

## Mecanismos patogénicos de las glomerulonefritis: muerte celular por apoptosis

A. Ortiz y J. Egido

*Servicio de Nefrología. Universidad Autónoma. Fundación Jiménez Díaz. Madrid.*

El glomérulo es un vaso especializado con dos componentes fundamentales: células y matriz extracelular. Durante el daño glomerular se activan procesos de regulación del número y fenotipo celular y del depósito de matriz extracelular, que determinan una morfología muy variable de las enfermedades glomerulares, que oscila desde la normalidad óptica del síndrome nefrótico de cambios mínimos al llamativo exceso de células de la glomerulonefritis postinfecciosa<sup>1</sup>. Independientemente de la causa original, la consecuencia más grave de la patología glomerular es la insuficiencia renal crónica, caracterizada por la desaparición de las células parenquimatosas glomerulares y la práctica sustitución del ovillo glomerular por matriz extracelular acelular. Sin embargo, existe muy poca información sobre los mecanismos responsables de la pérdida de células glomerulares. La comprensión de estos procesos puede ayudar a diseñar nuevas estrategias terapéuticas tendentes a preservar la normocelularidad glomerular y a retrasar la progresión de la insuficiencia renal crónica.

### Regulación del número de células: mitosis y muerte celular

El nacimiento (mitosis) y muerte celular son los principales procesos que regulan el número de células. El número de células del glomérulo procede además de quimiotaxis y eflujo de leucocitos. Es importante destacar que mitosis y muerte celular están íntimamente ligados y que con frecuencia aumentan y disminuyen de forma coordinada, por lo que los cambios en el número de células dependen de cuál de estos procesos predomina sobre el otro (fig. 1).

Existen dos formas de muerte celular, que se han diferenciado funcionalmente de forma reciente: apoptosis y necrosis. La apoptosis fue definida morfológicamente en 1972, pero hasta la década de los ochenta no resultaron evidentes sus implicaciones funcionales y terapéuticas<sup>2,3</sup>. La muerte celular por apoptosis es un proceso activo bajo control molecular, lo que permite una intervención terapéutica. Su principal diferencia con la necrosis es el requerimiento de energía para la muerte de la célula (suicidio celular). Teleológicamente la necrosis sería una muerte accidental de la célula, y la apoptosis un desmantelamiento de las

estructuras celulares en el que intervienen proteasas y ADNasas, a fin de facilitar su eliminación ordenada, de una forma que limite el daño tisular. Entre apoptosis y necrosis existen también diferencias morfológicas y funcionales que no son absolutas. Durante la apoptosis la cromatina y el núcleo se condensan y se fragmentan, con lo que disminuye el tamaño nuclear (núcleo picnótico), la célula disminuye de tamaño, se despegan de células adyacentes o del sustrato de cultivo, se producen evaginaciones de la membrana celular que culminan con la formación de fragmentos celulares rodeados de membrana, se degrada el ADN con un patrón internucleosomal y disminuye la cantidad de ADN celular (células hipodiploides), todo ello con conservación de la integridad de la membrana celular hasta estadios muy avanzados del proceso.

La apoptosis es un proceso rápido (vida media de las alteraciones morfológicas 1-2 h). La composición de la membrana celular varía (por ejemplo, la fosfatidilserina pasa a la cara externa de la membrana celular), lo que permite que la célula apoptótica sea identificada y fagocitada antes de perder definitivamente la integridad de la membrana y de liberar su contenido proinflamatorio. Por ello la apoptosis es poco llamativa histológicamente: la célula apoptótica dura poco y no genera inflamación. En el sistema nervioso central (SNC) se ha estimado que tasas de apoptosis < 1% si no se compensan con mitosis conllevan a la pérdida del 50% de la masa celular de oligodendrocitos en pocos días. No obstante, la relación entre apoptosis e inflamación debe ser reevaluada, ya que si bien la apoptosis no se asocia a un infiltrado por neutrófilos, sí se ha observado un infiltrado inflamatorio de fagocitos mononucleares. El fracaso de los mecanismos de reconocimiento y fagocitosis de la célula apoptótica podría generar inflamación<sup>4</sup>.

Es preciso desterrar el concepto de que la apoptosis es un proceso perjudicial para el glomérulo. La apoptosis es un fenómeno fisiológico que es necesario entre otros para la eritropoyesis y la queratinización de la epidermis. En el riñón la apoptosis puede ser necesaria o patogénica, dependiendo de a qué células afecta, de la magnitud del fenómeno y del momento en que ocurre (tabla 1)<sup>2-4</sup>. Estudios detallados de la glomerulonefritis mesangial por anticuerpos antitimocito sugieren que la apoptosis sería la forma de muerte celular mesangial tanto en estadios precoces (causa de la lesión) como en estadios avanzados (mecanismo compensador reparador para eliminar el exceso de células acumuladas)<sup>4</sup>. La apoptosis mesangial en estadios tempranos de este modelo podría ser

Correspondencia: A. Ortiz.  
Unidad de Diálisis.  
Fundación Jiménez Díaz.  
Avda. Reyes Católicos, 2.  
28040 Madrid.

Aceptado para su publicación el 27 de abril de 2000.

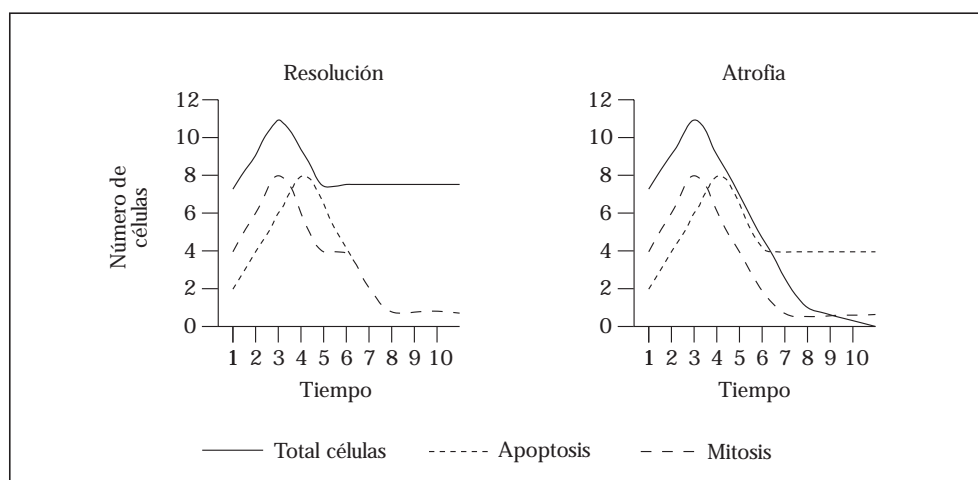


Fig. 1. La celularidad glomerular depende del balance entre mitosis/quimiotaxis y muerte celular. Cuando predomina la mitosis/quimiotaxis sobre la muerte celular, el número de células glomerulares aumenta. La resolución de las glomerulonefritis proliferativas y la restauración de normocelularidad glomerular requiere que predomine la muerte celular sobre la mitosis/quimiotaxis (por ejemplo, recuperación de la glomerulonefritis postinfecciosa). Sin embargo, si la tasa de muerte celular persiste elevada en el tiempo puede ocasionar la atrofia del glomérulo (por ejemplo, la observada en la insuficiencia renal crónica).

la consecuencia de la activación del receptor Thy-1 o de la lesión subclítica por complemento. La participación de la apoptosis en la hipocelularidad de las glomerulonefritis crónicas ha sido documentada en modelos experimentales y en el ser humano <sup>5,6</sup>.

La apoptosis y la lisis mediada por complemento han sido consideradas las dos formas principales de muerte celular en el glomérulo inflamado. Sin embargo, estudios recientes sugieren que la lisis por complemento no es una forma directa de muerte celular glomerular, ya que las células nucleadas son relativamente resistentes a la lisis por complemento y las células glomerulares expresan proteínas protectoras como la clusterina <sup>4,7</sup>.

### Regulación de la apoptosis

La supervivencia celular está influenciada por el microambiente celular, que contiene factores letales (su presencia promueve la muerte celular) o de supervivencia (su ausencia promueve la muerte celular) (fig. 2), que modulan la susceptibilidad celular a la apoptosis a través de la activación de factores intracelulares letales o de supervivencia <sup>3</sup>. Estudios recientes han comenzado a caracterizar los factores letales y de supervivencia específicos de células glomerulares <sup>3</sup>, que incluyen no sólo células adyacentes, mediadores solubles y la matriz extracelular, sino también la hiperglucemia <sup>8</sup> y factores físicos, como la tensión,

que podrían colaborar a la apoptosis de células glomerulares en enfermedades sistémicas como la diabetes y la nefroangioesclerosis.

El factor de necrosis tumoral (TNF) es una citoquina letal que se produce localmente durante las glomerulonefritis <sup>9</sup>. Las células mesangiales son relativamente resistentes a la actividad letal del TNF. Este efecto depende de la capacidad del TNF para activar el factor de transcripción NFκB <sup>10</sup>. Por el contrario, nuestro laboratorio ha observado que otra citoquina letal, el ligando de Fas, se expresa *de novo* en el glomérulo durante las glomerulonefritis e induce apoptosis de células mesangiales *in vitro* e *in vivo*, siendo capaz de causar lesión glomerular con proteinuria y hematuria <sup>11-16</sup>. Un microambiente celular inflamatorio, como la presencia de TNF e interleucina (IL)-1β, aumenta la expresión del receptor Fas en la superficie de la célula mesangial y la sensibiliza a la acción letal del ligando de Fas <sup>11</sup>. La apoptosis mediada por Fas podría colaborar a la pérdida de células parenquimatosas que caracteriza la esclerosis glomerular. Por el contrario, el epitelio tubular está protegido frente a la acción letal del ligando de Fas <sup>13</sup>, probablemente porque expresa constitutivamente factores intracelulares protectores como BclxL <sup>17</sup>.

Por otra parte, una tasa insuficiente de apoptosis podría colaborar a la acumulación de fibroblastos en la fibrosis intersticial que acompaña a las glomerulonefritis crónicas. En este sentido, la sensibilidad de los fibroblastos renales a los factores letales secretados por los leucocitos (TNF, ligando de Fas) que infiltran el riñón depende del número de receptores Fas que expresen en la membrana celular. La presencia en el medio de determinadas citoquinas, como el factor de crecimiento similar a la insulina-1 (IGF-1), disminuye el número de receptores letales y protege a los fibroblastos de la apoptosis inducida por ligando de Fas <sup>18</sup>.

### Nuevas perspectivas terapéuticas

El mejor conocimiento de la regulación y del papel de la apoptosis en las glomerulonefritis abre el camino al diseño de nuevas opciones terapéuticas, que

TABLA 1

Papel de la apoptosis en las glomerulonefritis

#### Pérdida de células glomerulares intrínsecas

Agresión inicial que causa glomerulopatía  
Persistencia/progresión de glomerulonefritis  
Resolución de la hiperplasticidad glomerular  
Aclaramiento de fibroblastos

#### Regulación de la inflamación

Aclaramiento de células inflamatorias  
¿Reclutamiento de células inflamatorias?

#### Regulación de la respuesta inmune

Limita la respuesta inmune  
Autoinmunidad frente a autoantígenos de células apoptóticas

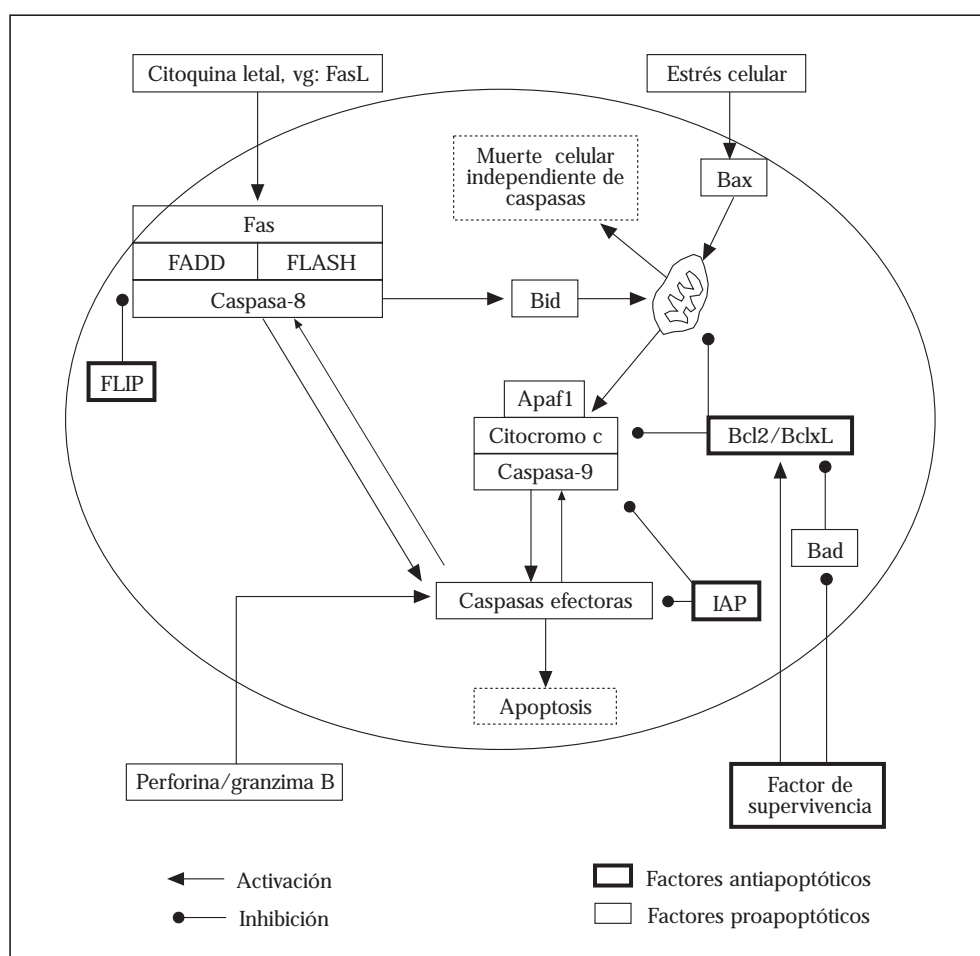


Fig. 2. La susceptibilidad celular a la muerte depende de los factores extracelulares del microambiente, así como del equilibrio entre factores letales y de supervivencia intracelulares.

podrían estar encaminadas a proteger a las células parenquimatosas glomerulares de la apoptosis o a favorecer la apoptosis de fibroblastos, linfocitos y otros leucocitos<sup>3</sup>. Estas estrategias podrían implicar el diseño de nuevos fármacos destinados a modular la actividad de factores intracelulares reguladores de la apoptosis, inhibidores de caspasas, citoquinas de supervivencia, receptores solubles de citoquinas letales y la modulación de la expresión de factores intracelulares reguladores de la apoptosis mediante terapia génica<sup>19</sup>. Medidas adicionales podrían ir dirigidas a facilitar el aclaramiento no flogístico de las células apoptóticas<sup>20</sup>.

## Agradecimientos

El trabajo de los autores ha sido financiado por Fundación Conchita Rabago de Jiménez Díaz, FISS (94/0370, 98/0587), Ministerio de Educación y Ciencia (PB 94/0211, PM 95/0093, SAF 97/0071), Fundación Mapfre Medicina, Comunidad de Madrid (08.4/0007/1999 I) y Fundación Renal Íñigo Álvarez de Toledo/Instituto Reina Sofía de Investigaciones Nefrológicas.

## BIBLIOGRAFÍA

- Ortiz A, Egido J. Etiopatogenia de las enfermedades glomerulares. En: Hernando L, ed. Nefrología clínica. Madrid: Panamericana, 1997; 228-237.
- Ortiz A, González Cuadrado S, Lorz C, Egido J. Apoptosis in renal diseases. *Frontiers in Bioscience* 1996; 1:30-49 (<http://www.bioscience/1996/v1/d/ortiz1/htmls/list.html>).

- Ortiz A. Proapoptotic regulatory proteins in renal injury. *Kidney Int* 2000; 58 (july issue).
- Savill JS, Mooney AF, Hughes H. Apoptosis in acute renal inflammation. En: Neilson EG, Couser WG, eds. *Immunologic renal diseases*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998; 309-329.
- Shimizu A, Masuda Y, Kitamura H, Ishizaki M, Sugisaki Y, Yamanaka N. Apoptosis in progressive crescentic glomerulonephritis. *Lab Invest* 1996; 74:941-951.
- Sugiyama H, Kashiwara N, Makino H, Yamasaki Y, Ota A. Apoptosis in glomerular sclerosis. *Kidney Int* 1996; 49:103-111.
- Ortiz A, Karp SL, Neilson EG. Clusterin (SGP2) mRNA expression by mesangial cells and its regulation by cytokines. *J Am Soc Nephrol* 1993; 4:626.
- Ortiz A, Ziyadeh FN, Neilson EG. Expression of apoptosis-regulatory genes in renal proximal tubular epithelial cells exposed to high ambient glucose and in diabetic kidneys. *J Invest Med* 1997; 45:50-56.
- Gómez-Chiarri M, Ortiz A, Lerma JL, Mampaso F, González E, Egido E. Involvement of tumor necrosis factor and platelet activating factor in the pathogenesis of experimental nephrosis in rats. *Lab Invest* 1994; 70:449-459.
- Sugiyama H, Savill JS, Kitamura M, Zhao L, Stylianou E. Selective sensitization to tumor necrosis factor-alpha-induced apoptosis by blockade of NF-kappa B in primary glomerular mesangial cells. *J Biol Chem* 1999; 274: 19.532-19.537.
- Ortiz-Arduan A, Danoff TM, Kalluri R, et al. Regulation of Fas and Fas ligand expression in cultured murine renal cells and in the kidney during endotoxemia. *Am J Physiol* 1996; 241:F1.193-F 1.201.
- González-Cuadrado S, López-Armada MJ, Gómez-Guerrero C, et al. Anti-Fas antibodies induce cytolysis and apoptosis in cultured human mesangial cells. *Kidney Int* 1996; 49:1.064-1.070.
- González-Cuadrado S, Lorz C, García del Moral R, et al. Agonistic anti-Fas antibodies induce glomerular cell apoptosis in mice *in vivo*. *Kidney Int* 1997; 51:1.739-1.746.
- Lorz C, Ortiz A, Justo P, González-Cuadrado S, Duque N, Gómez-Guerrero C, Egido J. Proapoptotic Fas ligand is expressed by normal kidney tubular epithelium and injured glomeruli. *J Am Soc Nephrol* 2000 (july issue).

15. Ortiz A, Lorz C, Egido J. The Fas ligand/Fas system in renal injury. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14:1.831-1.834.
16. Ortiz A, Lorz C, Egido J. New kids in the block: the role of FasL and Fas in kidney damage. *J Nephrol* 1999; 12:150-158.
17. Ortiz A, Lor C, Catalán MP, Danoff TM, Yamasaki Y, Egido J, Neilson EG. Expression of apoptosis regulatory proteins in tubular epithelium stressed in culture or following acute renal failure. *Kidney Int* 2000; 57:969-981.
18. Ortiz A, González-Cuadrado S, Lorz S, García del Moral R, O'Valle F, Egido J. Cytokines and Fas regulated apoptosis in murine renal interstitial fibroblasts. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8:1.845-1.854.
19. Kitamura M, Taylor S, Unwin R, Burton S, Shimizu F, Fine LG. Gene transfer into the rat renal glomerulus via a mesangial cell vector: site-specific delivery, *in situ* amplification, and sustained expression of an exogenous gene *in vivo*. *J Clin Invest* 1994; 94:497-505.
20. Liu Y, Cousin JM, Hughes J, et al. Glucocorticoides promote nonphlogistic phagocytosis of apoptotic leukocytes. *J Immunol* 1999; 162:3.639-3.646.