

Síndrome Nefrótica Idiopática da Criança

Aspectos Etiopatogénicos

F. COELHO ROSA

Resumo

Os actuais conhecimentos sobre a etiopatogenia da Síndrome Nefrótica Idiopática da Criança, resultam da investigação desenvolvida nas áreas da imunologia, genética e biologia moleculares, procurando compreender o efeito e mecanismo de acção de mediadores circulantes e locais, libertados na sequência da estimulação de um sistema imunitário anormal e levando a um aumento da permeabilidade do filtro glomerular às proteínas plasmáticas, com consequente proteinúria. No presente trabalho são compilados dados recentes dessa investigação, demonstrando a importância específica para o processo, de anomalias do número e função de células imunitárias, da libertação de citocinas e do efeito de radicais livres de oxigénio sobre a barreira glomerular, bem como da estrutura molecular dessa barreira e dos aportes da genética para a sua compreensão.

Palavras-chave: Síndrome nefrótica; etiopatogenia, proteinúria; filtro glomerular

Summary

Idiopathic Nephrotic Syndrome in Childhood – Etiopathogenic features

Present knowledge about the etiopathogenesis of Idiopathic Nephrotic Syndrome in Childhood is based on the results provided by the research in Immunologic, Genetic and Molecular Biology fields, trying to understand the effect and the mechanism of action of circulating and local mediators, produced after stimulation of an abnormal immune system and inducing an increased permeability of the glomerular filter to plasma proteins and subsequent proteinuria. In the present paper, recent data are reviewed, demonstrating the particular importance of abnormal number and function of immune cells, the production of cytokines and the effect of oxygen free radicals on the glomerular barrier, as far as the molecular structure of that barrier and the contribution of genetics to its understanding.

Key-words: Nephrotic syndrome; etiopathogeny; proteinuria; glomerular barrier

Introdução

Apesar de todos os progressos efectuados na compreensão da síndrome nefrótica idiopática (SNI) da criança, muito há ainda a esclarecer, nomeadamente sobre os mecanismos íntimos que desencadeiam e mantêm a sua manifestação fulcral, a proteinúria.

A conjugação dos dados adquiridos em paralelo, ainda que não em simultâneo, provenientes da investigação levada a cabo sobre a sua etiopatogenia com os resultados de diversos esquemas terapêuticos utilizados, tem permitido dar passos seguros no sentido do esclarecimento da verdadeira natureza da situação, no da sua decomposição no conjunto de doenças que na realidade lhe estão subjacentes e no do claro entendimento do processo que lhes serve de denominador comum. Relativamente ao primeiro e terceiro aspectos foram cruciais os conhecimentos adquiridos através da evolução de novas tecnologias no âmbito da imunologia, da biologia molecular e da genética. No que respeita ao segundo, foram fundamentais as classificações dos doentes em grupos, como resultado da sua resposta a diferentes medicamentos e protocolos terapêuticos.

Deste modo, sabemos hoje tratar-se de uma síndrome resultante da resposta anormal de um sistema imunitário deficiente a estímulos diversos, que através de mediadores circulantes e locais provoca alterações no filtro glomerular, permitindo o aparecimento de proteinúria, expressando-se por um quadro de características influenciadas pela idade em que surge e, de alguma forma, pela constituição genética do próprio doente.

Imunologia

Desde cedo o tipo de situações desencadeantes, incluindo as localizadas ao aparelho respiratório, as traduzi-

das por manifestações cutâneas de natureza alérgica como as resultantes da picada de insecto⁽¹⁾ ou por manifestações intestinais inerentes a processos como a intolerância às proteínas do leite de vaca⁽²⁾ e por outro lado, a verificação da maior susceptibilidade destes doentes a infecções no período de crise e a resposta favorável a imunossuppressores, sugeriram uma anomalia do sistema imunitário como base da síndrome, mais concretamente apontada por Shaloub em 1974, o qual propôs alterações numéricas e funcionais dos linfócitos T como a sua causa primeira⁽³⁾. Entretanto foi demonstrada a existência de associações entre SNI na criança e diversos tipos do sistema HLA^(4,5,6,7) e da evolução desfavorável de casos corticossensíveis com alguns desses tipos⁽⁸⁾. Pela via terapêutica, a prova da existência de factores circulantes desencadeantes do processo foi dada pelo reaparecimento da síndrome em doentes transplantados com rim de cadáver^(9,10) e pela sua prevenção por plasmaferese no mesmo tipo de doentes^(11,12).

Neste contexto foi desenvolvida investigação no âmbito da imunologia, quer no sentido da compreensão do contributo das células imunitárias para o processo, quer no da identificação de mediadores com capacidade de alterar a permeabilidade da barreira glomerular relativamente à albumina circulante, entre os quais se admitiram substâncias diversas tais como proteínas catiónicas^(13,14,15), linfoquinas^(16,17,18) e outros factores plasmáticos^(19,20,21,22). Assim, foram efectuados inúmeros estudos no sentido de detectar um eventual clone anormal de células T e compreender o seu papel na doença, demonstrando vários deles a existência de linfócitos anormais em número e em função^(23,24). Mais recentemente foram encontrados ritmos elevadas de apoptose de linfócitos CD3⁺ e T helper (CD3⁺ CD4⁺) na fase aguda do síndrome, que poderão contribuir para as suas alterações numéricas⁽²⁵⁾.

Paralelamente diversas citocinas foram consideradas como candidatas primárias a mediadores envolvidas na patogénese da síndrome^(26,27), nomeadamente as interleucinas pró-inflamatórias com importância fundamental na função "helper" e iniciadora das respostas imunitárias das células T e B⁽²⁸⁾. Neste âmbito Saxena e colaboradores demonstraram aumento dos níveis da Interleucina 1 (IL-1) em sobrenadantes de plasma de doentes com SNI comparativamente a controlos normais⁽²⁹⁾. Na urina e plasma de doentes com SNI foi também encontrada elevação do Factor de Necrose Tumoral (TNF- α)⁽³⁰⁾. Por seu lado, o trabalho de Kim S e colaboradores sugere que a IL1ra ("Interleucin 1 receptor antagonist"), que é uma interleucina anti inflamatória, possa também estar implicada na susceptibilidade destes doentes à SNI⁽²⁸⁾. Em doentes com SNI corticossensível em fase de recidiva foi ainda verificada a diminuição da produção de interferon γ (IFN- γ) pelas células mononucleares do sangue periférico⁽³¹⁾.

Como aporte pela via terapêutica, verificaram-se recentemente bons resultados em doentes com SNI corticossensível de vários tipos, traduzidos por remissão completa em 81% dos casos, com a utilização de tacrolimus⁽³²⁾, antibiótico macrólido com uma acção inibidora selectiva das células "helper" CD4 e um potencial supressor do factor de permeabilidade responsável pelo desenvolvimento de esclerose glomerular segmentar e focal (EGSF)⁽³³⁾.

Estrutura Molecular do filtro glomerular e suas alterações no SNI

Por seu lado, os dados obtidos com base na síndrome nefrótica induzida em ratos pela administração da puromicina aminonucleotidase (PAN)⁽³⁴⁾, sobreponível clínica e histologicamente à síndrome nefrótica a lesões mínimas (SNLM), a pesquisa efectuada sobre a importância da carga eléctrica do filtro glomerular e das suas alterações em situações de proteinúria⁽¹⁹⁾, os conhecimentos recentemente adquiridos sobre a estrutura desse mesmo filtro em termos moleculares⁽³⁵⁾ e sobre factores capazes de alterar, nomeadamente radicais livres de oxigénio^(36,37) representaram passos importantes na compreensão do componente fundamental da síndrome, isto é, a alteração da permeabilidade da barreira glomerular à albumina.

A barreira glomerular de filtração consiste numa camada fenestrada endotelial, uma membrana basal extracelular e uma terceira camada formada pelo conjunto de células epiteliais (podócitos), assentes sobre a anterior e interdigitando os seus pedicelos e o diafragma ou membrana fendida. As alterações renais ultraestruturais do SNLM localizam-se no glomérulo, especificamente nas células epiteliais glomerulares, e consistem no apagamento e retração dos pedicelos com perda da integridade da barreira de filtração e do diafragma fendido⁽³⁸⁾.

Para a manutenção da integridade da barreira, e independentemente de outros eventuais factores é essencial a presença de nefrina, uma glicoproteína membro da super-família das imunoglobulinas, localizada no diafragma fendido e que parece ser uma molécula de adesão dos podócitos⁽³⁹⁾. Não se conhece ainda a sequência de passos celulares e moleculares entre a perda de nefrina e a proteinúria, no entanto modelos experimentais animais apoiam o papel da nefrina na patogénese primária da proteinúria^(40,41,42).

Por outro lado, estudos realizados em ratos com nefrose induzida pelo PAN, em cuja patogénese não parece haver contributo de processos imunológicos ou inflamatórios, sugerem envolvimento de radicais livres de oxigénio, tais como o superóxido e radicais hidroxil, na sua patogénese⁽⁴³⁾ e possibilidade de protecção glomerular dos seus efeitos, por parte dos glucocorticoides⁽⁴⁴⁾. Os glomérulos isolados desses ratos mostram aumento da quimioluminescência em luminol^(36,37) e níveis elevados de ma-

londialdeído^(43,45). Outros estudos, no mesmo tipo de modelo animal, sugerem que a peroxidação lipídica desempenhe um papel na patogénese, com base na melhoria produzida na síndrome pela suplementação em α -tocoferol⁽⁴³⁾.

Por outro lado admite-se que uma relativa deficiência de antioxidantes possa resultar da hiperlipidémia, na fase aguda do SNI⁽⁴⁶⁾. Neste contexto, foi verificada a existência de um ratio diminuído de vitamina E /LDL-colesterol e maior quantidade de partículas LDL carregadas negativamente (oxidadas), bem como diferentes oxisterois, crendo-se que a acumulação destes produtos poderá ser citotóxica⁽⁴⁷⁾. Foi também demonstrado que dietas deficientes em selénio e em Vitamina E podem provocar lesão renal, caracterizada por proteinúria e diminuição do débito de filtração glomerular⁽⁴⁸⁾. Utilizando uma técnica de ressonância electrónica, Nakakura H. e colaboradores verificaram o aumento dos níveis de radicais ascorbato nos glomérulos de rins de ratos com nefrose induzida pela PAN, assim como uma correlação positiva desses níveis com a proteinúria de 24 horas e uma diminuição da excreção de proteínas após suplementação com vitamina E⁽⁴⁹⁾. Este último efeito, bem como idêntico resultado com o selénio, foi também demonstrado noutro trabalho⁽⁵⁰⁾. A administração de extracto de semente de uva, considerado um potente oxidante, a ratos com nefrose induzida pelo PAN, diminuiu a excreção urinária de proteína e os níveis plasmáticos de triglicéridos⁽⁵¹⁾. Por seu lado, com base na determinação dos níveis de selénio e na actividade do glutatião peroxidase, Fydryk J e colaboradores obtiveram resultados sugestivos de um defeito persistente nas defesas anti oxidação⁽⁵²⁾.

Admite-se que os radicais livres de oxigénio possam também estar envolvidos na libertação de citoquinas nos linfócitos circulantes e nas células renais⁽⁵³⁾. Paralelamente foi encontrada uma correlação negativa entre a actividade da glutatião - redutase e a apoptose dos linfócitos, sugerindo que uma defesa diminuída antioxidante poderá contribuir para o aumento da apoptose dos linfócitos circulantes⁽²⁵⁾.

Entretanto, a pesquisa sobre o mecanismo de acção de factores circulantes, já anteriormente relacionados com o aumento da permeabilidade da barreira glomerular à proteína por efeito directo sobre moléculas da matriz glomerular⁽⁵⁴⁾ veio sugerir a sua dependência de oxigénio ou de produtos de O_2 ⁽⁵⁵⁾. Por seu lado, os oxidantes inibem a síntese de novo de proteinoglicanos^(56,57) e poderão causar despolimerização dos heparanosulfatos das células endoteliais glomerulares e da membrana basal, com perda da carga electronegativa e consequente proteinúria^(58,59,60).

Genética

A hipótese da influência de factores genéticos na base e na expressão clínica da SNI, foi apoiada recentemente

pela verificação da maior incidência de *EGSF* em crianças de raça negra⁽⁶¹⁾. Paralelamente, a detecção de mutações no gene supressor do tumor de Wilms (*WT1*) em situações clínicas em que a síndrome nefrótica, ainda que não o SNLM, representa uma componente de síndromes mais complexas tais como a de Drash^(62,63) e a de Frasier⁽⁶⁴⁾ e em casos de esclerose mesangial difusa isolada^(65,66), bem como a identificação do defeito genético e das correspondentes moléculas codificadas na síndrome nefrótica congénita tipo Finlandês (*SNCF*) vieram comprovar as suspeitas iniciais sobre a importância da genética nesta síndrome e abrir uma outra linha de investigação em grande expansão no momento actual. Na *SNCF*, doença hereditária de transmissão autosómica recessiva, com manifestações clínicas sobreponíveis à da síndrome nefrótica por lesões mínimas, histologicamente caracterizada também por apagamento e fusão dos podócitos foi demonstrada a ausência de nefrina glomerular devida a mutações no gene *NPHS*⁽⁶⁷⁾.

Ao contrário porém do que se verificou na *SNCF*, estudos imunohistoquímicos efectuados em crianças com formas adquiridas de SNLM ou com *EGSF*, não mostraram diferenças significativas de expressão de nefrina glomerular ou padrões de localização anormal quando comparado com glomérulos normais⁽⁶⁸⁾. No entanto, existem estudos efectuados em adultos com SNI em que se verifica um padrão granular de distribuição da nefrina em vez do padrão linear de controlos normais^(69,70,71), revelando também a este nível a diferença existente entre o SNI da criança e do adulto já reconhecida por outros aspectos.

Deste modo, os resultados obtidos até à data permitem admitir que o cruzamento de informação proveniente da exploração das linhas de investigação atrás referidas dará resposta a curto prazo a muitas das perguntas que ainda hoje se colocam sobre a SNI e a encontrar soluções terapêuticas ajustadas às suas diversas formas.

Bibliografia

1. Tasic V. Nephrotic syndrome in a child after a bee sting. *Pediatr Nephrol* 2000; 15: 245-47
2. Salazar de Sousa J, Coelho Rosa F, Baptista A, Fonseca H, Sá G. *Ped Gastroent Nutr* 1995; 21: 235-37
3. Shalhoub RJ. Pathogenesis of lipid nephrosis: a disorder of T cell function. *Lancet* 1974; II: 556-60
4. McEnery PT, Welch TR. Major histocompatibility complex antigens in steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 1989; 3: 33-37
5. Nunez-Roldan A, Villechenous E, Fernandez -Andrade C, Martin-Govantes J. Increased HLA-DR7 and decreased DR2 in steroid-responsive nephrotic syndrome. *New Engl J Med* 1982; 306: 366-67
6. Bakr AM, El-Ghenawy F. HLA-DQB1 and DRB1 alleles in Egyptian children with steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 1998; 12: 234-37
7. Al-Eisa AA, Haider MZ, Srivasta BS. HLA-DRB1 alleles in Kuwaiti children with idiopathic nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2000; 15: 79-81
8. Bouissou F, Meissner I, Konrad M, Sommer E, Mytilineos J, Ohayon

- E, et al. A Clinical implications from studies of HLA antigens in idiopathic nephrotic syndrome in children. *Clin Nephrol* 1995; 44: 279-83
9. Hoyer JR, Vernier RL, Najarian JS, Raij L, Simmons RL, Michael AF. Recurrence of idiopathic nephrotic syndrome after renal transplantation. *Lancet* 1972; 773: 343-48
 10. Ramos EL. Recurrent diseases in the renal allograft. *J Am Soc Nephrol* 1991; 2: 109-21
 11. Savin VJ. Mechanisms of proteinuria in noninflammatory glomerular diseases. *Am J Kidney Dis* 1993; 21: 347-62
 12. Dantal J, Bigot E, Bogers W, Testa A, Kriaa F, Jacques Y, et al. Effect of plasma protein absorption on protein excretion in kidney transplant recipients with recurrent nephritic syndrome. *N Engl J Med* 1994; 330: 7-14
 13. Levin M, Smith C, Walters MDS, Gascoine P, Turner MW, Barratt TM. Steroid responsive nephrotic syndrome, a generalized disorder of membrane negative charge. *Lancet* 1985; II: 239-42
 14. Ghiggery GM, Ginevri F, Candiano G, Olleggini R, Perfumo F, Queirolo C, et al. Characterization of cationic albumin in minimal change nephropathy. *Kidney Int* 1987; 32: 547-53
 15. Sá A, Fidalgo A, Mendonça P, Coelho Rosa F. Eosinophil Cationic Protein and Nephrotic Syndrome. *Pediatr Nephrol* 1997; 115: C30
 16. Lagrue G, Xheneumont S, Branellec A, Hirbec G, Weil B. A vascular permeability factor elaborated from lymphocytes. Demonstration in patients with nephrotic syndrome. *Biomedicine* 1975; 23: 37-49
 17. Tomizawa S, Maruyama K, Nagasawa N, Susuky S, Kuroume T. Studies of vascular permeability factor derived from T lymphocytes and inhibitory effect of plasma on its production in minimal change nephrotic syndrome. *Nephron* 1985; 41:157-60
 18. Koyama A, Fujisaki M, Kobayashi M, Igarashi M, Narita M. A glomerular permeability factor produced by human T cell hybridomas. *Kidney Int* 1991; 40: 453-460
 19. Wilkinson A, Williams DG, Gillespie C, Hartley B. Nephrotic plasma increases proteinuria and reduced anionic sites on the glomerular basement membrane in vivo in NZW rabbits. *Kidney Int* 1986; 29: 295
 20. Bakker WW, van Luijk WHJ. Do circulating factors play a role in the pathogenesis of minimal change nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 1989; 3: 341-49
 21. Savin VJ, Sharma R, Sharma M, McCarty ET, Swan SK, Ellis E, et al. Circulating factor associated with increased glomerular permeability to albumin in recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *N Engl J Med* 1996; 334: 878-83
 22. Bakker WW, Baller JFW, van LuijkWHJ. A kallikrein-like molecule and plasma vasoactivity in minimal change disease. *Contrib Nephrol* 1988; 67: 31-36
 23. Kobayashi K, Yoshikawa N, Nakamura H. T-cell subpopulations in childhood nephrotic syndrome. *Clin Nephrol* 1994; 41: 253-58
 24. Topaloglu R, Saatci U, Arıkan M, Canpınar H, Bakkaloglu A, Kansu E. T-cell subsets, interleukin 2 (IL-2) receptor expression and production of interleukin 2 in minimal change nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 1994; 8: 649-52
 25. Zachwiega J, Bobkowsky W, Zaniew M, et al. Apoptosis and antioxidant defense in the nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2003; 18: 1116-121
 26. Cho BS, Yoon SR, Jang JY, Pyun KH, Lee CE. Upregulation of interleukin-4 and CD23/Fcεpsin RH in minimal change nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 1999; 13: 199-04
 27. Mathieson PW. Cytokine polymorphism and nephrotic syndrome. *Clin Sci Colch* 2002; 105: 513-14
 28. Kim SD, Park JM, Kim IS, Choi KD, Lee BC, Lee SH, et al. Association of IL-1β, IL-1ra, and TNF-α gene polymorphisms in childhood nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2004; 19: 295-99
 29. Saxena S, Mittal A, Andal A. Pattern of interleukins in minimal change nephrotic children of childhood. *Nephron* 1993; 65: 56-61
 30. Suranyi MG, Guash A, Hall BM, Myers BD. Elevated levels of tumor necrosis factor-α in the nephrotic syndrome in humans. *A J Kidney Dis* 1993; 21: 251-59
 31. Stefanovic V, Golubovic E, Mitić-Zlatkovic M, Vlahovic P, Jovanovic O, Bogdanovic R. Interleukin -12 and interferon-γ production in childhood idiopathic nephritic syndrome. *Pediatr Nephrol* 1998; 12: 463-66
 32. Loeffler K, Gowrishankar M, Yiu V. Tacrolimus therapy in pediatric patients with treatment-resistant nephritic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2004; 19: 281-87
 33. Denton MD, Magee CC, Sayeh MH. Immunosuppressive strategies in transplantation. *Lancet* 1999; 353: 674
 34. Caulfield JP, Farquhar MG. Loss of anionic sites from the glomerular basement membrane in aminonucleoside nephrosis. *Lab Invest* 1978; 39: 505-12
 35. Oh J, Reiser J, Mundel P. Dynamic reorganization of the podocyte actin cytoskeleton in the nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2004; 19: 130-37
 36. Nakamura K, Kojima K, Arai T, Shirai M, Usutani S, Akimoto H et al. Dipyridamole and dilasep suppress oxygen radicals in puromycin aminonucleoside nephrosis rats. *Eur J Clin Invest* 1998; 28: 877-83
 37. Gwinner W, Landmesser U, Brandes RP, Kubat B, Plasger J, Eberhard O et al. Reactive oxygen species and antioxidant defense in puromycin aminonucleoside glomerulopathy. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1722-31
 38. Smoyer WE, Mundel P. Regulation of podocyte structure during the development of nephrotic syndrome. *J Mol Med* 1998; 76: 172-83
 39. Ruotsalainen V, Ljungberg P, Wartiovaara J, Lenkkeri U, Kestila M, Jalanko H, et al. Nephlin is specifically located at the slit diaphragm of glomerular podocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96:7962-67
 40. Yuan H, Takeuchi E, Taylor GA, McLaughlin M, Brown D, Salant DJ. Nephlin dissociates from actin and its expression is reduced in early experimental membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 946-56
 41. Luimula P, Aaltonen P, Ahola H, Palmen T, Holthofer H. Alternatively spliced nephrin in experimental glomerular disease of the rat. *Pediatr Res* 2000; 48: 759-62
 42. Rantanen M, Palmen T, Patari A, Ahola H, Lehtonen S, Astrom E et al. Nefrin TRAP mice lack slit diaphragms and show fibrotic glomeruli and cystic tubular lesions. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1586-94
 43. Chaverri JP, Arevalo AE, Pando RH, Sahd JL. Effect of dietary antioxidants on puromycin aminonucleoside nephrotic syndrome. *Int J Biochem Cell Biol* 1995; 27: 683-91
 44. Kawamura T, Yoshioka T, Bills T, Fogo A, Ichikawa I. Glucocorticoid activates glomerular antioxidant enzymes and protects glomeruli from oxidant injuries. *Kidney Int* 1991; 40: 291-01
 45. Shibouta Y, Terashita Z, Imura Y, Shino A, Kawamura M, Ohtsuki K et al. Involvement of thromboxane A2 leukotrienes and free radicals in puromycin nephrosis in rats. *Kidney Int* 1991 39: 920-29
 46. Fydyk J, Jacobson E, Kurzawska O, Malecka G, Gonet B, Urasinski T et al. Antioxidant status of children with steroid-sensitive nephritic syndrome. *Pediatr Nephrol* 1998; 12: 751-54
 47. Skrzep-Polockzek B, Tomasik A, Tarnawski R, Hyla-Klekt L, Dyduch A, Wojciechowska C et al. Nephrotic origin hyperlipidemia, relative reduction of vitamin E level and subsequent oxidative stress may promote atherosclerosis. *Nephron* 2001; 89: 68-72
 48. Baliga R, Baliga M, Shah SV. Effect of selenium deficient diet in experimental glomerular disease. *Am J Physiol* 1992; 263: F56-F61
 49. Nakakura H, Ashida A, Hirano K, Tamai H. Oxidative stress in a rat model of nephrosis can be quantified by electron spin resonance. *Pediatr Nephrol* 2004; 19: 266-70
 50. Pedraza-Chaverri J, Arevalo AE, Hernandez-Pando R, Larriva-Sahd J. Effect of dietary antioxidants on puromycin aminonucleoside nephrotic syndrome. *Int J Biochem Cell Biol* 1995; 27: 683-91

51. Mattoo TK, Kovacevic L. Effect of grape seed extract on puromycin-aminonucleoside-induced nephrosis in rats. *Pediatr Nephrol* 2003; 18: 872-77
52. Fydryk J, Olzewska M, Urasinski T, Brodkiewicz A. Serum Selenium level and glutathione peroxidase activity in steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Pediatric Nephrol* 2003; 18: 1063-65
53. Chandel NS, Trzysma WC, McClintock DS, Schumacker PT. Role of oxidants in NF-kB activation and TNT-alpha gene transcription induced by hypoxia and endotoxin. *J Immunol* 2000; 165: 1013-21
54. Bakker WW, van Luijk WH. A kallikrein-like molecule and plasma vasoactivity in minimal change disease. *Contrib Nephrol* 1988; 67: 31-6
55. Cheung PK, Baller JFW, Bakker WW. Oxygen-dependent injury by a human plasma factor associated with minimalchange disease. *Pediatr Nephrol* 1998; 12: 452-58
56. Ichikawa I, Kyiama S, Yoshioka T. Renal anti-oxidant enzymes. *Kidney Int* 1994; 45: 1-9
57. Kashihara N, Watanabe Y, Makino H, Wallner EI, Kanwar YS. Selective decrease de novo synthesis of glomerular proteoglycans under the influence of reactive oxygen species. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89: 6309-13
58. Diamond JR. The role of reactive oxygen species in animal models of glomerular disease. *Am J Kidney Dis* 1992; 19: 292-300
59. Andreoli SP. Reactive oxygen molecules, oxidant injury and renal disease. *Pediatr Nephrol* 1991; 5: 733-42
60. Raats CJI, Bakker MAH, an den Born J, Berden JHM. Hydroxyl radicals depolymerise glomerular heparin sulphate in vitro and in experimental nephrotic syndrome. *J Biological Chemistry* 1997; 272: 26734-41
61. Sorof JM, Hawkins EP, Brewer ED, Boydston I I, Kale AS, Poell DR. Age and ethnicity affect the risk and outcome of focal segmental glomerulosclerosis. *Pediatr Nephrol* 1998; 12: 764-68
62. Pelletier J, Bruening W, Kashtan CE, Mauer SM, Manivel JC, Strigel JE *et al.* Germline mutations in the Wilms' tumor suppressor gene are associated with abnormal urogenital development in Denys-Drash syndrome. *Cell* 1992; 67: 437-47
63. Baird PN, Santos A, Groves N, Jadresic L, Cowell JK. Constitutional mutations found in the WT1 gene in patients with Denys-Drash syndrome. *Human Mol. Genet* 1992; 1: 301-05
64. Barbaux S, Niaudet P, Gubler MC, Grunfeld JP, Jaber F, Kuttan F *et al.* Donor-splice-site mutations in WT1 are responsible for Frasier syndrome. *Nat Genet* 1997; 17: 467-70
65. Jeanpierre C, Denamur E, Henry I, Cabanis MO, Luce S, Cecille A *et al.* Identification of constitutional WT1 mutations, in patients with isolated diffuse mesangial sclerosis, and analyses of genotype/phenotype correlations by use of a computerized mutation database. *Am J Hum Genet* 1998; 62: 824-33
66. Ito S, Ikeda M, Takata A., Kikuchi H, Hata J, Honda M. Nephrotic syndrome and end stage renal disease with WT1 mutation detected at 3 years. *Pediatr Nephrol* 1999; 13: 790-91
67. Tryggvason K. Unraveling the mechanism of glomerular ultrafiltration: nephrin, a key component of the slit diaphragm. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 2440-45
68. Hingorani SR, Finn LS, Kowalewska J, McDonald RA, Eddy AA. Expression of nephrin in acquired forms of nephrotic syndrome in childhood. *Pediatr Nephrol* 2004; 19: 300-05
69. Doublier S, Ruotsalainen V, Salvidio G, Lupia E, Biancone L, Conaldi PG *et al.* Nephrin redistribution on podocytes is a potential mechanism for proteinuria in patients with primary acquired nephrotic syndrome. *Am J Pathol* 2001; 158: 1723-31
70. Kim KB, ong KH, Kim HJ, Lee SH. Differential expression of nephrin acquired human proteinuric diseases. *Am J Kidney Dis* 2002; 40: 964-73
71. Wernerson A, Duner F, Petterson E, Witholm SM, Berg U, Ruotsalainen V *et al.* Altered ultrastructural distribution of nephrin in minimal change nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 70-6