

Подоцит: строение и роль в развитии нефротического синдрома

(Обзор литературы)

Э.К. Петросян

Российский государственный медицинский университет, г. Москва

Podocyte: a structure and a role in development nephrotic syndrome

Review

E.K. Petrosyan

Ключевые слова: нефротический синдром, подоцит, нефрин, подоцин, CD2AP, ZO-1, FAT, NPHS1, NPHS2.

Осмысление уникального молекулярного аппарата подоцита в последние годы позволило улучшить диагностику и создать классификацию болезней, которые назвали подоцитопатиями. Повреждение подоцитов часто ведет к реорганизации щелевой диафрагмы и структуры «ножек» подоцита. Результаты многочисленных исследований, приведенных в обзоре, позволили выделить четыре главные причины развития нефротического синдрома, обусловленные генетическими мутациями компонентов подоцита: а) изменение структуры щелевой диафрагмы; б) нарушение адгезивных способностей подоцита к базальной мембране; в) повреждение актинового цитоскелета подоцита и г) изменение в апикальной области мембраны подоцита.

Нефротический синдром (НС) – часто встречающаяся патология среди гломерулярных заболеваний почек в детском возрасте. На протяжении последних двух десятилетий наиболее вероятной причиной протеинурии при НС считали изменение структуры базальной мембраны (БМ) и отслойку от нее подоцитов. Потеря анионного заряда БМ и эпителиального гликокаликса приводит к возможности прохождения сквозь нее отрицательно заряженных белков [20, 114]. Эта теория была подтверждена рядом экспериментальных работ на животных, у которых нарушение заряда гепарансульфата БМ и дефекты протеогликанов приводили к повышенной альбуминурии [82]. Однако в большинстве случаев эти изменения являются вторичными по отношению к морфофункциональным изменениям подоцита: отслойке от БМ, диффузному сглаживанию «ножек» подоцита с деструкцией межподоцитарной щелевой диафрагмы (ЩД), что приводит к потере анионного заряда последней [57, 95]. Это было подтверждено на крысах, у которых вызывали нефроз при воздействии пуромидина и адриамицина [88, 152]. Аналогичные изменения в последующем были обнаружены у пациентов с НС [74]. Следующим этапом в понимании формирования нефротической протеинурии стало изучение молекулярной структуры подоцита и межподоцитарной ЩД (рис.).

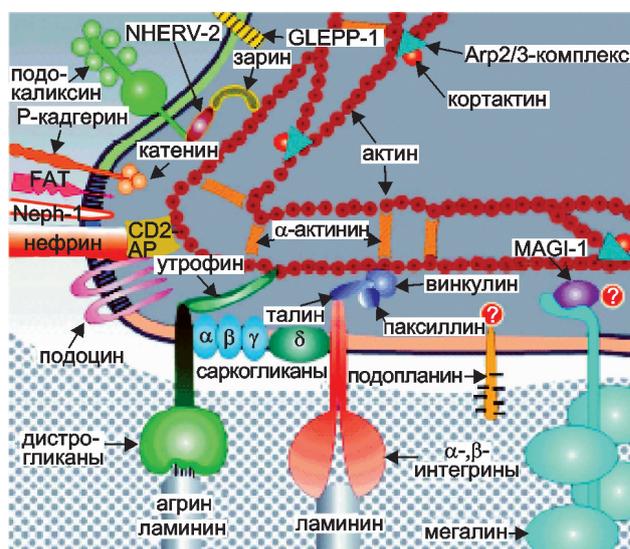


Рис. Схематическое изображение латеробазальной части подоцита

Структура подоцита

Висцеральные эпителиальные клетки – подоциты – являются третьим внешним слоем клубочкового капилляра. При изучении подоцита была выявлена достаточно сложная его клеточная организация [30, 109, 134].

Каждый подоцит состоит из трех частей: «тело» клетки, первичные отростки, вторичные и третичные отростки, или «ножки», подоцитов, с помощью которых они прикрепляются к базальной мембране. Основная часть подоцита – «тело» – находится в подвешенном состоянии в мочевом пространстве боуменовоу капсулы. Между отростками подоцита располагается ЩД.

Подоциты имеют несколько важных функций в почечном ультрафилтрате. Хорошо развитая эндо-

Телефон: 254-25-83(р). Эдита Константиновна Петросян
E-mail: Ed3565@yandex.ru

плазматическая сеть клетки и аппарат Гольджи обеспечивают синтез некоторых белков БМ. Кроме того, подоциты регулируют растяжимость клубочкового капилляра, препятствуя излишнему расширению последнего под действием транскапиллярного давления. Еще одной, не менее важной функцией является ограничение прохождения отрицательно заряженных белков, осуществляемое анионным зарядом плазмолеммы подоцита и ЩД.

Цитоскелет подоцита

Сложная клеточная организация подоцита сформирована и обслуживается высокоорганизованным цитоскелетом клетки [4, 26].

«Тело» подоцита формируется главным образом из промежуточных нитей, состоящих из виментина [6] и десмина [156]. Центральная часть подоцита содержит микротрубочки, а цитозольная часть внутренней мембраны клетки покрыта микрофиламентами. От крупного клеточного тела отходят большие отростки, охватывающие в виде «подушечек» значительную поверхность капилляра. Первичные отростки заполнены микротрубочками смешанной полярности и двигательным белком из кинезинового суперсемейства – СНО1/МКЛР1 [68].

Малые отростки, или педикулы, отходят от больших почти перпендикулярно, переплетаются между собой и закрывают все свободное от больших отростков пространство базальной мембраны капилляра. Педикулы, или «ножки», подоцита содержат актиновые нити, способные сокращаться. Один конец этих нитей располагается в первичных отростках, другой – в «ножках» подоцита. Актиновые нити связаны с микротрубочками первичных отростков [91] и состоят из актина, миозина II и α -актинина-4 [26]. В подоците постоянно происходят синтез и разрушение актина, регулирующиеся Agr2/3-комплексом, активация которого определяется влиянием многих белков [146].

α -актинин-4 представляет собой белок с молекулярным весом 100 кДа. Экспрессия мРНК α -актинина-4 отмечена в тканях поджелудочной железы и почек [41]. В почках он обнаружен в стенках кровеносных сосудов и подоцитах. Известно, что α -актинин-4 перемещается в ядро под влиянием деполимеризации актина [41], располагается около белка CD2AP [149] и тесно связан с гуанилат-киназой MAGI-1 [108]. Установлено, что при участии α -катенина α -актинин-4 является посредником взаимодействия кадгерин-катенинового комплекса и актиновой части цитоскелета [52, 68]. В модели молекулярной организации подоцитов α -актинину-4 отводится функция связывания протеинового комплекса ЩД и базального белкового комплекса с актиновой частью цитоскелета [135]. Отмечена роль α -актинина-4 в патогенезе протеинурии. В экспериментальных моделях НС отмечалось усиление активности α -актинина-4, которое предшествовало сглаживанию «ножек» подоцита [133]. Мутация гена α -актинина-4 приводит к развитию фокально-сегментарного гломерулосклероза (ФСГС) с аутомно-доминантным типом наследования [111], характеризующимся поздним проявлением (чаще у взрослых) и медленным прогрессированием [52].

Цитоскелет подоцита связывается с БМ посредством

интегринов [2, 59] и дистрогликановых комплексов [113, 116]. Интегриновые комплексы представлены $\alpha_3\beta_1$ -интегринами [69], винкулином, талином [26], паксиллином [145] и, вероятно, некоторыми другими молекулами, тесно связанными с интегринными, подобно интегрин-связанной киназе [36, 73]. Было выявлено, что $\alpha_3\beta_1$ -интегрин сцеплен высокоаффинной связью с α_5 -цепью ламинина-11 [21] и низкоаффинной – с компонентами БМ [72]. Экспрессия $\alpha_3\beta_1$ -интегринов остается сохранной как при НС с минимальными изменениями (НСМИ), так и при ФСГС [39].

Дистрогликановые комплексы состоят из утрофина и α - и β -дистрогликанов и входят в состав мышечных и некоторых неммышечных клеток [28, 38]. По данным ряда исследователей, при НСМИ отмечается либо снижение, либо отсутствие экспрессии дистрогликанов, коррелирующее с активностью процесса [113, 116], тогда как при ФСГС дистрогликаны в ткани почки сохранены [39]. Высокое сродство дистрогликановых комплексов к ламинину и агрину БМ обеспечивает целостность трехслойной структуры гломерулярного аппарата [28, 113, 116]. Интересно, что мутация гена, кодирующего синтез дистрогликана, приводит к летальному исходу уже внутриутробно [154].

Гликокаликс

Подоцитарная мембрана (плазмолемма) разделена на базальную и апикальную часть, переходящую в щелевую диафрагму. Толстый слой апикальной части плазмолеммы покрыт гликокаликсом (углеводная часть наружной поверхности плазмолеммы), несущим отрицательный заряд. Гликокаликс богат сиалопroteинами, среди которых главными являются подокаликсин и подоэндин [42, 56, 87]. Подокаликсин – белок с молекулярной массой около 150 кДа, который также экспрессируется в клетках эндотелия, мегакариоцитах и тромбоцитах [56, 86]. Около 80% отрицательного заряда гликокаликса обеспечивается подокаликсином. Подокаликсин связан с цитоскелетом за счет взаимодействия его цитоплазматической части с эзрином [99] и играет ключевую роль в формировании и сохранении архитектуры подоцита [100, 136, 137]. У мышей, нокаутированных по подокаликсину, формируются незрелые гломерулы со «сглаженными» подоцитами [23]. Jian-Kan Guo и соавт. (2002), исследовав экспрессию гена подокаликсина у мутированных по WT1-гену мышей, обнаружили ее снижение наряду со снижением экспрессии гена нефрина [51].

Другим важным белком гликокаликса является гломерулярный эпителиальный белок-1 (GLEPP-1) – трансмембранный протеин тирозин-фосфатазы, возможно имеющий функцию рецептора [140]. Считается, что GLEPP-1 участвует в регулировании соотношения внутриклубочкового давления и фильтрации [151]. Экспрессия подокаликсина и GLEPP-1 была изучена у больных с нефротическим синдромом. Оказалось, что их экспрессия сохранена при НСМИ и уменьшена при ФСГС [7, 140].

Щелевая диафрагма

ЩД фильтрационного комплекса гломерул является

изменяющимся в пространстве соединением, способным к адгезии [109, 117]. В течение долгого времени единственным идентифицированным компонентом ее протеинового комплекса была zonula occludens-1 (ZO-1) [75, 125]. Вслед за открытием нефрина и его центральной роли в функционировании щелевой диафрагмы [58] были установлены и другие компоненты фильтрационного комплекса гломерул. Это CD2-ассоциированный белок (CD2AP) [128], подоцин [12, 119], кадгерин P [117], синаптоподин [127, 129], FAT [49] и денсин [3]. Кроме того, было описано новое семейство белков NEPH, структурно связанных с нефрином [22, 127].

Нефрин

Нефрин – основной белок ЩД [40]. Идентификация нефрина в ЩД дала новое понимание устройства клубочкового фильтра и роли ЩД как заключительного селективного барьера для прохождения белка [58, 142, 143].

Нефрин представляет собой трансмембранный белок, относящийся к суперсемейству иммуноглобулинов с адгезивными функциями, состоящий из 1241 аминокислотного остатка [58, 81] с молекулярной массой 185 кДа. Нефрин имеет три отличающихся области: большая внеклеточная область, трансмембранная и внутриклеточная области. Внеклеточная область состоит из восьми иммуноглобулиновых частей и одной фибронектиновой части. Внеклеточная область высокогликозилирована, что является определяющим фактором для локализации нефрина [155]. Нефрин, как было выявлено, находится в состоянии фосфорилирования [132]. Внутриклеточная область содержит несколько остатков тирозина, которые являются возможными локусами для фосфорилирования. Изучение структуры нефрина и его местоположения в ЩД дало основания для предположения о том, что гомофильное взаимодействие нефрина связывает два противоположных подоцита, формируя ЩД [34]. Доказательством важной роли нефрина в клубочковой фильтрации служат исследования, проведенные на крысах: инъекция моноклональных антинефриновых антител приводила к развитию протеинурии [99]. Интересно, что инъекция антинефриновых антител приводила также к уменьшению экспрессии ZO-1 [53] у крыс, что не наблюдается при мутации гена нефрина – NPHS1 [105]. В то же время на 5-й день после инъекции антител, когда протеинурия была наиболее массивной, при морфологическом исследовании почек только часть подоцитов была видоизменена и при электронно-микроскопическом исследовании ЩД сохранена. Эти данные позволили усомниться в значимости нефрина в структуре ЩД [54]. Однако фенотип с мутацией NPHS1 у пациентов с врожденным НС подтверждает роль нефрина в регуляции деятельности клубочкового фильтра [104].

В 1998 г. M. Kestila и соавт. (1998) обнаружили ген, ответственный за развитие врожденного НС финского типа, – NPHS1, расположенный на 19-й хромосоме [58]. Он состоит из 29 экзонов. Среди финской популяции отмечаются две мутации: делеция во 2-м экзоне – Fin-major и нонсенс-мутация в 26-м экзоне – Fin-minor. Обе мутации ведут к нарушению синтеза нефрина.

У представителей нефинской популяции описаны более 60 различных мутаций, включая делецию, миссенс- и нонсенс-мутации в других экзонах [9, 32, 82]. С полиморфизмом гена NPHS1 в 3-м экзоне (G349A) и 26-м экзоне (G3315A) A. Landenkari и соавт. (2004) связали возникновение часто рецидивирующих стероид-зависимых и стероид-резистентных форм НСМИ [76]. Год спустя эти же авторы провели анализ анамнестических, катamnестических и генетических данных пациентов с НСМИ, который позволил им сделать вывод, что генетический фактор не играет значимой роли у этих пациентов [77]. В своем исследовании I. Narita и соавт. (2003) показали, что повышение уровня протеинурии у больных IgA-нефропатией коррелировало с частотой гомозиготных GG-аллелей G349A в 3-м экзоне гена нефрина [96].

Врожденный НС финского типа характеризуется аутосомно-рецессивным типом наследования. Большая часть младенцев рождается преждевременно с низкой массой тела. Плацента увеличена, вес ее превышает массу новорожденного более чем на 25%. Отечный синдром у новорожденного наблюдается уже при рождении или развивается в течение нескольких последующих дней вследствие тяжелого НС. Массивная протеинурия сопровождается выраженной гипоальбуминемией и значительной гипогаммаглобулинемией [35, 46]. При морфологическом исследовании почек обнаруживаются микрокисты в тубулярном аппарате в сочетании с подоцитарной патологией – диффузным сглаживанием «ножек» подоцитов [47]. При иммуногистохимическом исследовании было обнаружено отсутствие нефрина в ЩД, причем в дебюте заболевания экспрессия его сохранена, полное исчезновение наблюдается в более позднем периоде заболевания [24].

Выявленные мутации гена NPHS1, ответственного за возникновение протеинурии в случае врожденного НС финского типа [58], приводят к нарушению синтеза нефрина, которое также может наблюдаться как при других формах НС у людей [24, 33, 62, 147], так и в экспериментальной модели нефроза у крыс [54, 84, 158]. Эти данные подтверждают значимость нефрина как обязательного компонента щелевой мембраны, участвующего в деятельности фильтрационного барьера гломерул [142, 143]. В дополнение к этой структурной роли нефрин участвует в передаче клеточных сигналов [43, 132]. В ЩД нефрин и расположенные вблизи него белки формируют важный функциональный комплекс, связывающий ЩД с актиновой частью цитоскелета [60, 61, 134, 135]. Нарушения в структуре как самого нефрина, так и ассоциированного с ним белкового комплекса приводят к изменениям архитектоники подоцита – сглаживанию «ножек» и протеинурии [12, 22, 52, 129]. Аналогичное состояние наблюдается у больных при диабетической нефропатии [78]. Диабетическая нефропатия связана с нарушением контроля гликемии [98]. Несмотря на интенсивное изучение, точные представления о молекулярных изменениях, приводящих к ней, остаются весьма скудными. Обсуждается роль активации протеинкиназы C в развитии диабетической нефропатии [71]. Усиление экспрессии нефрина установлено в ранней фазе развития диабетической нефропатии [1, 83], так же как и после активации протеинкиназы C [147]. На более поздних

стадиях диабетической нефропатии экспрессия нефрина снижается, возможно, вследствие сморщивания и утраты функции подоцитов [25, 78]. Интересно, что снижение экспрессии нефрина может быть предупреждено блокированием ренин-ангиотензиновой системы [78], что было отмечено как у больных с диабетической нефропатией, так и на экспериментальных моделях [10, 13, 55]. Молекулярный механизм этого процесса пока неизвестен, но показано, что нефропротективное действие лекарственных препаратов, блокирующих синтез или активность ангиотензина II, по-видимому, связано с нефрином [13].

Генетически обусловленное отсутствие синтеза нефрина у больных НС финского типа является причиной возникновения у этих пациентов рецидивов НС в трансплантированной почке. Циркулирующие аутоантитела к нефрину играют патогенетическую роль в развитии НС после трансплантации [106, 147].

Подоцин

Интегральный мембранный белок подоцин с молекулярной массой 42 кДа относится к стоматиновому протеиновому семейству и на 47% идентифицируется со стоматином человека [12]. В основном подоцин экспрессируется в гломерулярных подоцитах и меньше – в ткани яичек, фетальных тканях сердца и печени [12]. Подоцин, подобно «шпильке», замыкает нефрин в подоцитах, входит, таким образом, в единую структуру ЩД [119, 127] и подобно нефрину и белку CD2AP связан с ней липидными мостиками [127, 132]. Было установлено, что богатый пролином карбоксильный участок подоцина является посредником во взаимодействиях с другими белками: CD2AP [127], нефрином [43], NERH1, NERH2 и NERH3 [128].

Обнаружено также, что подоцин активирует нефрин посредством сигнала протеинкиназы, включающей, в свою очередь, p38 и c-jun аминотерминальной киназы, участвующей в регуляции формирования белкового активатора-1 [43]. Позже было выявлено возможное участие транскрипционного фактора Lmx1b в регуляции активности подоцина и CD2AP. Утрата транскрипционного фактора Lmx1b приводила к снижению уровня CD2AP и подоцина [37, 89, 118].

Роль подоцина в формировании НС была наиболее полно изучена после обнаружения гена, кодирующего этот белок. NPHS2-ген подоцина расположен в хромосоме 1q25-q31 [44]. Мутация гена подоцина выявлена при семейном НС в 45–55% случаев, а при спорадическом развитии НС – лишь в 8–20% случаев.

Описано более 30 патологических мутаций, приводящих к изменению структуры белка: миссенс-мутации, нонсенс-мутации, делеции [17, 121, 148]. Замечено, что среди населения Франции и Германии наиболее часто встречается R138Q-мутация [12, 148], а в итальянской и турецкой популяциях отмечалась мутация P20L. При этой мутации, как и при многих других (P118L, R138Q, D160G, R168C, R168H, R168S, V180M и V260E), подоцин сохранен в эндоплазматическом ретикулуме, но теряется его способность удерживать нефрин в липидных мостиках [44]. Мутация R291W связана с повреждением подоцина в эндосоме [97, 120]. Мутация гена подоцина также была обнаружена у пациентов с врожденным и

инфантильным НС. Исследовав 27 детей с врожденным НС, M. Schultheiss и соавт. (2004) выявили гомозиготные и гетерозиготные мутации по подоцину у 11 и по нефрину у 15 младенцев [131]. И только у одного ребенка не было найдено генетических аномалий. S. Weber и соавт. (2004) описали три случая врожденного НС с гомозиготной мутацией R138Q [148]. Случай семейного НС, связанный с мутацией NPHS2, описан в работе G. Caridi и соавт. (2004) [18]. У трех детей из двух турецких семей наблюдался стероид-резистентный инфантильный НС. При генетическом обследовании были выявлены гомозиготные мутации P20L и R168H. Мутации V180M и R238S подоцина описаны также в семейных случаях НС с формированием ФСГС в подростковом возрасте. Интересно проявление гетерозиготных мутаций подоцина (R291W, S211T, T326fsX345) в фенотипе. Замечено, что возраст появления протеинурии варьирует от нескольких месяцев до нескольких лет. Более того, было продемонстрировано, что у троих из девяти детей с гетерозиготными мутациями НС был стероид-чувствительным, а двое ответили на терапию циклоспорином А [17, 121]. Однако у 5 из 10 пациентов с гетерозиготными мутациями наблюдался достаточно быстрый исход в ХПН. У больных с благоприятным течением нефрита морфологически выявлялись признаки ФСГС, при иммуногистохимическом исследовании почечной ткани отмечалось нарушение в распределении подоцина в подоцитах [159]. Кроме того, гетерозиготные мутации подоцина отмечались у фенотипически здоровых родителей больных детей с гомозиготными мутациями того же аллеля. Все эти данные требуют дальнейшего изучения и осмысления.

Другой наиболее частой мутацией NPHS2 является R229Q. Гетерозиготный полиморфизм, сочетающийся с другими мутациями подоцина, и гомозиготная мутация R229Q выявлены в некоторых семьях с аутосомно-рецессивным НС [148]. Данная мутация приводит к снижению возможности подоцина закреплять нефрин. В то же время клиническое значение мутации R229Q не совсем ясно. Как известно, гетерозиготное состояние R229Q обнаружено у 4% европейского населения. По данным A.C. Pereira и соавт. (2004), гетерозиготный полиморфизм R229Q коррелирует с микроальбуминурией у людей, не имеющих заболеваний почек [110]. В ряде случаев спорадически возникающий стероид-чувствительный ФСГС у взрослых был ассоциирован только с гетерозиготным полиморфизмом R229Q. Считается, что у этих пациентов относительно сохранена функция подоцина в детском возрасте, но в дальнейшем она утрачивается, что и приводит к развитию НС.

По данным исследований R.G. Ruf (2004) и S. Weber (2004), у больных со спорадическим НС гомозиготные и гетерозиготные мутации обнаружены в 21 и 6,4% случаев соответственно [121, 148]. Однако больные стероид-чувствительными формами НС не имели генетических мутаций подоцина [14, 31, 121]. Морфологическим маркером НС, вызванного мутациями подоцина, чаще всего является ФСГС, реже – минимальные изменения и еще реже – IgM-нефропатия. Однако в экспериментальной работе T.V. Huber и соавт. (2003) [45] у мышей, нокаутированных по гену подоцина, отмечалось внутриутробное развитие НС, характеризующегося морфологической картиной выраженного мезанги-

ального склероза в сочетании с тубулярным кистозом с вакуолизацией эпителия, что во многом напоминает морфологическую картину врожденного НС финского типа. При электронной микроскопии отмечалось диффузное сглаживание «ножек» подоцитов. Данный вид НС характеризуется стероид-резистентностью, применение циклоспорина А и циклофосфана также неэффективно.

В последнее время появились работы, в которых продемонстрированы сочетанные мутации гена подоцина и нефрина при врожденном НС [70, 126]. Так, у 5 больных с гомозиготной мутацией NPHS1 был выявлен гетерозиготный полиморфизм R229Q, а у 4 пациентов с гомозиготной мутацией NPHS2 также отмечалась гетерозиготная мутация NPHS1.

Другой не менее важной проблемой является возможность развития НС в трансплантате. Данные двух крупных исследований указывают, что рецидивы НС у пациентов с мутациями NPHS2 редки. R.G. Ruf и соавт. (2004) только у 2 (8%) из 24 пациентов с мутациями NPHS2 зафиксировали протеинурию в посттрансплантационный период [121]. По данным S. Weber и соавт. (2004), среди 32 пациентов с двумя NPHS2-мутациями только у одного вновь появилась протеинурия с формированием ФГС в трансплантате спустя 2 года после операции [148]. Интересным оказался тот факт, что этот пациент имел гомозиготную мутацию R138Q, а донорская почка была материнской, с аналогичной гетерозиготной мутацией. R. Bertelli и соавт. (2003) описали два случая возврата НС в группе из девяти больных с гомозиготной и гетерозиготной NPHS2-мутацией [11]. Эти два пациента имели гомозиготную мутацию R138Q. Протеинурия выявлена у одного больного спустя 10 дней, а у другого – спустя 300 дней после трансплантации. В последнем случае при морфологическом исследовании биоптата обнаружен ФГС. Купировать НС удалось, только используя плазмаферез в сочетании с циклофосфамидом. При этом антиподоцитарные антитела ни у одного из пациентов обнаружены не были. Важное значение при формировании ФГС и связанного с ним НС придается наличию циркулирующего фактора проницаемости, который всегда выявляется у больных с мутацией подоцина [15]. Возможно, что в ряде случаев рецидивы ФГС в трансплантате обусловлены наличием этого фактора у больных.

Семейство белков NERH

Семейство белков NERH состоит из NERH1, NERH2 и NERH3 (фильтрина) и, по-видимому, участвует в клеточной адгезии и сигнализации [22, 48, 128]. Сродство белков NERH составляет порядка 20% между NERH1 и NERH2 и около 14% между NERH1 и NERH3 [128]. Члены семейства имеют общую структуру из пяти внеклеточных иммуноглобулиновых модулей. Все три NERH-белка взаимодействуют с подоцином и ZO-1 [44, 128].

Белок NERH1 человека имеет молекулярный вес около 67 кДа и на 18% идентичен нефрину [22]. Ген NERH1 картирован в локусе 1q21-25 [22]. NERH1 довольно широко экспрессируется в тканях: в почках, селезенке, желудке, яичках и сердце [22]. Он локализован в «ножках» подоцитов во вставочном участке ЩД [8]. Показано, что NERH1 гетеродимеризуется с нефрином благодаря

их иммуноглобулин-подобным доменам и внутриклеточным частям [8, 34].

Белок NERH2, ген которого картирован в локусе 11q24, состоит из 778 аминокислот и имеет молекулярный вес около 86 кДа [127]. Его экспрессия установлена в мозге, сердце, ЦНС, кортикальном слое почек, а также в клеточной культуре подоцитов [128].

Белок NERH3, ген которого картирован в локусе 19q13.1, состоит из 708 аминокислот [48]. Промоторные области генов, кодирующих фильтрин и нефрин, перекрываются, но гены транскриптируются в противоположных направлениях. Молекулярный вес фильтрина составляет 75 кДа. Кроме полноразмерного фильтрина, обнаружен фильтрин- α без экзона 4 и фильтрин- β (22 кДа) без трансмембранного участка, мРНК фильтрина выявлены в поджелудочной железе, лимфатических узлах, кортикальном слое почек, в ткани мозга, легких, так же как и в клеточной культуре подоцитов [48, 128].

CD2AP

Белок CD2AP (CD2-ассоциированный белок) был назван так в связи с его ассоциацией с CD2-рецепторным белком Т-клеток. В Т-клетках CD2AP стабилизирует взаимодействие с антиген-презентирующими клетками.

CD2AP – белок с молекулярным весом 80 кДа, содержащий три домена SH3 в аминоконце, имеющий участок, богатый пролином, сверхспирализованную область, димерную последовательность и актинсвязанный сайт на карбоксильном конце [29, 64, 79]. CD2AP экспрессируется в нескольких тканях, в том числе и в почках.

Кроме участия в деятельности иммунной системы, белок CD2AP, по-видимому, необходим для нормального функционирования гломерулярного фильтрационного барьера. Так, у CD2AP-дефицитных мышей была обнаружена протеинурия. Мыши-нокауты по CD2AP умирали в течение нескольких недель после рождения, у них развивался НС с морфологическими признаками минимальных изменений [107]. Установлено, что мутация гена CD2AP приводит к развитию протеинурии [63]. J.M. Kim и соавт. (2003), исследовав 45 больных с ФГС, обнаружили, что двое из них были гетерозиготными по CD2AP [63]. Этот результат указывает, что даже гетерозиготная мутация CD2AP увеличивает риск развития заболевания почек. Последующие исследования показали, что CD2AP может обнаруживаться в тесном контакте с ЩД [130]. Предполагается, что CD2AP функционирует как адаптер, который привязывает различные мембранные белки, такие, как CD2 и нефрин, к цитоскелету [29, 80, 123, 157]. А совместная экспрессия CD2AP и внутриклеточного домена нефрина, по-видимому, отражает их физическое взаимодействие [129]. Последующие эксперименты, однако, дали результаты, как подтверждающие взаимодействие нефрина с CD2AP [130], так и противоположные описанным [43].

Помимо CD2 и нефрина, белок CD2AP связан с полицистином-2 [79], фокальным адгезивным белком p130CAS [64], Src-семейством тирозин-киназ, p85-субъединицей фосфатидилинозитол-3-киназы [65] и актином [79]. Кроме того, для CD2AP была установлена совместная локализация с маркером «ножек» подоцитов – синаптоподином [129] и тесная связь с α -актинином-4

в культуре подоцитов [149].

Денсин

Денсин, имеющий молекулярный вес 180 кДа, является членом семейства LAR, для которого характерны богатые лейцином повторы.

Денсин и ассоциированный с ним комплекс участвуют в организации клеточных связей между пресинаптической и постсинаптической мембранами глутаматергических синапсов [5]. Исходно денсину отводилась роль специфического компонента в синапсах вдоль дендритов [5]. Однако недавно была установлена экспрессия денсина в подоцитах, а именно в области ЩД, и возможность его взаимодействия с нефрином [3]. Интересно, что денсин обнаружен и в ЦНС, и в почках, соответственно как специализированный компонент постсинаптического пространства (PSD) и ЩД. Но до сих пор не описано ни одного заболевания, связанного с дефицитом денсина у человека.

Синаптоподин

Синаптоподин (pp44) – связанный с актином белок, обеспечивающий функцию подоцитов и PSD телэнцефалических дендритов [91, 93]. Синаптоподин имеет высокое содержание пролина, предполагающее линейную конформацию, что может обеспечиваться параллельной локализацией с актином [93]. Подсчитанный молекулярный вес синаптоподина составляет 74 кДа, но для белка мозга он равен 100 кДа, а для синаптоподина в гломерулах почек – 110 кДа [92]. В подоцитах синаптоподин обнаруживается на стадии капиллярной петли [91] и локализуется совместно с подоцином [119, 127] и белком CD2AP [128]. Кроме того, подобно α -актинину-4 синаптоподин связан с MAGI-1 [108]. Как и нефрин, синаптоподин включен в формирование структуры подоцитов [92]. Ассоциация синаптоподина с актином в подоцитах позволяет отвести ему определенную роль в функции подоцитов [94]. В настоящее время нет сообщений о наследственных заболеваниях человека, связанных с мутацией гена синаптоподина, хотя отмечен сниженный уровень синаптоподина при почечных синдромах [136]. Возможно, это вторичный феномен, связанный с перестройкой цитоскелета или протеинурией.

ZO-1

ZO-1 – широко экспрессирующийся мембранный белок [90, 144]. В поджелудочной железе он имеет отношение к ее экзокринной функции [66]. Уже на ранней стадии S-образного тельца ZO-1 представлен в почечных гломерулах в апикальном комплексе, который скользит вдоль латеральной клеточной мембраны очень близко от базального полюса подоцита [124]. На стадии капиллярных петель и ZO-1 и нефрин обнаруживаются в латеральной части клеточной мембраны развивающейся ЩД [122, 124]. В подоцитах зрелой ткани внутриклеточно возле вставочных участков ЩД появляется α -изоформа ZO-1 [75, 124].

Сообщений о заболеваниях человека, связанных с мутацией гена ZO-1, в настоящее время нет. В опытах

in vivo на крысах введение моноклональных 5-1-6(антинефриновых)-антител [141] индуцирует выраженную протеинурию и изменяет характер иммунореактивности нефрина и ZO-1 на более прерывистый, указывая на связь между нефрином и ZO-1 [53, 54]. Взаимодействуя с NERF1 и нефрином, ZO-1 связывает их с актиновой частью цитоскелета [8, 44, 117]. Ранее было показано, что в неэпителиальных клетках ZO-1 соединяет кадгерин-катениновый комплекс с актиновым цитоскелетом благодаря взаимодействию с α -катенином и актином [50].

Кадгеринины

Кадгеринины – семейство трансмембранных адгезионных белков, являющихся медиаторами кальций-зависимой адгезии филогенетически близких клеток. Они привязывают адгезионные компоненты к цитоскелету благодаря кадгерин-ассоциированному комплексу, включающему α -, β - и γ -катенины и α -актинин [67, 101, 102, 139].

Кадгерин P

Кадгерин P экспрессируется совместно с нефрином и ZO-1 в гломерулах в более поздней стадии S-образного тельца [122]. В гломерулах зрелой почки иммунореактивность кадгерина P значительно снижена и определяется в области ЩД [117, 122].

Подобно нефрину, кадгерин P, возможно, принимает участие в формировании сердцевины ЩД [116]. Помимо кадгерина P, в группу этих компонентов входят нефрин, α -, β - и γ -катенины, связывающиеся с цитоскелетом благодаря α -актинину или ZO-1 [67, 101–103]. Но в почках пациентов с мутациями в NPHS1, утративших ЩД и функциональный фильтрационный барьер, кадгерин P экспрессируется нормально [122]. У мышей, дефицитных по кадгерину P, протеинурия не отмечалась [115]. Эти результаты позволяют предполагать, что кадгерин P является не обязательным, а только возможным компонентом белковой сердцевины ЩД.

Кадгерин FAT

Этот гигантский в сравнении с другими кадгерин имеет 34 кадгерин-подобных внеклеточных повтора, трансмембранный участок и внутриклеточную часть, связанную с β -катенином [27]. Молекулярный вес кадгерина FAT составляет около 500 кДа [49]. Впервые FAT был обнаружен у дрозофилы как белок, вовлеченный в морфогенез и клеточную пролиферацию при супрессии опухолевого роста [85]. Во время морфогенеза FAT широко экспрессируется, особенно в клетках эпителия и центральной нервной системы, в то время как в зрелых тканях он, как правило, отсутствует или же уровень его экспрессии снижен [27, 112]. FAT был найден в подоцитах, клетках париетального эпителия, клетках эпителия в собирающих трубочках и эндотелиальных клетках [49]. В подоцитах FAT локализован совместно с ZO-1 и 5-1-6-эпитопом нефрина в области ЩД [49]. В экспериментальных работах на мышях, нокаутированных по FAT, животные погибали в пренатальном периоде, а при гистологическом исследовании почек были

обнаружены изменения, характерные для ФСГС [19].

Заключение

Последние десятилетия ознаменовались клинико-генетическими исследованиями нефропатий, что в настоящее время не только позволило осуществлять раннюю диагностику заболеваний, но и изменить подходы к лечению. Наследственный и врожденный НС, который, как было продемонстрировано, может проявиться в разные периоды жизни, занимает важное место в ряду заболеваний почек. Мутации генов, ответственных за синтез разнообразных белков подоцита, приводят к развитию заболеваний с разной степенью выраженности клинических проявлений и различным исходом. Генетическое обследование больных со стероид-резистентными формами НС позволяет выработать адекватную тактику ведения больного.

Литература

1. Aaltonen P., Luimula P., Astrom E., Palmén T., Gronholm T., Palojoki E., Jaakkola I., Abola H., Tikkanen I., Holtbofer H. Changes in the expression of nephrin gene and protein in experimental diabetic nephropathy. *Lab Invest* 2001; 81: 1185–1190.
2. Adler S. Characterization of glomerular epithelial cell matrix receptors. *Am J Pathol* 1992; 141: 571–578.
3. Abola H., Heikkilä E., Astrom E., Inagaki M., Izawa I., Pavenstadt H., Kerjaszki D., Holtbofer H. A novel protein, densin, expressed by glomerular podocytes. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1731–1737.
4. Andrews P.M. Investigations of cytoplasmic contractile and cytoskeletal elements in the kidney glomerulus. *Kidney Int* 1981; 20: 549–562.
5. Apperson M.L., Moon I.S., Kennedy M.B. Characterization of densin-180, a new brain-specific synaptic protein of the O-sialoglycoprotein family. *J Neurosci* 1996; 16: 6839–6852.
6. Bachmann S., Kriz W., Kubn C., Franke W.W. Differentiation of cell types in the mammalian kidney by immunofluorescence microscopy using antibodies to intermediate filament proteins and desmoplakins. *Histochemistry* 1983; 77: 365–394.
7. Barisoni L., Kriz W., Mundel P., D'Agati V. The dysregulated podocyte phenotype: A novel concept in the pathogenesis of collapsing idiopathic focal segmental glomerulosclerosis and HIV-associated nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 51–61.
8. Barletta G.M., Kovari I.A., Verma R.K., Kerjaszki D., Holzman L.B. Nephrin and Neph1 colocalize at the podocyte foot process intercellular junction and form cis hetero-oligomers. *J Biol Chem* 2003; 19: 19–25.
9. Beltcheva O., Martin P., Lenkkeri U., Tryggvason K. Mutation spectrum in the nephrin gene (NPHS1) in congenital nephrotic syndrome. *Hum Mutat* 2001; 17: 368–373.
10. Benigni A., Tomasoni S., Gagliardini E., Zoja C., Grunkemeyer J.A., Kalluri R., Remuzzi G., Bonnet F., Cooper M.E., Kawachi H., Allen T.J., Boner G., Cao Z. Irbesartan normalises the deficiency in glomerular nephrin expression in a model of diabetes and hypertension. *Diabetologia* 2001; 44: 874–877.
11. Bertelli R., Ginevri F., Caridi G., Dagnino M., Sandrini S., Di Duca M., Emma F., Sanna-Cberchi S., Scolari F., Neri T.M., Murer L., Massella L., Basile G., Rizzoni G., Perfumo F., Gbiggeri G.M. Recurrence of focal segmental glomerulosclerosis after renal transplantation in patients with mutations of podocin. *Am J Kidney Dis* 2003; 41: 1314–1321.
12. Boute N., Gribouval O., Roselli S., Benessy F., Lee H., Fuchsbuber A., Daban K., Gubler M.C., Niaudet P., Antignac C. NPHS2, encoding the glomerular protein podocin, is mutated in autosomal recessive steroid-resistant nephrotic syndrome. *Nat Genet* 2000; 24: 349–354.
13. Cao Z., Bonnet F., Candido R., Nesteroff S.P., Burns W.C., Kawachi H., Shimizu F., Carey R.M., De Gasparo M., Cooper M.E. Angiotensin type 2 receptor antagonist confers renal protection in a rat model of progressive renal injury. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1773–1787.
14. Caridi G., Bertelli R., Carrea A., Di Duca M., Catarisi P., Artero M., Carraro M., Zennaro C., Candiano G., Musante L., Seri M., Ginevri F., Perfumo F., Gbiggeri G.M. Prevalence, genetics, and clinical features of patients carrying podocin mutations in steroid-resistant nonfamilial focal segmental glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12:

2742–2746.

15. Carraro M., Caridi G., Bruschi M., Artero M., Bertelli R., Zennaro C., Musante L., Candiano G., Perfumo F., Gbiggeri G.M. Serum glomerular permeability activity in patients with podocin mutations (NPHS2) and steroid-resistant nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1946–1952.
16. Caridi G., Bertelli R., Scolari F., Sanna-Cberchi S., Di Duca M., Gbiggeri G.M. Podocin mutations in sporadic focal-segmental glomerulosclerosis occurring in adulthood. *Kidney Int* 2003; 64: 365–371.
17. Caridi G., Bertelli R., Di Duca M., Dagnino M., Emma F., Onetti Muda A., Scolari F., Miglietti N., Mazzucco G., Murer L., Carrea A., Massella L., Rizzoni G., Perfumo F., Gbiggeri G.M. Broadening the spectrum of diseases related to podocin mutations. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1278–1286.
18. Caridi G., Berdeli A., Dagnino M., Di Duca M., Mir S., Cura A., Ravazzolo R., Gbiggeri G.M. Infantile steroid-resistant nephrotic syndrome associated with double homozygous mutations of podocin. *Am J Kidney Dis* 2004; 43: 727–732.
19. Ciani L., Patel A., Allen N.D., Jfrench-Constant C. Mice lacking the giant protocadherin mFAT1 exhibit renal slit junction abnormalities and a partially penetrant cyclopia and anophthalmia phenotype. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 3575–3582.
20. Damico G., Bazi C. Pathophysiology of proteinuria. *Kidney Int* 2003; 63: 809–825.
21. Deluvel G.O., de Melker A.A., Hogervorst F., Jaspars L.H., Fles D.L., Kuikman I., Lindblom A., Paulsson M., Timpl R., Sonnenberg A. Distinct and overlapping ligand specificities of the alpha3A beta 1 and alpha 6A beta 1 integrins: recognition of laminin isoforms. *Mol Biol Cell* 1994; 5: 203–215.
22. Donoviel D.B., Freed D.D., Vogel H., Potter D.G., Hawkins E., Barrish J.P., Mathur B.N., Turner C.A., Geske R., Montgomery C.A., Starbuck M., Brandt M., Gupta A., Ramirez-Solis R., Zambrowicz B.P., Powell D.R. Proteinuria and perinatal lethality in mice lacking NPH1, a novel protein with homology to NEPHRIN. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 4829–4836.
23. Doyomas R., Kershaw D.B., Dubme C., Merckens H., Chelliah S., Graf T., McNaghy K.M. Anuria, omphalocele, and perinatal lethality in mice lacking the CD34-related protein podocalyxin. *J Exp Med* 2001; 194: 13–27.
24. Doublier S., Ruotsalainen V., Salvadio G., Lupia E., Biancone L., Conaldi P.G., Reponen P., Tryggvason K., Camussi G. Nephrin redistribution on podocytes is a potential mechanism for proteinuria in patients with primary acquired nephrotic syndrome. *Am J Pathol* 2001; 158: 1723–1731.
25. Doublier S., Salvadio G., Lupia E., Ruotsalainen V., Verzola D., Deferrari G., Camussi G. Nephrin Expression Is Reduced in Human Diabetic Nephropathy: Evidence for a Distinct Role for Glycated Albumin and Angiotensin II. *Diabetes* 2003; 52: 1023–1030.
26. Drenckbahn D., Franke R.P. Ultrastructural organization of contractile and cytoskeletal proteins in glomerular podocytes of chicken, rat, and man. *Lab Invest* 1988; 59: 673–682.
27. Dume J., Hanby A.M., Poulos R., Jones T.A., Sbeer D., Chin W.G., Da S.M., Zhao Q., Beverley P.C., Owen M.J. Molecular cloning and tissue expression of FAT, the human homologue of the *Drosophila* fat gene that is located on chromosome 4q34-q35 and encodes a putative adhesion molecule. *Genomics* 1995; 30: 207–223.
28. Durbeef M., Henry M.D., Campbell K.P. Dystroglycan in development and disease. *Curr Opin Cell Biol* 1998; 10: 594–601.
29. Dustin M.L., Olszowy M.W., Holdorf A.D., Li J., Bromley S., Desai N., Widder P., Rosenberger F., van der Merwe P.A., Allen P.M., Shaw A.S. A novel adaptor protein orchestrates receptor patterning and cytoskeletal polarity in T-cell contacts. *Cell* 1998; 94: 667–677.
30. Endlich K., Kriz W., Witzgall R. Update in podocyte biology. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001; 10: 331–340.
31. Frisberg Y., Rinat C., Megged O., Shapira E., Feinstein S., Raas-Rothschild A. Mutations in NPHS2 encoding podocin are a prevalent cause of steroid-resistant nephrotic syndrome among Israeli-Arab children. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 400–405.
32. Fuchsbuber A., Niaudet P., Gribouval O., Jean G., Gubler M.C., Broyer M., Antignac C. Congenital nephrotic syndrome of the Finnish type: linkage to the locus in a non-Finnish population. *Pediatr Nephrol* 1996; 10: 135–138.
33. Furness P.N., Hall L.L., Shaw J.A., Pringle J.H. Glomerular expression of nephrin is decreased in acquired human nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 1234–1237.
34. Gerke P., Huber T.B., Sellin L., Benzing T., Walz G. Homodimerization and heterodimerization of the glomerular podocyte proteins nephrin and NPH1. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 918–926.
35. Hallman N., Hjelt L., Abvenainen E.K. Nephrotic syndrome in newborn and young infants. *Ann Paediatr Fenn* 1956; 2: 227–241.

36. Haltia A, Solin M, Luimula P, Kretzler M, Holtbofer H. mRNA differential display analysis of nephrotic kidney glomeruli. *Exp Nephrol* 1999; 7: 52–58.
37. Hamano Y, Grunkemeyer JA, Sudbakar A, Zeisberg M, Cosgrove D, Morello R, Lee B, Sugimoto H, Kalluri R. Determinants of vascular permeability in the kidney glomerulus. *J Biol Chem* 2002; 277: 31 154–31 162.
38. Hemler ME. Dystroglycan versatility. *Cell* 1999; 97: 543–546.
39. Heinrich M, Regele HM, Filipovic E, Lancer B, Poczeuwi H, Kraxberger 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: 403–412.
40. Holzman LB, St John PL, Kovari LA, Verma R, Holtbofer H, Abrahamson DR. Nephlin localizes to the slit pore of the glomerular epithelial cell. *Kidney Int* 1999; 56: 1481–1491.
41. Honda K, Yamada T, Endo R, Ino Y, Gotob M, Tsuda H, Yamada Y, Chiba H, Hirobashi S. Actinin-4, a novel actin-bundling protein associated with cell motility and cancer invasion. *J Cell Biol* 1998; 140: 1383–1393.
42. Huang TW, Langlois JC. Podoendin. A new cell surface protein of the podocyte and endothelium. *J Exp Med* 1985; 162: 245–267.
43. Huber TB, Kottgen M, Schilling B, Walz G, Benzing T. Interaction with podocin facilitates nephrin signaling. *J Biol Chem* 2001; 276: 41 543–41 546.
44. Huber TB, Simons M, Hartleben B, Sernetz L, Schmidts M, Gundlach E, Saleem MA, Walz G, Benzing T. Molecular basis of the functional podocin-nephrin complex: mutations in the NPHS2 gene disrupt nephrin targeting to the lipid raft microdomains. *Hum Mol Genet* 2003; 12: 3397–3405.
45. Huber TB, Schmidts M, Gerke P, Schermer B, Zahn A, Hartleben B, Sellin L, Walz G, Benzing T. The carboxyl terminus of neph family members binds to the PDZ domain protein zonula occludens-1. *J Biol Chem* 2003; 278: 13 417–13 421.
46. Huttunen N-P. Congenital nephrotic syndrome of Finnish type. Study of 75 cases. *Arch Dis Child* 1976; 51: 344–348.
47. Huttunen N-P, Rapola J, Vilskä J, Hallman N. Renal pathology in congenital nephrotic syndrome of Finnish type: a quantitative light microscopic study of 50 patients. *Int J Pediatr Nephrol* 1980; 1: 10–16.
48. Ibalmo P, Palmén T, Abola H, Valtonen E, Holtbofer H. Filtrin is a novel member of nephrin-like proteins. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 300: 364–370.
49. Inoue T, Yaoita E, Kuribara H, Shimizu F, Sakai T, Kobayashi T, Ohshiro K, Kawachi H, Okada H, Suzuki H, Kibara I, Yamamoto T. FAT is a component of glomerular slit diaphragms. *Kidney Int* 2001; 59: 1003–1012.
50. Itoh M, Nagafuchi A, Moroi S, Tsukita S. Involvement of ZO-1 in cadherin-based cell adhesion through its direct binding to alpha-catenin and actin filaments. *J Cell Biol* 1997; 138: 181–192.
51. Jian-Kan Guo, Menke AL, Marie-Claire, Clarke AR, Harrison D, Hammes A, Hastie ND, Schedl A. WT1 is a key regulator of podocyte function: reduced expression levels cause crescentic glomerulonephritis and Mesangial sclerosis. *Human Molecular Genetics* 2002; 11: 651–659.
52. Kaplan JM, Kim SH, North KN, Rennie H, Correia LA, Tong HQ, Mathis BJ, Rodriguez-Perez JC, Allen P.G., Beggs AH, Pollak MR. Mutations in ACTN4, encoding alpha-actinin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nat Genet* 2000; 24: 251–256.
53. Kawachi H, Kuribara H, Topham PS, Brown D, Shiba MA, Orikasa M, Shimizu F, Salant DJ. Slit diaphragm-reactive nephritogenic MAb 5-1-6 alters expression of ZO-1 in rat podocytes. *Am J Physiol* 1997; 273: 984–993.
54. Kawachi H, Koike H, Kuribara H, Yaoita E, Orikasa M, Shiba MA, Sakai T, Yamamoto T, Salant DJ, Shimizu F. Cloning of rat nephrin: expression in developing glomeruli and in proteinuric states. *Kidney Int* 2000; 57: 1949–1961.
55. Kelly DJ, Aaltonen P, Cox AJ, Rumble JR, Langham R, Panagiotopoulos S, Jerums G, Holtbofer H, Gilbert RE. Expression of the slit-diaphragm protein, nephrin, in experimental diabetic nephropathy: differing effects of anti-proteinuric therapies. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1327–1332.
56. Kerjaschki D, Sbarkey DJ, Farquhar MG. Identification and characterization of podocalyxin – the major sialoprotein of the renal glomerular epithelial cell. *J Cell Biol* 1984; 98: 1591–1596.
57. Kerjaschki D. Caught flat-footed: podocyte damage and the molecular bases of focal glomerulosclerosis. *J Clin Invest* 2001; 108: 1583–1587.
58. Kestila M, Lenkkeri U, Mannikko M, Lamerdin J, McCready P, Putaala H, Ruotsalainen V, Morita T, Nissinen M, Herva R, Kashtan C.E., Peltonen L, Holmberg C., Olsen A, Tryggvason K. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein – nephrin – is mutated in congenital nephrotic syndrome. *Mol Cell* 1998; 1: 575–582.
59. Kriedberg JA, Donovan MJ, Goldstein SL, Rennie H, Shepberd K, Jones RC, Jaenisch R. Alpha 3 beta 1 integrin has a crucial role in kidney and lung organogenesis. *Development* 1996; 122: 3537–3547.
60. Khosnoodi J, Tryggvason K. Unraveling the molecular make-up of the glomerular podocyte slit diaphragm. *Exp Nephrol* 2001; 9: 355–359.
61. Khosnoodi J, Tryggvason K. Congenital nephrotic syndromes. *Curr Opin Genet Dev* 2001; 11: 322–327.
62. Kim BK, Hong HK, Kim JH, Lee HS. Differential expression of nephrin in acquired human proteinuric diseases. *Am J Kidney Dis* 2002; 40: 964–973.
63. Kim JM, Wu H, Green G, Winkler CA, Kopp JB, Miner JH, Unanue ER, Shaw AS. CD2-associated protein haploinsufficiency is linked to glomerular disease susceptibility. *Science* 2003; 300: 1298–1300.
64. Kirsch KH, Georgescu MM, Ishimaru S, Hanafusa H. CMS: an adapter molecule involved in cytoskeletal rearrangements. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 6211–6216.
65. Kirsch KH, Georgescu MM, Shishido T, Langdon WY, Birge RB, Hanafusa H. The adapter type protein CMS/CD2AP binds to the proto-oncogenic protein c-Cbl through a tyrosine phosphorylation-regulated Src homology 3 domain interaction. *J Biol Chem* 2001; 276: 4957–4963.
66. Kleeff J, Shi X, Bode HP, Hoover K, Srikhande S, Bryant PJ, Korc M, Buchler MW, Friess H. Altered expression and localization of the tight junction protein ZO-1 in primary and metastatic pancreatic cancer. *Pancreas* 2001; 23: 259–265.
67. Knudsen KA, Soler AP, Johnson KR, Wheelock MJ. Interaction of alpha-actinin with the cadherin/catenin cell-cell adhesion complex via alpha-catenin. *J Cell Biol* 1995; 130: 67–77.
68. Kobayashi N, Reiser J, Kriz W, Kuriyama R, Mundel P. Non-uniform microtubular polarity established by CHO1/MKLP1 motor protein is necessary for process formation of podocytes. *J Cell Biol* 1998; 143: 1961–1970.
69. Korbonov M, Ylanne J, Laitinen L, Virtanen I. The alpha 1-alpha 6 subunits of integrins are characteristically expressed in distinct segments of developing and adult human nephron. *J Cell Biol* 1990; 111: 1245–1254.
70. Koziell A, Grech V, Hussain S, Lee G, Lenkkeri U, Tryggvason K, Scambler P. Genotype/phenotype correlations of NPHS1 and NPHS2 mutations in nephrotic syndrome advocate a functional inter-relationship in glomerular filtration. *Hum Mol Genet* 2002; 11: 379–388.
71. Koya D, King GL. Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes* 1998; 47: 859–866.
72. Kriedberg JA, Symons JM. Integrins in kidney development, function, and disease. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000; 279: F233–242.
73. Kretzler M, Teixeira VP, Unschuld P.G., Cohen CD, Wanke R, Edenhofer L, Mundel P, Schlondorff D, Holtbofer H. Integrin-linked kinase as a candidate downstream effector in proteinuria. *Faseb J* 2001; 15: 1843–1845.
74. Kriz W, Gretz N, Lemley K. Progression of glomerular diseases: is the podocyte the culprit? *Kidney Int* 1998; 54: 687–697.
75. Kuribara H, Anderson JM, Farquhar MG. Diversity among tight junctions in rat kidney: glomerular slit diaphragms and endothelial junctions express only one isoform of the tight junction protein ZO-1. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 7075–7079.
76. Labdenkari AT, Kestila M, Holmberg C, Koskimies O, Jalanko H. Nephrin gene (NPHS1) in patients with minimal change nephrotic syndrome (MCNS). *Kidney Int* 2004; 65: 1856–1863.
77. Labdenkari AT, Suvanto M, Kajantie E, Koskimies O, Kestila M, Jalanko H. Clinical features and outcome of childhood minimal change nephrotic syndrome: is genetics involved? *Pediatr Nephrol* 2005; 20: 1073–1080.
78. Langham RG, Kelly DJ, Cox AJ, Thomson NM, Holtbofer H, Zaoui P, Pinel N, Cordonnier DJ, Gilbert RE. Proteinuria and the expression of the podocyte slit diaphragm protein, nephrin, in diabetic nephropathy: effects of angiotensin converting enzyme inhibition. *Diabetologia* 2002; 45: 1572–1576.
79. Lehtonen S, Ora A, Olkkonen VM, Geng L, Zerial M, Somlo S, Lehtonen E. *In vivo* interaction of the adapter protein CD2-associated protein with the type 2 polycystic kidney disease protein, polycystin-2. *J Biol Chem* 2000; 275: 32 888–32 893.
80. Lehtonen S, Zhao F, Lehtonen E. CD2-associated protein directly interacts with the actin cytoskeleton. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 283: 734–743.
81. Lenkkeri U, Mannikko M, McCready P, Lamerdin J, Gribowal O, Niaudet PM, Antignac C.K., Kashtan C.E., Homberg C., Olsen A, Kestila M, Tryggvason K. Structure of the gene for congenital nephrotic syndrome of the finnish type (NPHS1) and characterization of mutations. *Am J*

Hum Genet 1999; 64: 51–61.

82. *Levidiotis V, Kanellis J, Ierino F, Power D.* Increased expression of heparanase in puromycin aminonucleoside nephrosis. *Kidney Int* 2001; 60: 1287–1296.

83. *Luimula P, Aaltonen P, Abola H, Palmén T, Holtbofer H.* Alternatively spliced nephrin in experimental glomerular disease of the rat. *Pediatr Res* 2000; 48: 759–762.

84. *Luimula P, Abola H, Wang S.X, Solin M.L, Aaltonen P, Tikkanen I, Kerjaszki D, Holtbofer H.* Nephrin in experimental glomerular disease. *Kidney Int* 2000; 58: 1461–1468.

85. *Maboney P.A, Weber U, Onofrebus P, Biessmann H, Bryant P.J, Goodman C.S.* The fat tumor suppressor gene in *Drosophila* encodes a novel member of the cadherin gene superfamily. *Cell* 1991; 67: 853–868.

86. *McNaghy K.M, Pettersson I, Rossi F, Flamme I, Shevchenko A, Mann M, Graf T.* Thrombomucin, a novel cell surface protein that defines thrombocytes and multipotent hematopoietic progenitors. *J Cell Biol* 1997; 138: 1395–1407.

87. *Mendrick D.L, Rennke H.G.* Induction of proteinuria in the rat by a monoclonal antibody against SGP-115/107. *Kidney Int* 1988; 33: 818–830.

88. *Messina A, Davies D.J, Dillane P.C, Ryan G.B.* Glomerular epithelial abnormalities associated with the onset of proteinuria in aminonucleoside nephrosis. *Am J Pathol* 1987; 126: 220–229.

89. *Miner J.H, Morello R, Andrews K.L, Li C, Antignac C, Shaw A.S, Lee B.* Transcriptional induction of slit diaphragm genes by *Lmx1b* is required in podocyte differentiation. *J Clin Invest* 2002; 109: 1065–1072.

90. *Mitic L.L, Anderson J.M.* Molecular architecture of tight junctions. *Annu Rev Physiol* 1998; 60: 121–142.

91. *Mundel P, Gilbert P, Kriz W.* Podocytes in glomerulus of rat kidney express a characteristic 44 KD protein. *J Histochem Cytochem* 1991; 39: 1047–1056.

92. *Mundel P, Kriz W.* Structure and function of podocytes: an update. *Anat Embryol (Berl)* 1995; 192: 385–397.

93. *Mundel P, Heid H.W, Mundel T.M, Kruger M, Reiser J, Kriz W.* Synaptopodin: an actin-associated protein in telencephalic dendrites and renal podocytes. *J Cell Biol* 1997; 139: 193–204.

94. *Mundel P, Reiser J, Zuniga Mejia Borja A, Pavenstadt H, Davidson G.R, Kriz W, Zeller R.* Rearrangements of the cytoskeleton and cell contacts induce process formation during differentiation of conditionally immortalized mouse podocyte cell lines. *Exp Cell Res* 1997; 236: 248–258.

95. *Mundel P, Shankland S.J.* Podocyte biology and response to injury. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 3005–3015.

96. *Narita I, Goto S, Saito N, Song J, Kondo D, Omori K, Kawachi H, Shimizu F, Sakatsume M, Ueno M, Gejyo F.* Genetic polymorphism of NPHS1 Modifies the Clinical Manifestations of IgA nephropathy. *Lab Inv* 2003; 83: 1193–1200.

97. *Nishibori Y, Liu L, Hosoyamada M, Endou H, Kudo A, Takenaka H, Higashihara E, Bessho F, Takahashi S, Kersbau D, Ruotsalainen V, Tryggvason K, Khoshnoodi J, Yan K.* Disease-causing missense mutations in NPHS2 gene alter normal nephrin trafficking to the plasma membrane. *Kidney Int* 2004; 66: 1755–1765.

98. *Odoni G, Ritz E.* Diabetic nephropathy – what have we learned in the last three decades? *J Nephrol* 1999; 2 (Suppl. 12): S120–S124.

99. *Orikasa M, Matsui K, Oite T, Shimizu F.* Massive proteinuria induced in rats by a single intravenous injection of a monoclonal antibody. *J Immunol* 1988; 141: 807–814.

100. *Orlando R.A, Takeda T, Zak B, Schmieder S, Benoit V.M, McQuistan T, Furthmayr H, Farquhar M.* The glomerular epithelial cell anti-adhesin podocalyxin associates with the actin cytoskeleton through interactions with ezrin. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 1589–1598.

101. *Ozawa M, Baribault H, Kemler R.* The cytoplasmic domain of the cell adhesion molecule uvomorulin associates with three independent proteins structurally related in different species. *Embo J* 1989; 8: 1711–1717.

102. *Ozawa M, Ringwald M, Kemler R.* Uvomorulin-catenin complex formation is regulated by a specific domain in the cytoplasmic region of the cell adhesion molecule. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 4246–4250.

103. *Ozawa M, Kemler R.* Molecular organization of the uvomorulin-catenin complex. *J Cell Biol* 1992; 116: 989–996.

104. *Patrakka J, Ruotsalainen V, Ketola I, Holmberg C, Heikinheimo M, Tryggvason K, Jalanko H.* Expression of nephrin in pediatric kidney diseases. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 289–296.

105. *Patrakka J, Martin P, Salonen R, Kestila M, Ruotsalainen V, Mamiikko M, Rynananen M, Rapola J, Holmberg C, Tryggvason K, Jalanko H.* Proteinuria and prenatal diagnosis of congenital nephrosis in fetal carriers of nephrin gene mutations. *Lancet* 2002; 359: 1575–1577.

106. *Patrakka J, Ruotsalainen V, Reponen P, Qvist E, Laine J, Holmberg C, Tryggvason K, Jalanko H.* Recurrence of nephrotic syndrome in kidney grafts of patients with congenital nephrotic syndrome of the Finnish type: role of nephrin. *Transplantation* 2002; 73: 394–403.

107. *Patrakka J, Labdenkari A.T, Koskimies O, Holmberg C, Wartiovaara J, Jalanko H.* The number of podocyte slit diaphragms is decreased in minimal change nephrotic syndrome. *Pediatr Res* 2002; 52: 349–355.

108. *Patrie K.M, Drescher A.J, Welibinda A, Mundel P, Margolis B.* Interaction of two actin-binding proteins, synaptopodin and alpha-actinin-4, with the tight junction protein MAGI-1. *J Biol Chem* 2002; 277: 30 183–30 190.

109. *Pavenstadt H, Kriz W, Kretzler M.* Cell biology of the glomerular podocyte. *Physiol Rev* 2003; 83: 253–307.

110. *Pereira A.C, Pereira A.B, Mota G.F, Cunha R.S, Herkenhoff F.L, Pollak M.R, Mill J.G, Krieger J.E.* NPHS2 R229Q functional variant is associated with microalbuminuria in the general population. *Kidney Int* 2004; 65: 1026–1030.

111. *Pollack M.* Inherited podocytopathies: FSGS and nephrotic syndrome from a genetic perspective. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 3016–3024.

112. *Ponassi M, Jacques T.S, Ciani L, Jfrench-Constant C.* Expression of the rat homologue of the *Drosophila* fat tumour suppressor gene. *Mech Dev* 1999; 80: 207–212.

113. *Raats C.J, van den Born J, Bakker M.A, Oppers-Walgreen B, Pisa B.J, Dijkman H.B, Assmann K.J, Berden J.H.* Expression of agrin, dystroglycan, and utrophin in normal renal tissue and in experimental glomerulopathies. *Am J Pathol* 2000; 156: 1749–1765.

114. *Raats C, Van Den Born J, Berden J.* Glomerular heparansulfate alterations: mechanism and relevance for proteinuria. *Kidney Int* 2000; 57: 385–400.

115. *Radice G.L, Ferreira-Cornwell M.C, Robinson S.D, Rayburn H, Chodos LA, Takeichi M, Hynes R.O.* Precocious mammary gland development in P-cadherin-deficient mice. *J Cell Biol* 1997; 139: 1025–1032.

116. *Regele H.M, Filipovic E, Langer B, Poczeuwki H, Kraxberger I, Bittner R.E, Kerjaszki D.* Glomerular expression of dystroglycans is reduced in minimal change nephrosis but not in focal segmental glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 403–412.

117. *Reiser J, Kriz W, Kretzler M, Mundel P.* The glomerular slit diaphragm is a modified adherens junction. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 1–8.

118. *Robr C, Prestel J, Heidet L, Hosser H, Kriz W, Johnson R.L, Antignac C, Witzgall R.* The LIM-homeodomain transcription factor *Lmx1b* plays a crucial role in podocytes. *J Clin Invest* 2002; 109: 1073–1082.

119. *Roselli S, Gribouval O, Boute N, Sich M, Benessy F, Attie T, Gubler M.C, Antignac C.* Podocin localizes in the kidney to the slit diaphragm area. *Am J Pathol* 2002; 160: 131–139.

120. *Roselli S, Moutkine I, Gribouval O, Benmerah A, Antignac C.* Plasma membrane targeting of podocin through the classical exocytic pathway: effect of NPHS2 mutations. *Traffic* 2004; 5: 37–44.

121. *Ruf R.G, Lichtenberger A, Karle S.M, Haas J.P, Anacleto F.E, Schultbeiss M, Zalewski I, Imm A, Ruf E.M, Mucha B, Bagga A, Neubaus T, Fuchsbuber A, Bakkaloglu A, Hildebrandt F.* Patients with mutations in NPHS2 (podocin) do not respond to standard steroid treatment of nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 722–732.

122. *Ruotsalainen V, Patrakka J, Tissari P, Reponen P, Hess M, Kestila M, Homberg C, Salonen R, Heikinheimo M, Wartiovaara J, Tryggvason K, Jalanko H.* Role of nephrin in cell junction formation in human nephrogenesis. *Am J Pathol* 2000; 157: 1905–1916.

123. *Saleem M.A, O'Hare M.J, Reiser J, Coward R.J, Inward C.D, Farren T, Xing C.Y, Ni L, Mathieson P.W, Mundel P.* A conditionally immortalized human podocyte cell line demonstrating nephrin and podocin expression. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 630–638.

124. *Schnabel E, Dekan G, Miettinen A, Farquhar M.G.* Biogenesis of podocalyxin – the major glomerular sialoglycoprotein – in the newborn rat kidney. *Eur J Cell Biol* 1989; 48: 313–326.

125. *Schnabel E, Anderson J.M, Farquhar M.G.* The tight junction protein ZO-1 is concentrated along slit diaphragms of the glomerular epithelium. *J Cell Biol* 1990; 111: 1255–1263.

126. *Schultbeiss M, Ruf R.G, Mucha B.E, Wiggins R, Fuchsbuber A, Lichtenberger A, Hildebrandt F.* No evidence for genotype/phenotype correlation in NPHS1 and NPHS2 mutations. *Pediatr Nephrol* 2004; 19: 1340–1348.

127. *Schwarz K, Simons M, Reiser J, Saleem M.A, Faul C, Kriz W, Shaw A.S, Holzman L.B, Mundel P.* Podocin, a raft-associated component of the glomerular slit diaphragm, interacts with CD2AP and nephrin. *J Clin Invest* 2001; 108: 1621–1629.

128. *Sellin L, Huber T.B, Gerke P, Quack I, Pavenstadt H, Walz G.*

NEPH1 defines a novel family of podocin interacting proteins. *Faseb J* 2003; 17: 115–117.

129. *Sbib NY, Li J, Karpitskii V, Nguyen A, Dustin ML, Kanagawa O, Miner JH, Shaw AS.* Congenital nephrotic syndrome in mice lacking CD2-associated protein. *Science* 1999; 286: 312–315.

130. *Sbib NY, Li J, Cotran R, Mundel P, Miner JH, Shaw AS.* CD2AP localizes to the slit diaphragm and binds to nephrin via a novel C-terminal domain. *Am J Pathol* 2001; 159: 2303–2308.

131. *Schultzeiss M, Ruf RG, Mucha BE, Wiggins R, Fuchshuber A, Lichtenberger A, Hildebrandt F.* No evidence for genotype/phenotype correlation in NPHS1 and NPHS2 mutations. *Pediatr Nephrol* 2004 (in press).

132. *Simons M, Schwarz K, Kriz W, Miettinen A, Reiser J, Mundel P, Holtbofer H.* Involvement of lipid rafts in nephrin phosphorylation and organization of the glomerular slit diaphragm. *Am J Pathol* 2001; 159: 1069–1077.

133. *Smoyer WE, Mundel P, Gupta A, Welsb MJ.* Podocyte alpha actinin induction precedes foot process effacement in experimental nephrotic syndrome. *Am J Physiol* 1997; 273: F150–F157.

134. *Smoyer WE, Mundel P.* Regulation of podocyte structure during the development of nephrotic syndrome. *J Mol Med* 1998; 76: 172–183.

135. *Somlo S, Mundel P.* Getting a foothold in nephrotic syndrome. *Nat Genet* 2000; 24: 333–335.

136. *Srivastava T, Whiting JM, Garola RE, Dasouki MJ, Ruotsalainen V, Tryggvason K, Hamed R, Alon US.* Podocyte proteins in Galloway-Mowat syndrome. *Pediatr Nephrol* 2001; 16: 1022–1029.

137. *Takeda T, McQuistan T, Orlando RA, Farquhar MG.* Loss of glomerular foot processes is associated with uncoupling of podocalyxin from the actin cytoskeleton. *J Clin Invest* 2001; 108: 289–301.

138. *Takeda T, Go WY, Orlando RA, Farquhar MG.* Expression of podocalyxin inhibits cell-cell adhesion and modifies junctional properties in Madin-Darby canine kidney cells. *Mol Biol Cell* 2000; 11: 3219–3232.

139. *Takeichi M, Hatta K, Nose A, Nagafuchi A.* Identification of a gene family of cadherin cell adhesion molecules. *Cell Differ Dev* 1988; 25 (Suppl.): 91–94.

140. *Thomas PE, Wharram BL, Goyal M, Wiggins JE, Holzman LB, Wiggins RC.* GLEPP1, a renal glomerular epithelial cell (podocyte) membrane protein-tyrosine phosphatase: Identification, molecular cloning, and characterization in rabbit. *J Biol Chem* 1994; 269: 1953–1956.

141. *Topham PS, Kawachi H, Haydar SA, Chugh S, Addona TA, Charron KB, Holzman LB, Shia M, Shimizu F, Salant DJ.* Nephritogenic mAb 5-1-6 is directed at the extracellular domain of rat nephrin. *J Clin Invest* 1999; 104: 1559–1566.

142. *Tryggvason K.* Unraveling the mechanisms of glomerular ultrafiltration: nephrin, a key component of the slit diaphragm. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 2440–2445.

143. *Tryggvason K, Ruotsalainen V, Wartiovaara J.* Discovery of the congenital nephrotic syndrome gene discloses the structure of the mysterious molecular sieve of the kidney. *Int J Devel Biol* 1999; 43: 445–451.

144. *Tsukita S, Furuse M, Itoh M.* Multifunctional strands in tight junctions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2: 285–293.

145. *Turner CE, Glenney JR, Burridge K.* Paxillin: a new vinculin-binding protein present in focal adhesions. *J Cell Biol* 1990; 111: 1059–1068.

146. *Volkman N.* Structure of Arp2/3 complex in its activated state and in actin filament branch junctions. *Science* 2001; 293: 2456–2459.

147. *Wang SX, Rastaldi MP, Patari A, Abola H, Heikkila E, Holtbofer H.* Patterns of nephrin and a new proteinuria-associated protein expression in human renal diseases. *Kidney Int* 2002; 61: 141–147.

148. *Weber S, Gribouval O, Esquivel EL, Moriniere V, Tete MJ, Legendre C, Niaudet P, Antignac C.* NPHS2 mutation analysis shows genetic heterogeneity of steroid-resistant nephritic syndrome and low post-transplant recurrence. *Kidney Int* 2004; 66: 571–579.

149. *Welsch T, Endlich N, Kriz W, Endlich K.* CD2AP and p130Cas localize to different F-actin structures in podocytes. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; 281: F769–777.

150. *Wernerson A, Duner F, Pettersson E, Widholm SM, Berg U, Ruotsalainen V, Tryggvason K, Hultenby K, Soderberg M.* Altered ultrastructural distribution of nephrin in minimal change nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 70–76.

151. *Wharram BL, Goyal M, Gillespie PJ, Wiggins JE, Kershaw DB, Holzman LB, Dysko RC, Saunders TL, Samuelson LC, Wiggins RC.* Altered podocyte structure in GLEPP1 (Ptpo)-deficient mice associated with hypertension and low glomerular filtration rate. *J Clin Invest* 2000; 106: 1281–1290.

152. *Whiteside C, Prutis K, Cameron R, Thompson J.* Glomerular epithelial detachment, not reduced charge density, correlates with proteinuria in adriamycin and puromycin nephrosis. *Lab Invest* 1980; 61: 650–660.

153. *Whiteside CI, Cameron R, Munk S, Levy J.* Podocytic cytoskeletal disorganization and basement-membrane detachment in puromycin aminonucleoside nephrosis. *Am J Pathol* 1993; 142: 1641–1653.

154. *Williamson RA, Henry MD, Daniels KJ, Hrstka RF, Litt J, Sunada Y, Ibraghimov-Beskrounaya O, Campbell KP.* Dystroglycan is essential for early embryonic development: Disruption of Reichert's membrane in Dag1-null mice. *Hum Mol Gen* 1997; 6: 831–841.

155. *Yan K, Kbosmoodi J, Ruotsalainen V, Tryggvason K.* N-linked glycosylation is critical for the plasma membrane localization of nephrin. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1385–1389.

156. *Yaoita E, Kawasaki K, Yamamoto T, Kihara I.* Variable expression of desmin in rat glomerular epithelial cells. *Am J Pathol* 1990; 136: 899–908.

157. *Yuan H, Takeuchi E, Salant DJ.* Podocyte slit-diaphragm protein nephrin is linked to the actin cytoskeleton. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 282: 585–591.

158. *Yuan H, Takeuchi E, Taylor GA, McLaughlin M, Brown D, Salant DJ.* Nephrin dissociates from actin, and its expression is reduced in early experimental membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 946–956.

159. *Zhang SY, Marlier A, Gribouval O, Gilbert T, Heidet L, Antignac C, Gubler MC.* *In vivo* expression of podocyte slit diaphragm-associated proteins in nephritic patients with NPHS2 mutation. *Kidney Int* 2004; 66: 945–950.