, todos estos datos muestran que el sistema renal PTHrP/PTH1R está aumentado durante la diabetes experimental en ratones, y este aumento parece favorecer la progresión del daño renal en la diabetes.

La Ang II, principal péptido efector del sistema renina-angiotensina, parece estar implicada en el aumen-

to de PTHrP, lo que indica un nuevo mecanismo de acción de los conocidos efectos renoprotectores de los antagonistas de Ang II en la ND y que, además, abre nuevas vías farmacológicas de intervención.

No existe conflicto de intereses.

Bibliografía

- Esbrit P, Santos S, Ortega A, Fernandez-Agullo T, Velez E, Troya S, et al. Parathyroid hormone-related protein as a renal regulating factor. From vessels to glomeruli and tubular epithelium. *Am J Nephrol.* 2001;21:179-84.
- Soifer NE, Van Why SK, Ganz MB, Kashgarian M, Siegel NJ, Stewart AF. Expression of parathyroid hormone-related protein in the rat glomerulus and tubule during recovery from renal ischemia. *J Clin Invest.* 1993;92:2850-7.
- Izquierdo A, López-Luna P, Ortega A, Romero M, Guitierrez-Tarres MA, Arribas I, et al. The parathyroid hormone-related protein system and diabetic nephropathy outcome in streptozotocin-induced diabetes. *Kidney Int.* 2006;69:2171-7.
- Tisher CC, Hostetter TH. Diabetic nephropathy. En: Tisher CC, Brenner BM, editores. *Renal Pathology 2.* Philadelphia: Lippincott; 1994. p. 1387.
- Cooper ME, Vranes D, Youssef S, Stacker SA, Cox AJ, Rizkalla B, et al. Increased renal expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and its receptor VEGFR-2 in experimental diabetes. *Diabetes.* 1999;48:2229-39.
- Katoh M, Ohmachi Y, Kurosawa Y, Yoneda H, Tanaka N, Narita H. Effects of imidapril and captopril on streptozotocin-induced diabetic nephropathy in mice. *Eur J Pharmacol.* 2000;398:381-7.
- Yotsumoto T, Naitoh T, Shikada K, Tanaka S. Effects of specific antagonists of angiotensin II receptors and captopril on diabetic nephropathy in mice. *Jpn J Pharmacol.* 1997;75:59-64.
- Gross ML, Ritz E, Schoof A, Adamczak M, Koch A, Tulp O, et al. Comparison of renal morphology in the Streptozotocin and the SHR/N-cp models of diabetes. *Lab Invest.* 2004;84:452-64.
- O'Donnell MP, Kasiske BL, Keane WF. Glomerular hemodynamic and structural alterations in experimental diabetes mellitus. *FASEB J.* 1998;2:2339-47.
- Fiaschi-Taesch NM, Stewart AF. Minireview: parathyroid hormone-related protein as an intracrine factor – afflicting mechanisms and functional consequences. *Endocrinology.* 2003;144:407-11.
- Jans DA, Thomas RJ, Gillespie MT. Parathyroid hormone-related protein (PTHrP): a nucleocytoplasmic shuttling protein with distinct paracrine and intracrine roles. *Vitam Horm.* 2003;66:345-84.
- Wolf G, Ziyadeh FN. Molecular mechanisms of diabetic renal hypertrophy. *Kidney Int.* 1999;56:393-405.
- Cheng HF, Burns KD, Harris RC. Reduced proximal tubule angiotensin II receptor expression in streptozotocin-induced diabetes mellitus. *Kidney Int.* 1994;46:1603-10.
- Ortega A, Ramila D, Izquierdo A, Gonzalez L, Barat A, Gazapo R, et al. Role of the renin-angiotensin system on the parathyroid hormone-related protein overexpression induced by nephrotoxic acute renal failure in the rat. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16:939-49.
- Lorenzo O, Ruiz-Ortega M, Esbrit P, Ruperez M, Ortega A, Santos S, et al. Angiotensin II increases parathyroid hormone-related protein (PTHrP) and the type 1 PTH/PTHrP receptor in the kidney. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13:1595-607.
- Wang SN, Hirschberg R. Growth factor ultrafiltration in experimental diabetic nephropathy contributes to interstitial fibrosis. *Am J Physiol.* 2000;278:F554-60.
- Park I, Kiyomoto H, Abboud SL, Abboud HE. Expression of transforming growth factor-beta and type IV collagen in early streptozotocin-induced diabetes. *Diabetes.* 1997;46:924-32.
- Wolf G, Sharma K, Chen Y, Ericksen M, Ziyadeh FN. High glucose-induced proliferation in mesangial cells is reversed by autocrine TGF-beta. *Kidney Int.* 1992;42:647-56.
- Fine LG, Holley RW, Nasri H, Badie-Dezfooly B. BSC-1 growth inhibitor transforms a mitogenic stimulus into a hypertrophic stimulus for renal proximal tubular cells: relationship to Na⁺/H⁺ antiport activity. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1985;82: 6163-6.
- Garcia-Ocana A, De Miguel F, Penaranda C, Albar JP, Sarasa JL, Esbrit P. Parathyroid hormone-related protein is an autocrine modulator of rabbit proximal tubule cell growth. *J Bone Miner Res.* 1995;10:1875-84.
- Benítez-Verguizas J, Loarte D, De Miguel F, Esbrit P. Effects of transforming growth factor beta1 on cell growth and parathyroid hormone-related protein in Walker 256 tumor cells. *Life Sci.* 1999;65:1807-16.
- Alvarez J, Sohn P, Zeng X, Doetschman T, Robbins DJ, Serra R. TGFbeta2 mediates the effects of hedgehog on hypertrophic differentiation and PTHrP expression. *Development.* 2002;129: 1913-24.
- Clemens TL, Cormier S, Eichinger A, Endlich K, Fiaschi-Taesch N, Fischer E, et al. Parathyroid hormone-related protein and its receptors: nuclear functions and roles in the renal and cardiovascular systems, the placental trophoblasts and the pancreatic islets. *Br J Pharmacol.* 2001;134:1113-36.
- Wolf G, Schroeder R, Thaiss F, Ziyadeh FN, Helmchen U, Stahl RA. Glomerular expression of p27Kip1 in diabetic db/db mouse: role of hyperglycemia. *Kidney Int.* 1998;53:869-79.
- Wolf G, Wenzel U, Ziyadeh FN, Stahl RA. Angiotensin converting-enzyme inhibitor treatment reduces glomerular p16INK4 and

- p27Kip1 expression in diabetic BBdp rats. *Diabetologia*. 1999; 42:1425-32.
26. Romero M, Izquierdo A, Ortega A, Bosch RJ. Papel de la proteína relacionada con la hormona paratiroidea (PTHrP) en la regulación de la expresión de TGF β /T β IIR, P27Kip1 y colágeno IV en podocitos en cultivo. *Nefrología*. 2005;25 Supl 3:A36.
27. Romero M, Ortega A, Izquierdo A, Bover J, Pemau S, Rámila D, et al. Papel de la proteína relacionada con la parathormona (PTHrP) en la hipertrofia mesangial asociada a la nefropatía diabética humana. *Nefrología*. 2006;26 Supl 6:A25.
28. Furuta T, Saito T, Ootaka T, Soma J, Obara K, Abe K, et al. The role of macrophages in diabetic glomerulosclerosis. *Am J Kidney Dis*. 1993;21:480-5.
29. Shikata K, Makino H. Role of macrophages in the pathogenesis of diabetic nephropathy. *Contrib Nephrol*. 2001;134:46-54.
30. Noronha IL, Fujihara CK, Zatz R. The inflammatory component in progressive renal disease – are interventions possible? *Nephrol Dial Transplant*. 2002;17:363-8.
31. Mensah-Brown EP, Obineche EN, Galadari S, Chandranath E, Shahin A, Ahmed I, et al. Streptozotocin-induced diabetic nephropathy in rats: the role of inflammatory cytokines. *Cytokine*. 2005;31:180-90.
32. Navarro JF, Mora C, Muros M, Maca M, García J. Effects of pentoxifylline administration on urinary N-acetyl-beta-glucosamidase excretion in type 2 diabetic patients: a short-term, prospective, randomized study. *Am J Kidney Dis*. 2003;42: 264-70.
33. Navarro JF, Mora C, Rivero A, Gallego E, Chahin J, Macia M, et al. Urinary protein excretion and serum tumor necrosis factor in diabetic patients with advanced renal failure: effects of pentoxifylline administration. *Am J Kidney Dis*. 1999;33:458-63.
34. Navarro JF. Diabetic nephropathy. A matter of inflammation? *Nefrología*. 2003;23:381-9.
35. Massfelder T, Stewart AF, Endlich K, Soifer NE, Judes C, Helwig JJ. Parathyroid hormone-related protein detection and interaction with NO and cyclic AMP in the renovascular system. *Kidney Int*. 1996;50:1591-603.
36. Bosch RJ, Rojo-Linares P, Torrecillas-Casamayor G, Iglesias-Cruz MC, Rodríguez-Puyol D, Rodríguez-Puyol M. Effects of parathyroid hormone-related protein on human mesangial cells in culture. *Am J Physiol*. 1999;277:E990-5.
37. Massfelder T, Parekh N, Endlich K, Saussine C, Steinhausen M, Helwig JJ. Effect of intrarenally infused parathyroid hormone-related protein on renal blood flow and glomerular filtration rate in the anaesthetized rat. *Br J Pharmacol*. 1996;118:1995-2000.
38. Funk JL. A role for parathyroid hormone-related protein in the pathogenesis of inflammatory/autoimmune diseases. *Int Immunopharmacol*. 2001;1:1101-21.
39. Martín-Ventura JL, Ortego M, Esbrit P, Hernández-Presa MA, Ortega L, Egido J. Possible role of parathyroid hormone-related protein as a proinflammatory cytokine in atherosclerosis. *Stroke*. 2003;34:1783-9.
40. Guillén C, Martínez P, De Gortazar AR, Martínez ME, Esbrit P. Both N- and C-terminal domains of parathyroid hormone-related protein increase interleukin-6 by nuclear factor-kappa B activation in osteoblastic cells. *J Biol Chem*. 2002;277:28109-17.
41. Ortega A, Rámila D, Ardura JA, Esteban V, Ruiz-Ortega M, Barata A, et al. Role of parathyroid hormone-related protein in tubulointerstitial apoptosis and fibrosis after folic acid-induced nephrotoxicity. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17:1594-603.
42. Hirschberg R. Bioactivity of glomerular ultrafiltrate during heavy proteinuria may contribute to renal tubulo-interstitial lesions: evidence for a role for insulin-like growth factor I. *J Clin Invest*. 1996;98:116-24.
43. Dámico G, Bazzi C. Pathophysiology of proteinuria. *Kidney Int*. 2003;63:809-25.