

Received: 2006.02.02  
Accepted: 2006.04.07  
Published: 2006.05.08

## Znaczenie podocytów w prawidłowym funkcjonowaniu kłębuszka nerkowego oraz w patogenezie kłębuszkowych zapaleń nerek. Część II. Zmiany fenotypowe i funkcjonalne podocytów w przebiegu kłębuszkowych zapaleń nerek

The role of podocytes in normal glomerular function and in the pathogenesis of glomerulonephritis. Part II. Phenotypic and functional changes of podocytes in glomerulonephritis

**Anna Kubiak, Zofia I. Niemir**

Pracownia Nefrologii Molekularnej, Katedra i Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej im. K. Marcinkowskiego w Poznaniu

### Streszczenie

Wyniki dotychczasowych badań wskazują na udział własnych komórek kłębuszka nerkowego (podocytów, komórek mezangium i śródbłonna) w toczącym się w nim procesie zapalnym. Szczególną uwagę zwraca się na znaczenie uszkodzenia podocytów w patogenezie kłębuszkowych chorób nerek. Podocyty to komórki końcowo zróżnicowane, które utraciły zdolność do proliferacji. Niezdolność do podziału jest ceną, jaką podocyt musi zapłacić za wykształcenie wysoko wyspecjalizowanych struktur komórkowych i przyleganie do błony podstawnej. Jedynie w wariancie ogniskowej segmentalnej sklerotyzacji kłębuszków z zapadaniem się włósniczek występuje rozplątanie podocytów, ale proces ten przebiega z utratą markerów charakteryzujących fenotyp dojrzałego podocyta, w szczególności białek wyrostków stopowatych oraz z zaburzeniem ekspresji białek regulujących cykl komórkowy. Ważnym elementem biorącym udział w patogenezie glomerulopatii przebiegających ze znacznym białkomoczem jest dysfunkcja białek wchodzących w kompleks tzw. błon szczelinowych, umiejscowionych między wyrostkami stopowatymi podocytów. Na podstawie ostatnich wyników badań podkreśla się również znaczenie neprylizyny w powstawaniu chorób kłębuszkowych, która jest pierwszym odkrytym antygenem podocytów odpowiedzialnym za błoniaste KZN u ludzi.

**Słowa kluczowe:**

**kłębuszkowe zapalenie nerek • zmiany fenotypowe podocytów**

### Summary

Recent results indicate that intrinsic glomerular cells (podocytes, mesangial and endothelial cells) are active participants in the inflammatory process in the glomerulus. Particular attention is drawn to podocyte injury in glomerulonephritis. Podocytes are end-differentiated cells which have lost their proliferation abilities and can only compensate by hypertrophy. The inability to proliferate

is the cost which a podocyte must pay for the development of highly specialized structures and ability to adhere to the glomerular basement membrane. Collapsing focal-segmental glomerulosclerosis is a condition in which podocytes proliferate, but this process is associated with loss of their maturity markers as well as with abnormalities in the expressions of cell cycle proteins. Dysfunction of slit diaphragms is an important element in the pathogenesis of glomerulopathies with marked proteinuria. Recent studies also underline the importance of nephrilysin in the pathogenesis of glomerulonephritis. This is the first podocytic antigen which has been shown to induce human membranous glomerulonephritis.

**Key words:** glomerulonephritis • phenotypic changes in podocytes

**Full-text PDF:** [http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol\\_60/9124.pdf](http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_60/9124.pdf)

**Word count:** 2888

**Tables:** –

**Figures:** –

**References:** 38

**Adres autorki:** dr hab. n. med. Zofia I. Niemir, Pracownia Nefrologii Molekularnej, Katedra i Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych Akademii Medycznej ul. S. Przybyszewskiego 49, 60-355 Poznań;  
e-mail: [zniemir@usoms.poznan.pl](mailto:zniemir@usoms.poznan.pl)

## WPROWADZENIE

Wyniki dotychczasowych badań wskazują na udział własnych komórek kłębuszka nerkowego (podocytów, komórek mezangium i śródbłonna) w toczącym się w nim procesie zapalnym. Wiele badań poświęcono znaczeniu poszczególnych elementów kłębuszka nerkowego w patogenezie różnych postaci morfologicznych kłębuszkowych zapaleń nerek oraz korelacji obrazu morfologicznego z objawami klinicznymi. Kriz i wsp. zwrócili uwagę na znaczenie uszkodzenia podocytów w progresji chorób kłębuszkowych. Zaobserwowali oni, że odcięcie wypustek stopowatych podocytów od błony podstawnej i jej odsłonięcie prowadzi do powstania zmian sklerotycznych w kłębuszku [14]. Podobnie inni autorzy badali zachowanie się podocytów w poszczególnych postaciach morfologicznych kłębuszkowych zapaleń nerek (KZN) wykorzystując przy tym analizę ekspresji różnych markerów tych komórek

## ZMIANY EKSPRESJI BIAŁEK REGULUJĄCYCH CYKL KOMÓRKOWY PODOCYTÓW W PRZEBIEGU KZN

Przy przedłużającym się działaniu czynnika patogennego komórkami decydującymi o nieodwracalnym uszkodzeniu struktury i funkcji filtra kłębuszkowego okazały się podocyty. Są to komórki końcowo zróżnicowane z charakterystycznymi cechami genotypowymi odpowiadającymi ich funkcji, a możliwości ich kompensacji są ograniczone do przerostu. Dojrzały podocyt nie może ponownie przejść cyklu komórkowego. Pod wpływem silnych bodźców proliferacyjnych, takich jak czynnik wzrostu fibroblastów podocyty sporadycznie przechodzą podział jądra jednak bez podziału cytoplazmy, co w konsekwencji prowadzi do powstania komórek wielojądrowych [34]. U zdrowych szczurów, jak i u szczurów z różnymi chorobami kłębuszkowymi podocyty nie wbudowują tymidyny, co świadczy o braku syntezy kwasów nukleinowych [19]. Cykl komórkowy podocytów jest więc ściśle regulowany i podocyty nie proliferują nawet w warunkach chorobo-

wych. Jest to bardzo istotne dla utrzymania prawidłowego funkcjonowania kłębuszka. Niezdolność do podziału jest ceną, jaką podocyt musi zapłacić za wykształcenie wysoko wyspecjalizowanych struktur komórkowych i przyleganie do błony podstawnej. Jedynie w wariacie ogniskowej, segmentalnej sklerotyzacji kłębuszków z zapadaniem się włośniczek występuje rozplam podocytów, ale proces ten przebiega z utratą białek charakteryzujących fenotyp dojrzałego podocytu oraz z zaburzeniem ekspresji białek regulujących cykl komórkowy [34].

Zdaniem Shanklanda i wsp., wykazanie obecności KI-67 może służyć do podziału chorób kłębuszkowych z udziałem podocytów na te, które przebiegają z zachowaniem dojrzałości fenotypowej i brakiem aktywności mitotycznej podocytów, jak np. submikroskopowe i błoniaste KZN oraz te, w których obserwuje się utratę cech zróżnicowania i proliferację podocytów, czyli komórkowy wariant FSGS z zapadaniem się włośniczek oraz nefropatia związana z HIV [31]. Powyżsi autorzy zaobserwowali spadek ekspresji białek p27 i p57 na podocytach chorych na wariant FSGS z zapadaniem włośniczek i nefropatię związaną z HIV, przy jednoczesnym pojawieniu się ekspresji białka p21 [31]. Niższą ekspresję p27, p57 i cykliny D w przypadkach ogniskowej sklerotyzacji kłębuszków z zapadaniem się włośniczek oraz w nefropatii związanej z HIV wykazali również Barisoni i wsp. [4]. Jednocześnie obserwowano pojawienie się ekspresji cykliny A, p21 oraz Ki-67, co potwierdzało znaczną zmianę fenotypową podocytów, które utraciły cechy dojrzałości i nabyły zdolność do rozplam [4]. Strivastava i wsp. wykazali natomiast spadek ekspresji p27 przy zachowanej ekspresji p57 i niezmięnionej ekspresji cykliny D w zespole nercycowym u dzieci na podłożu FSGS oraz submikroskopowego i mezangialnego KZN [33]. Wynika z tego jednoznacznie, że zmiany fenotypowe podocytów u dzieci z zespołem nercycowym różnią się od zmian obserwowanych u dorosłych z wariantem komórkowym FSGS i z FSGS z zapadaniem się włośniczek oraz w nefropatii związanej z HIV. Wang i wsp.

zaobserwowali pojawienie się ekspresji cykliny E, A i B1 oraz B2 kinazy zależnej od cyklin i białka p21 w podocytach u chorych z komórkowym wariantem FSGS przy braku ekspresji białek p27, p57, WT-1 i cykliny D1 [35].

Qiu i wsp. badali ekspresję białek regulujących cykl komórkowy w przebiegu nefropatii IgA u ludzi. Zaobserwowali oni dużą ekspresję białek p27 i p57 w podocytach zdrowych kłębuszków oraz w kłębuszkach z niewielkimi zmianami oraz znaczny spadek ekspresji tych białek w kłębuszkach z cechami proliferacji oraz zmienionych sklerotycznie. Powyżsi autorzy wysunęli przypuszczenie, że wystąpienie i nasilenie proliferacji komórek mezangialnych i sklerotyzacji zależy od obniżenia ekspresji białek p27 i p57 w podocytach [27].

Yang i wsp. zaobserwowali, że podocyty u chorych z zespołem Denys-Drash z cechami proliferacji podocytów wykazują ekspresję markerów proliferacji: KI67, PCNA i topoisomeryazy II $\alpha$ , a także obniżoną ekspresję WT1 i inhibitorów kinaz zależnych od cyklin – p16 i p21 [36].

### **EKSPRESJA WT1 W PRZEBIEGU KZN**

Obniżoną ekspresję białka WT1 zaobserwowano w kłębuszkach nerkowych chorych na glomerulopatie przebiegające z rozplemem podocytów, tzn. w wariacie FSGS z zapadaniem włóściwek i nefropatii związanej z HIV [4,37]. Wiąże się to z utratą dojrzałości fenotypowej podocytów i nabyciem zdolności proliferacyjnych, co potwierdza obniżona ekspresja inhibitorów cyklu komórkowego (p27 i p57) w powyższych postaciach nefropatii. Ponieważ podocyty są jedynymi komórkami dojrzałej nerki wykazującymi ekspresję WT1 sugeruje się, że białko to może działać jako inhibitor proliferacji [7]. Obserwowana aktywność proliferacyjna zmienionych fenotypowo podocytów może być konsekwencją utraty WT1 lub też zanik WT1 odpowiada za fenotypową dysregulację podocytów z zanikiem wyrostków stopowatych [18]. Obniżoną ekspresję WT1 w kłębuszkach zaobserwowano też w przebiegu glomerulopatii z półksiężycami i sklerotyzacją kłębuszków [8].

### **EKSPRESJA CALLA A KZN**

Obojętna endopeptydaza jest pierwszym odkrytym antygenem podocytów odpowiedzialnym za błoniaste KZN u ludzi [5]. Debiec i wsp. zauważyli, że przeciwciała przeciw obojętnej endopeptydazie wytwarzane przez kobiety ciężarne przechodziły przez łożysko do płodów, u których powodowały wrodzone błoniaste KZN uczestnicząc w formowaniu złogów immunologicznych umiejscowionych w części podstawnej wyrostków stopowatych, a więc w miejscu ekspresji CALLA. Matki miały niedobór obojętnej endopeptydazy, a immunizacja następowała prawdopodobnie po wcześniejszych poronieniach. Debiec i wsp. sugerowali, że wiązanie przeciwciał przeciw CD10 może powodować zmiany fenotypowe podocytów, szczególnie uszkodzenie cytoskieletu, które powoduje wydzielanie ważnych białek podocytów poza komórkę i wytwarza toksyczne mediatory, w tym kolagenazy i wolne rodniki [6].

Dotychczasowe badania wykazały obniżoną ekspresję CALLA w kłębuszkach nerkowych chorych na FSGS z za-

padaniem włóściwek, na nefropatię związaną z HIV oraz zachowaną ekspresję tego białka u chorych na błoniaste i submikroskopowe KZN [4]. Sasaoka i wsp. zaobserwowali obniżoną ekspresję CD10 u chorych na nefropatię IgA, która korelowała z uszkodzeniem funkcji nerek oraz nasileniem zmian histopatologicznych [29].

### **ZMIANY EKSPRESJI BIAŁEK ŁĄCZĄCYCH PODOCYTY Z BŁONĄ PODSTAWNĄ W PRZEBIEGU KZN**

Luimula i wsp. wykazali ubytek ekspresji dystroglikanu u chorych na submikroskopowe KZN [16], natomiast prawidłową jego ekspresję u chorych z FSGS oraz zasugerowali możliwość różnicowania tych dwóch odmiennych prognostycznie glomerulopatii określając ekspresję dystroglikanu [16]. Podobnie Regele i wsp. wykazali obniżoną ekspresję  $\beta$ -dystroglikanu w kłębuszkach nerkowych u chorych na submikroskopowe KZN, podczas gdy ekspresja tego białka u chorych na FSGS była nieznacznie zwiększona. Powyższe wyniki sugerują odmienny mechanizm patogenetyczny zanikania wyrostków stopowatych podocytów w przebiegu FSGS i submikroskopowego KZN [28]. Prawdopodobnie dystroglikan nie odgrywa roli w patogeniezie FSGS. Zaobserwowano również, że ekspresja  $\beta$ -dystroglikanu u chorych na submikroskopowe KZN uległa normalizacji po leczeniu glikokortykosteroidami z jednoczesnym odtworzeniem wyrostków stopowatych podocytów. Autorzy sugerują, że przywrócenie kształtu podocytów i funkcji filtracyjnej kłębuszka na skutek leczenia glikokortykosteroidami wymaga zwiększenia ekspresji dystroglikanu, co jest uzależnione od obecności urotrofiny [28]. Schmid i wsp. zanotowali, że ekspresja dystroglikanu na poziomie mRNA nie była obniżona w podocytach u chorych na submikroskopowe KZN [30].

Integryny to kolejna grupa białek uczestnicząca w przyleganiu podocytów do błony podstawnej. Nasze badania wykazały ekspresję  $\alpha$ V integryny (CD51) na podocytach zdrowej nerki i w przebiegu różnych postaci KZN. Zaobserwowaliśmy zmniejszoną ekspresję CD51 u chorych na KZN w porównaniu do nerki zdrowej, szczególnie w kłębuszkach z wykładnikami gwałtownie postępującego KZN i formowaniem półksiężyców oraz w kłębuszkach zmienionych sklerotycznie [15]. Podobnie Okada i wsp. zaobserwowali zmniejszoną ekspresję integryn w obszarach sklerotycznych w przypadku różnych glomerulopatii [25]. U chorych na gwałtownie postępujące KZN we wczesnych stadiach zaawansowania choroby, Baraldi i wsp. zanotowali znaczny wzrost ekspresji  $\alpha$ V $\beta$ 3 integryny w obszarach odpowiadających podocytom, co może wskazywać na zwiększoną zdolność tych komórek do przylegania do komórek tworzących półksiężycy [2]. Natomiast w obszarach zmienionych sklerotycznie lub z zapadniętymi włóściwkami wykazano zmniejszoną ekspresję tej integryny. Również wyniki naszych badań wskazują na znacznie obniżoną ekspresję CD51 w kłębuszkach w zaawansowanych stadiach KZN z formowaniem półksiężyców. Zaobserwowaliśmy natomiast, podobnie jak Baraldi i wsp., zaznaczoną ekspresję CD51 w samych półksiężycach. Ponieważ fibrynogen i fibronektyna są obecne również w półksiężycach, pełnią one prawdopodobnie funkcję ligandów  $\alpha$ V $\beta$ 3 integryny na komórkach biorących udział w ich formowaniu [2]. Analogicznie do wyników naszych badań, również Baraldi i wsp. obserwowali zwiększoną ekspresję  $\alpha$ V $\beta$ 3 in-

tegryny na komórkach nabłonka cewek u chorych na gwałtownie postępujące KZN [2]. Odkładanie złogów białek macierzy pozakomórkowej może być związane ze zwiększonym wytwarzaniem cytokin i zwiększoną ekspresją integrzyn w gwałtownie postępującym KZN [2].

Shikata i wsp. badali lokalizację integrzyn ( $\beta 1$  oraz  $\alpha V\beta 3$ ) i białek macierzy pozakomórkowej (fibronektyny, witronektyny i kolagenu typu IV) w różnych postaciach morfologicznych KZN. W powyższych badaniach zaobserwowano znaczną ekspresję  $\beta 1$  i  $\alpha V\beta 3$  integrzyn w proliferujących komórkach mezangium w przypadku nefropatii IgA, błoniasto-rozplemowego KZN typu I oraz nefropatii toczniowej klasy IV. Podobnie ekspresja fibronektyny, witronektyny i kolagenu typu IV, a więc ligandów integrzyn była wysoka w obszarach mezangialnych w wyżej wymienionych przypadkach. Zanotowano również ekspresję fibronektyny i witronektyny w obrębie mezangialnych złogów immunologicznych oraz  $\alpha V\beta 3$  integrzyn i witronektyny w obrębie komórkowych półksiężyców w nefropatii toczniowej. W przypadku submikroskopowego KZN, a więc przy braku obecności kompleksów immunologicznych, ekspresja  $\alpha V\beta 3$  integrzyn była znacznie mniejsza i dotyczyła obwodowej części pętli włosniczkowej [32]. Hafdi i wsp. wykazali obecność na podocytach zdrowej nerki  $\alpha V\beta 3$  oraz  $\alpha V\beta 5$  integrzyn. Jednocześnie zaobserwowali oni zwiększoną ekspresję  $\alpha V\beta 5$  integrzyn przy niezmięnionej ekspresji  $\alpha V\beta 3$  integrzyn w kłębuszkach nerkowych u chorych na ostre KZN w obszarach odpowiadającym podocytom. Powyższe dane mogą sugerować istnienie odmiennych szlaków regulacyjnych poszczególnych integrzyn [9].

#### **EKSPRESJA BIAŁEK WYROSTKÓW STOPOWATYCH PODOCYTÓW W PRZEBIEGU KZN**

W dotychczasowych badaniach zaobserwowano spadek ekspresji białek charakterystycznych dla wyrostków stopowatych podocytów (GLEEP-1, podokaliksyna, synaptopodyna) w glomerulopatiach przebiegających z rozplemem podocytów, tj. w wariacie idiopatycznego FSGS z zapadaniem się włosniczek oraz w nefropatii związanej z HIV [3,4,37]. Bariety i wsp. zauważyli brak ekspresji wymienionych białek w podocytach odłączonych od błony podstawnej przy prawidłowej ekspresji w podocytach przylegających do tejże błony [3]. Powyższe dane wskazują na utratę dojrzałości podocytów w FSGS z zapadaniem włosniczek i nefropatii związanej z HIV. Podocyty tracą markery dojrzałości fenotypowej, jakimi są białka związane z wyrostkami stopowatymi i dochodzi do odłączenia wyrostków stopowatych od błony podstawnej, co powoduje znaczny białkomocz i upośledzenie funkcji filtracyjnej. Jednocześnie podocyty nabywają zdolności proliferacyjnych pozbywając się inhibitorów cyklu komórkowego, tj. inhibitorów kinaz cyklinowych p27 i p57 [31]. Ubytku ekspresji GLEEP-1, synaptopodyny i podokaliksyny nie zaobserwowano natomiast w błoniastym i submikroskopowym KZN, które również przebiega z fuzją wyrostków stopowatych podocytów [4,37]. Również ekspresja inhibitorów cyklu komórkowego podocytów utrzymywała się w tych glomerulopatiach na prawidłowym poziomie [31]. Chociaż zanik wyrostków stopowatych podocytów jest wspólną cechą submikroskopowego i błoniastego KZN oraz idiopatycznego FSGS z zapadaniem się włosniczek i HIV-AN, to mechanizm obu tych procesów różni

się znacznie. W przypadku MCD i IMGN ubytek wyrostków stopowatych jest związany z reorganizacją aktywności cytoszkieletu z zachowaną ekspresją synaptopodyny i strukturą ciała komórki oraz wyrostków pierwotnych, podczas gdy w drugim przypadku zanik wyrostków stopowatych wiąże się z utratą elementów cytoszkieletu, synaptopodyny oraz wyrostków pierwotnych [12]. Brak zmian ekspresji markerów dojrzałych podocytów w błoniastym i submikroskopowym KZN, a więc w glomerulopatiach przebiegających z odwracalnymi zmianami morfologicznymi sugeruje, że dysregulacja fenotypowa podocytów stanowi wstęp do nieodwracalnego uszkodzenia kłębuszka nerkowego [37]. Pierwszym etapem tego destrukcyjnego procesu wydaje się jednoczesna utrata cykliny D1 i synaptopodyny obserwowana w morfologicznie prawidłowych kłębuszkach, która skutkuje pojawieniem się cykliny A, białka KI67 oraz zanikiem inhibitorów kinaz cyklinowych p27 i p57. W ten sposób dochodzi do reaktywacji zdolności proliferacyjnych podocytów [37]. Hara i wsp. wykazali zachowaną ekspresję synaptopodyny, podokaliksyny i  $\alpha 3$  integrzyn zarówno w nierozplemowych postaciach KZN, jak i w nefropatii IgA, błoniasto-rozplemowym KZN oraz w nefropatii na podłożu tocznia układowego i choroby Schönleina-Henocha, którym towarzyszył znaczny ubytek ekspresji C3bR [10]. W naszych dotychczasowych badaniach zaobserwowaliśmy spadek ekspresji synaptopodyny zależny od nasilenia rozplemu komórek kłębuszka nerkowego oraz zaawansowania zmian sklerotycznych w kłębuszku w przebiegu KZN [22,23]. Z powyższych danych wynika, że obniżoną ekspresję białek związanych z wyrostkami stopowatymi podocytów obserwuje się w glomerulopatiach wykazujących zanik wyrostków stopowatych połączony z utratą dojrzałości fenotypowej i rozplemem podocytów, czego następstwem jest nieodwracalne uszkodzenie kłębuszków.

#### **EKSPRESJA BIAŁEK BŁON SZCZELINOWYCH A KZN**

Dotychczasowe badania wykazały obniżoną ekspresję nefryny, podocyny i  $\alpha$ -aktywniny 4 w kłębuszkach nerkowych chorych na FSGS, submikroskopowe KZN i nefropatię toczniową, przy zachowanej ekspresji białka CD2AP [13]. Ekspresja powyższych białek w nefropatii IgA była zróżnicowana: obniżona w badaniach Guan i wsp., natomiast porównywalna z nerką zdrową w badaniach Koopa i wsp. [13]. Różnicę tę można wytłumaczyć prawdopodobnie tym, że materiał badań Guan i wsp. stanowiły biopaty nerek pochodzące od dzieci z zespołem nerczycowym. W badaniach Koop i wsp., w przeciwieństwie do obniżonej ekspresji nefryny i podocyny u chorych na FSGS, submikroskopowe KZN i nefropatię toczniową, ekspresja CD2AP była podobna jak w nerce zdrowej. Podobne wyniki uzyskano w nefropatii Heymanna u szczurów [38]. Może to sugerować, że podczas uszkodzenia podocytów dochodzi do uszkodzenia wiązania CD2AP z nefryną i podocyną. Skutkiem tego odłączone białka, nefryna i podocyna ulegają przemieszczeniu poza komórkę i wydaleniemu z moczem. CD2AP natomiast pozostaje przytwierdzone do aktywności cytoszkieletu [38]. Schmid i wsp. zaobserwowali obniżoną ekspresję podocyny na poziomie mRNA w podocytach u chorych na FSGS i błoniaste KZN w porównaniu do nerki kontrolnej i chorych na submikroskopowe KZN [30]. Wymienieni wyżej autorzy zaproponowali współczynnik ekspresji podocyny do synaptopodyny jako wyznacznik różnicujący FSGS od submikroskopowe-

go KZN [30]. Ważnym wydaje się to, że ubytek ekspresji białek błon szczelinowych występuje głównie w glomerulopatiach przebiegających ze znacznym białkomoczem, co potwierdza ważne znaczenie tych struktur w selektywnej przepuszczalności bariery filtracyjnej.

#### **EKSPRESJA BIAŁEK PODOCYTÓW ZAANGAŻOWANYCH W PROCESY IMMUNOLOGICZNE A KZN**

Udział podocytów w procesach immunologicznych jest związany z obecnością na ich powierzchni C3bR. Aktywacja dopełniacza odgrywa główną rolę w patogenezie wielu postaci KZN, prowadzi do uszkodzenia tkanek za pośrednictwem różnych mechanizmów, w tym przez wpływ na wytwarzanie czynników chemotaktycznych i aktywację komórek kłębuszka na skutek odkładania się składowych C5b-9 [20]. Obniżoną ekspresję CR1 zaobserwowano w wielu schorzeniach kłębuszkowych, w tym w błoniastym KZN, nefropatii cukrzycowej, nefropatii IgA oraz nefropatii toczniowej [1]. Wyniki naszych dotychczasowych badań wykazały zróżnicowaną ekspresję C3bR w nerkach chorych na KZN w porównaniu do nerki zdrowej [21]. Zanotowaliśmy znacznie obniżoną ekspresję C3bR u chorych na KZN z cechami rozplemu komórek kłębuszka nerkowego. Podobne rezultaty uzyskali Nolasco i wsp., którzy zmienioną ekspresję CR1 zaobserwowali przede wszystkim w proliferacyjnych postaciach KZN, a całkowity ubytek ekspresji CR1 w KZN z formowaniem półksiężyców [24]. Również Hara i wsp. zanotowali obniżoną ekspresję C3bR u chorych na błoniasto-rozplemowe KZN, nefropatię IgA oraz nefropatię w przebiegu tocznia układowego i choroby Schönleina-Henocha, u których nie zanotowano zmian ekspresji innych markerów podocytów (synaptopodiny,  $\alpha 3$  integryny, podokaliksiny) [10]. Kazatchkine i wsp. wykazali w swojej pracy brak ekspresji C3bR na komórkach zaangażowanych w zewnątrzwołośniczkową proliferację w kłębuszkach u chorych na gwałtownie postępujące KZN. Podobnie brak ekspresji tego białka zanotowano u chorych z IV klasą nefropatii toczniowej, chociaż stwierdzono obecność podocytów w kłębuszkach tych samych pacjentów z użyciem mikroskopu elektronowego. Ciekawym wydaje się to, że autorzy powyższej pracy zanotowali niezmienną w porównaniu do nerki zdrowej ekspresję C3bR w innych rozplemowych postaciach KZN: wewnątrzwołośniczkowym, mezangialnym i błoniasto-rozplemowym KZN oraz chorobie Schonleina-Henocha związanych z odkładaniem kompleksów immunologicznych zawierających składową C3b dopełniacza. Tak więc, ubytek ekspresji C3bR u chorych z IV klasą nefropatii toczniowej może stanowić element odróżniający tę postać morfologiczną nefropatii od innych klas nefropatii toczniowej oraz innych postaci proliferacyjnych KZN [11].

W przeciwieństwie do rozplemowych postaci KZN wyniki naszych badań wykazały, że u chorych na błoniaste KZN ekspresja C3bR była podobna do obserwowanej w nerce zdrowej [21]. Zbliżone wyniki uzyskali Barisoni i wsp. oraz Kazatchkine i wsp., którzy zaobserwowali zachowaną ekspresję C3bR u chorych na błoniaste i submikroskopowe KZN, mimo jednocześnie obserwowanego znacznego białkomoczu i fuzji wyrostków stopowatych podocytów

[4,11]. Przeciwnie, Moll i wsp. zanotowali obniżoną ekspresję CR1 u chorych z tymi samymi rozpoznaniem [17]. W obu powyższych pracach liczba chorych wykazujących cechy błoniastego KZN była niewielka (odpowiednio 3 i 5). Także nasza grupa pacjentów z tym rozpoznaniem nie była duża, stąd można przypuszczać, że rozbieżności w ekspresji C3bR mogą wynikać z różnego zaawansowania choroby u badanych chorych, a w rezultacie z różnego stopnia uszkodzenia podocytów. Uszkodzenie podocytów w błoniastym KZN jest prawdopodobnie związane z aktywnością dopełniacza. Główną rolą CR1 w tej chorobie może być ochrona integralności podocytów, ponieważ komórki te nie wykazują ekspresji innych białek regulujących funkcjonowanie dopełniacza, takich jak czynnik przyspieszający rozkład (decay accelerating factor – DAF), białko chemotaktyczne monocytów (monocyte chemoattractant protein – MCP) lub CD59 [20].

Innym białkiem związanym ze zjawiskami immunologicznymi w kłębuszku jest megalina. Jest to białko przezbłonowe o ciężarze 600 kDa, należące do rodziny receptorów glikoproteiny o małej gęstości (LDL) wykazujące ekspresję na podocytach. W modelu eksperymentalnym nefropatii Heymanna u szczurów zaobserwowano, że jest ono antygenem docelowym dla przeciwciał odkładających się w kłębuszku w postaci złogów [26]. Jednak ekspresji megaliny nie wykazano w kłębuszkach u pacjentów z błoniastym KZN [26]. W cewkach proksymalnych megalina odgrywa ważną rolę w procesie reabsorpcji jako receptor wielu różnych substancji [26].

Dotychczasowe badania wykazały obniżoną ekspresję wimentyny w nefropatii związanej z HIV oraz w wariacie FSGS z zapadaniem włóściczek, szczególnie w podocytach odłączonych od błony podstawnej [3,37]. Ekspresja tego białka była natomiast zachowana w submikroskopowym i błoniastym KZN, natomiast w FSGS obniżoną ekspresję zanotowano tylko w podocytach otaczających miejsca sklerotyzacji [37].

#### **PODSUMOWANIE**

Jak wynika z powyższych doniesień istnieje wiele markerów podocytów wykorzystywanych przez różnych badaczy do oceny zachowania się tych komórek w przebiegu różnych postaci morfologicznych kłębuszkowych zapaleń nerek. Wyniki analizy ekspresji tych białek różnią się niekiedy w poszczególnych pracach, co prawdopodobnie wynika z różnych stadiów zaawansowania choroby u badanych chorych. Można jednakże zaobserwować tendencję do spadku ekspresji białek podocytów charakterystycznych dla dojrzałych podocytów, który wydaje się zależny od nasilenia rozplemu komórek kłębuszka nerkowego oraz zaawansowania zmian sklerotycznych w kłębuszku w przebiegu KZN. Poszczególne markery podocytów zachowują się jednak odmiennie w stanach patologicznych, co jest ściśle związane z pełnionymi przez nie funkcjami. Powyższe spostrzeżenia wskazują, że nie istnieje uniwersalny marker podocytów, który umożliwiłby ocenę stanu podocytów i progresji kłębuszkowych zapaleń nerek we wszystkich warunkach.

## PIŚMIENICTWO

- [1] Arora M., Arora R., Tiwari S., Das N., Srivastava L.M.: Expression of complement regulatory proteins in diffuse proliferative glomerulonephritis. *Lupus*, 2000; 9: 127-131
- [2] Baraldi A., Zambruno G., Furci L., Ballestri M., Tombesi A., Ottani D., Lucchi L., Lusvardi E.:  $\alpha 1$  and  $\alpha 3$  integrin upregulation in rapidly progressive glomerulonephritis. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 1995; 10: 1155-1161
- [3] Bariety J., Nochy D., Mandet C., Jacquot C., Glotz D., Meyrier A.: Podocytes undergo phenotypic changes and express macrophagic-associated markers in idiopathic collapsing glomerulopathy. *Kidney Int.*, 1998; 53: 918-925
- [4] 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
- [5] Debiec H., Guignon V., Mougnot B., Decobert F., Haymann J.P., Bensman A., Deschenes G., Ronco P.M.: Antenatal membranous glomerulonephritis due to anti-neutral endopeptidase antibodies. *N. Engl. J. Med.*, 2002; 346: 2053-2060
- [6] Debiec H., Guignon V., Mougnot B., Haymann J.P., Bensman A., Deschenes G., Ronco P.M.: Antenatal membranous glomerulonephritis with vascular injury induced by anti-neutral endopeptidase antibodies: toward new concepts in the pathogenesis of glomerular disease. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2003; 14(Suppl.1): S27-S32
- [7] Englert C., Maheswaran S., Garvin A.J., Kreidberg J., Haber D.A.: Induction of p27 by the Wilms' tumor suppressor gene WT1. *Cancer Res.*, 1997; 57: 1429-1434
- [8] Guo J.K., Menke A.L., Gubler M.C., Clarke A.R., Harrison D., Hammes A., Hastie N.D., Schedl A.: WT1 is a key regulator of podocyte function: reduced expression levels cause crescentic glomerulonephritis and mesangial sclerosis. *Hum. Mol. Genet.*, 2002; 11: 651-659
- [9] Hafdi Z., Lesavre P., Nejari M., Halbwachs-Mecarelli L., Droz D., Noel L.H.: Distribution of  $\alpha V \beta 3$ ,  $\alpha V \beta 5$  integrins and the integrin associated protein- IAP (CD47) in human glomerular diseases. *Cell Adhes. Commun.*, 2000; 7: 441-451
- [10] Hara M., Yanagihara T., Itoh M., Matsuno M., Kihara I.: Immunohistochemical and urinary markers of podocyte injury. *Pediatr. Nephrol.*, 1998; 12: 43-48
- [11] Kazatchkine M.D., Fearon D.T., Appay M.D., Mandet C., Bariety J.: Immunohistochemical study of the human glomerular C3b receptor in normal kidney and in seventy-five cases of renal diseases. *J. Clin. Invest.*, 1982; 69: 900-912
- [12] Kemény E., Durmüller U., Nickenleit V., Gudat F., Michatsch M.J.: Distribution of podocyte protein (44 kD) in different types of glomerular diseases. *Virchows Arch.*, 1997; 431: 425-430
- [13] Koop K., Eikmans M., Baelde H.J., Kawachi H., De Heer E., Paul L.C., Bruijn J.A.: Expression of podocyte-associated molecules in acquired human kidney diseases. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2003; 14: 2063-2071
- [14] Kriz W., Gretz N., Lemley K.: Progression of glomerular diseases: Is the podocyte the culprit? *Kidney Int.*, 1998; 54: 687-697
- [15] Kubiak A., Nowak A., Olejniczak P., Niemir Z.: Porównanie ekspresji receptora dla składnika C3b dopełniacza oraz CD51 i CD61 w nerkach chorych na kłębuszkowe zapalenia nerek. *Now. Lek.*, 2004; 73: 6: 447-453
- [16] Luimula P., Sandstrom N., Novikov D., Holthofer H.: Podocyte-associated molecules in puromycin aminonucleoside nephrosis of the rat. *Lab. Invest.*, 2002; 713-718
- [17] Moll R., Hage C., Thoenes W.: Expression of intermediate filament proteins in fetal and adult human kidney. *Lab. Invest.*, 1991; 65: 74-86
- [18] Mundel P., Kriz W.: Structure and function of podocytes: an update. *Anat. Embryol.*, 1995; 192: 385-397
- [19] Nagata M., Nakayama K., Terada Y., Hoshi S., Watanabe T.: Cell cycle regulation and differentiation in the human podocyte lineage. *Am. J. Pathol.*, 1998; 153: 1511-1520
- [20] Nangaku M., Johnson R.J., Couser W.G.: Glomerulonephritis and complement regulatory proteins. *Exp. Nephrol.*, 1997; 5: 345-354
- [21] Niemir Z.I., Olejniczak P., Kubiak A., Czarnecki P., Nowak A., Czekalski S.: The expression of the receptor for C3b component of complement in human glomerulonephritis. *Ann. Acad. Med. Gedan.*, 2003; 33(Suppl.1): 239-246
- [22] Niemir Z.I., Stein H., Ciechanowicz A., Olejniczak P., Dworacki G., Ritz E., Waldherr R., Czekalski S.: The in situ expression of interleukin-8 in the normal human kidney and in different morphological forms of glomerulonephritis. *Am. J. Kidney Dis.*, 2004; 43: 983-998
- [23] Niemir Z.I., Stein H., Dworacki G., Mundel P., Koehl N., Koch B., Autschbach F., Andrassy K., Ritz E., Waldherr R., Otto H.F.: Podocytes are the major source of IL-1 $\alpha$  and IL-1 $\beta$  in human glomerulonephritis. *Kidney Int.*, 1997; 52: 393-403
- [24] Nolasco F.E., Cameron J.S., Hartley B., Coelho R.A., Hildredth G., Reuben R.: Abnormal podocyte CR-1 expression in glomerular diseases: association with glomerular cell proliferation and monocyte infiltration. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 1987; 2: 304-312
- [25] Okada M., Yoshioka K., Takemura T., Murakami K., Maki S.: Ekspresja receptora fibronektyny i witronektyny w uszkodzonych ludzkich nerkach. *Nippon Jinzo Gakkai Shi.*, 1993; 35: 1139-1146
- [26] Pavenstadt H.: Roles of the podocyte in glomerular function. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2000; 278: F173-F179
- [27] Qiu L.Q., Sinniah R., Hsu S.I.: Role of differential and cell type-specific expression of cell cycle regulatory proteins in mediating progressive glomerular injury in human IgA nephropathy. *Lab. Invest.*, 2004; 84: 1112-1125
- [28] Regele H.M., Fillipovic E., Langer B., Poczewski H., Kraxberger I., Bittner R.E., 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
- [29] Sasaoka A., Nishiya K., Hosokawa T., Ito H., Hashimoto K., Enzan H.: The number of CD10-positive glomerular cells reflects renal prognosis in IgA nephropathy patients. *Clin Nephrol.*, 2003; 60: 305-314
- [30] Schmid H., Henger A., Cohen C.D., Frach K., Grone H., Schlondorff D., Kretzler M.: Gene expression profiles of podocyte-associated molecules as diagnostic markers in acquired proteinuric diseases. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2003; 14: 2958-2966
- [31] Shankland S.J., Eitner F., Hudkins K.L., Goodpaster P., D'Agati W., Alpers C.E.: Differential expression of cyclin-dependent kinase inhibitors in human glomerular disease: role in podocyte proliferation and maturation. *Kidney Int.*, 2000; 58: 674-683
- [32] Shikata K., Makino H., Morioka S., Kashitani T., Hirata K., Ota Z., Wada J., Kanwar Y.S.: Distribution of extracellular matrix receptors in various form of glomerulonephritis. *Am. J. Kidney Dis.*, 1995; 25: 680-688
- [33] Srivastava T., Garola R.E., Whiting J.M., Alon U.S.: Cell-cycle regulatory proteins in podocyte cell in idiopathic nephrotic syndrome of childhood. *Kidney Int.*, 2003; 63: 1374-1381
- [34] Tomari S., Nagahama H., Shu Y., Hoshi S., Nakayama K., Nakayama K.I., Nagata M.: Glomerular differentiation in p27 and p57 double-mutant metanephroi. *Anat. Embryol.*, 2002; 206: 31-36
- [35] Wang S., Kim J.H., Moon K.C., Hong H.K., Lee H.S.: Cell-cycle mechanisms involved in podocyte proliferation in cellular lesion of focal segmental glomerulosclerosis. *Am. J. Kidney Dis.*, 2004; 43: 19-27
- [36] Yang A.H., Chen J.Y., Chen B.F.: The dysregulated glomerular cell growth in Denys-Drash syndrome. *Virchows Arch.*, 2004; 445: 305-314
- [37] Yang Y., Gubler M.C., Beauvais H.: Dysregulation of podocyte phenotype in idiopathic collapsing glomerulopathy and HIV-associated nephropathy. *Nephron*, 2002; 91: 416-423
- [38] Yuan H., Takeuchi E., Taylor G.A., McLaughlin M., Brown D., Salant D.J.: Nephrin dissociates from actin, and its expression is reduced in early experimental membranous nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2002; 13: 946-956