

Received: 2014.03.12
Accepted: 2014.11.05
Published: 2015.01.21

Uroplakiny jako markery chorób układu moczowego

Uroplakins as markers of diseases of the urinary system

Jolanta Lis¹, Iwona Kątnik-Prastowska¹, Krzysztof Tupikowski², Agata Matejuk¹

¹Katedra i Zakład Chemii i Immunochemii, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

²Katedra i Klinika Urologii i Onkologii Urologicznej, Uniwersytet Medyczny we Wrocławiu

Streszczenie

Unikatowym elementem budowy pęcherza moczowego jest urotelium, wielowarstwowa błona, która rozciąga się od miedniczki nerkowej do cewki moczowej. Błona urotelialna pokrywa w ponad 90% wewnętrzną część pęcherza moczowego i jest w bezpośrednim kontakcie z moczem. Urotelium zbudowane jest z charakterystycznych, dwuwymiarowych, asymetrycznych płytek, których głównym integralnym składnikiem są uroplakiny (UP), zróżnicowane, heksagonalnie ułożone i wzajemnie oddziałujące białka. Wyjątkowa struktura płytek urotelialnych decyduje o szczelności, integralności i plastyczności urotelium, zapobiega rozerwaniu ścian pęcherza moczowego podczas gromadzenia się w nim moczu oraz chroni pęcherz moczowy przed ich toksycznymi składnikami.

Uroplakiny są tkankowoswoistymi, heterogennymi glikoproteinami, których część oligosacharydowa pełni swoistą rolę w budowie i funkcji urotelium. Zaburzenie prawidłowej ekspresji uroplakin jest zasocjowane m.in. z patogenezą infekcji i nowotworów dróg układu moczowego, pierwotnym refluksem pęcherzowo-moczowodowym, wodonerczem i zaburzeniem czynności nerek. Pojawienie się uroplakin w moczu i/lub osoczu może mieć potencjalne znaczenie we wczesnym wykrywaniu nowotworów pęcherza moczowego.

W niniejszej pracy przedstawiono strukturę i funkcję uroplakin typów Ia, Ib, II i IIIa, ich naturalną oligomeryzację do heterodimerów, tetramerów i heksamerów, oraz rolę w budowie asymetrycznego i elastycznego nabłonka urotelialnego. Omówiono potencjalne znaczenie oznaczeń uroplakin w diagnostyce laboratoryjnej różnicowania komórek baldaszkowatych oraz w analizach przesiewowych chorób pęcherza moczowego. Wskazano na możliwości wykorzystania wiedzy o uroplakinach do potrzeb klinicznych, w nowoczesnych strategiach leczenia chorób zakaźnych i nowotworowych układu moczowego.

Słowa kluczowe:

uroplakiny • urotelium • układ moczowy • markery nowotworowe • zakażenia *E. coli* • terapie celowane

Summary

An unique element of bladder urothelium is a multilayer membrane, which extends from the renal pelvis to the urethra. Urotelial membrane covers more than 90% of the inner portion of the bladder and is in direct contact with urine. Urothelium is composed of characteristic two-dimensional, asymmetric plaques, composed of uroplakins (UP), differentiated, hexagonally arranged proteins. The unique structure of the urothelial plaques determines the tightness, integrity and strength of the urothelium, prevent rupture of the walls of the bladder during the build-up of urine in the bladder and protects against the toxic ingredients.

Uroplakins are tissue-specific, heterogeneous glycoproteins whose oligosaccharide part plays a specific role in the structure and function of urothelium. Disorders of normal expression of uroplakins are highly associated with the pathogenesis in infection and urinary tract malignancies, primary vesico-urinary reflux, hydronephrosis and renal impairment. The emer-



gence of uroplakins in urine and / or plasma may have a potential role in the early detection of bladder tumors.

In this paper, the structure and function of uroplakins types Ia, Ib, II, IIIa, their natural oligomerization into heterodimers, tetramers and hexamers, and the role in the construction of asymmetric and flexible urothelial epithelium is presented. We discuss the potential role of uroplakins in laboratory diagnosis of umbrella cell differentiation and in the screening analysis of urinary bladder disorders. The possibilities of using the knowledge of uroplakins in clinical settings as well as in modern strategies for treatment of infectious diseases and cancer of the urinary tract are highlighted.

Key words: uroplakins • urothelium • urinary system • cancer markers • *E. coli* infections • targeted therapies

Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=1137087>

Word count: 5961

Tables: –

Figures: 3

References: 120

Adres autorki: dr hab. Agata Matejuk, Katedra i Zakład Chemii i Immunochemii, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, ul. Bujwida 44a, 50-345 Wrocław; e-mail: agata.matejuk@umed.wroc.pl

Wykaz skrótów: **2D** – dwuwymiarowe kryształy uroplakin (dimensional crystals of uroplakins); **AG** – aparat Golgiego (Golgi apparatus); **Ala** – alanina (alanine); **Asn** – asparagina (asparagine); **AUM** – asymetryczna błona urotelium (asymmetric unit membrane); **c-jun** – protoonkogen kodujący czynnik transkrypcyjny Jun (*c-jun* protooncogene encodes a transcription factor); **CK** – cytokeratyna (cytokeratin), **c-myc** – protoonkogen kodujący czynnik transkrypcyjny Myc (*c-myc* proto-oncogene encodes a transcription factor); **DF** – duży fragment hydrofilowy tetraspanin (large extracellular loop of tetraspanins); *E. coli* – bakterie *Escherichia coli* (*Escherichia coli* bacteria); **ER** – retikulum endoplazmatyczne (endoplasmic reticulum); **FimH** – adhezyna FimH fimbrii (fimbrial FimH adhesin); **FOXA1** – białko należące do rodziny Forkhead box (Forkhead box protein A1); **GATA3** – czynnik transkrypcyjny, marker różnicowania nabłonka dróg moczowych (transcription factor, markers associated with urothelial differentiation); **Get1/Grhl3** – czynnik transkrypcyjny Grainyhead (Grainyhead-like epithelial transactivator Get-1/Grhl3); **Glu** – kwas glutaminowy (glutamic acid); **Gly** – glicyna (glycine); **IFVs** – niedojrzałe pęcherzyki wrzecionowate (immature fusiform vesicles); **IRF-1** – czynnik regulujący interferon (interferon regulatory factor-1); **Leu** – leucyna (leucine); **MAL** – białko mieliny i limfocytów (myelin-and-lymphocyte protein); **MF** – mały fragment hydrofilowy tetraspanin (small extracellular loop of tetraspanins); **mFVs** – dojrzałe pęcherzyki wrzecionowate (mature fusiform vesicles); **MMP-7** – metaloproteinaza macierzy zewnątrzkomórkowej 7 (matrix metalloproteinase-7); **mRNA** – matrycowy RNA (messenger RNA); **MVBs** – ciała wielopęcherzykowe (multivesicular bodies); **Myo5B** – białko Myo5B (protein Myo5B); **PAX** – czynnik transkrypcyjny (transcription factor); **PPAR-γ** – receptor aktywowany przez proliferatory peroksosomów-γ (peroxisome proliferator-activated receptor γ); **Pro** – prolina (proline); **Rab** – białko Rab (protein Rab); **RT-PCR** – łańcuchowa reakcja polimerazy z odwrotną transkryptazą (reverse transcription polymerase chain reaction); **S100P** – marker różnicowania nabłonka dróg moczowych (markers associated with urothelial differentiation placental S100); **TJ** – międzykomórkowe połączenia ściste (tight junction); **TNF-α** – czynnik martwicy nowotworów α (tumor necrosis factor α); **TR** – transbłonowy region białek (transmembrane domain of protein); **TSG** – gen supresorowy (tumor suppressor gene); **Tyr** – tyrozyna (tyrosine); **UP** – uroplakina (uroplakin); **Upk3I** – białko wykazujące podobieństwo do ssaczych uroplakin (UP3-like protein); **UPTVs** – pęcherzyki uwalniane z cystern aparatu Golgiego zawierające uroplakiny (uroplakin-positive transporting vesicles Golgi apparatus).

WSTĘP

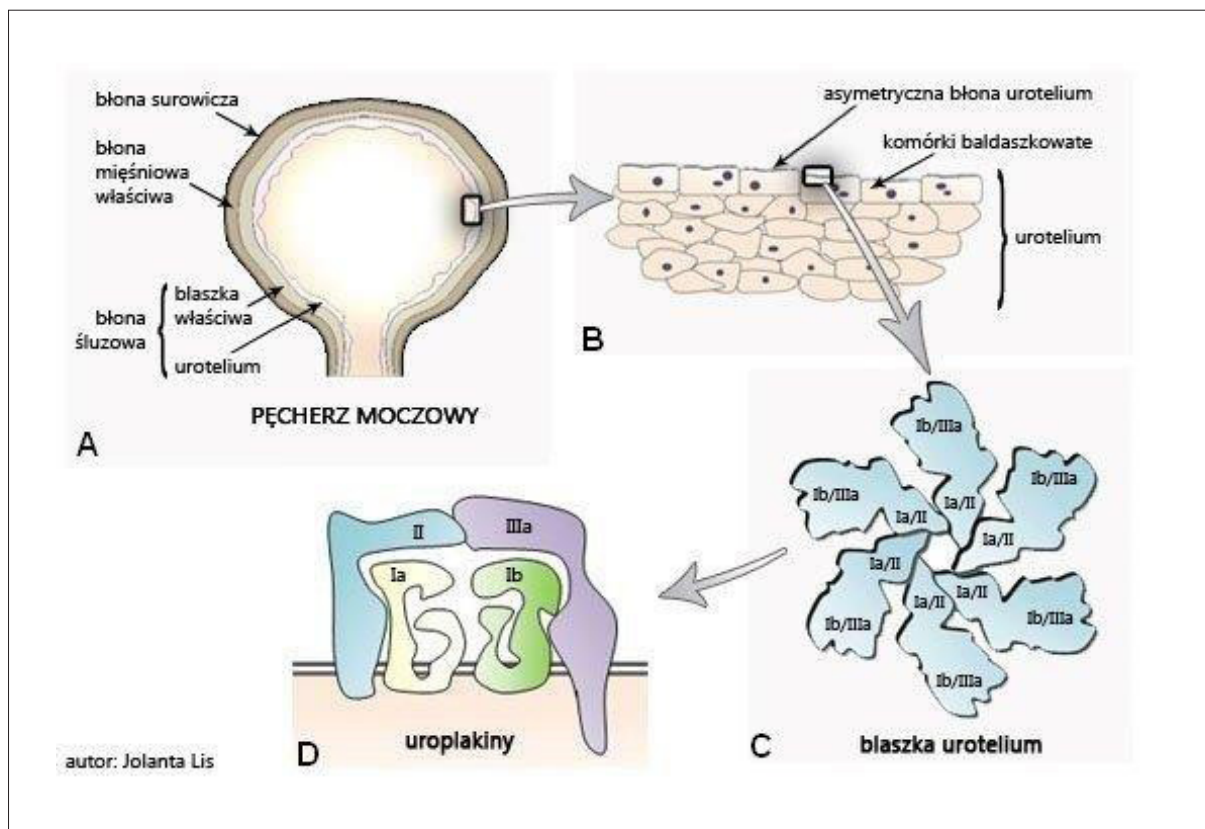
Wyjątkowo plastyczne, o dużym potencjale regeneracyjnym urotelium rozciągające się od miedniczki nerkowej do cewki moczowej jest wielofunkcyjnym nabłonkiem często nazywanym „prześciowym” z powodu jego wielowarstwowości [9,39]. Jednak Wu i wsp. przeciwstawiają się stosowaniu terminu „nabłonek prześciowy” w odniesieniu do urotelium, ponieważ warstwy urotelium są zróżnicowane, a górne komórki nie przylegają do błony podstawnej [105]. Urotelium jest zbudowane z trzech do sześciu warstw składających się z komórek podstawnych, pośrednich i baldaszkowatych wyścielających wewnętrzną część pęcherza moczowego (ryc. 1A) [9,39]. Najbardziej powierzchowną, pojedynczą warstwę będącą w bezpośrednim kontakcie z moczem tworzą duże, prostopadłościennne, dwu lub wielojądrowe komórki baldaszkowate (ryc. 1B). Głównymi składnikami i jednocześnie markerami komórek baldaszkowatych są zróżnicowane białka – uroplakiny (UP). Występują przynajmniej w czterech typach określanych jako UPIa, UPIb, UPII i UPIII [24]. U ssaków charakteryzujących się grubszą warstwą urotelium (np. u ludzi) uroplakiny są obecne głównie na powierzchni komórek baldaszkowatych, a u gatunków z cieńszym urotelium (np. gryzoni) można je również znaleźć w głębszych warstwach nabłonka [17]. Początkowo sądzono, że uroplakiny występują wyłącznie

w urotelium, jednak z czasem niektóre ich formy zidentyfikowano również w gruczole sutkowym, trzustce, płucach i sercu myszy [51].

Dwuwymiarowe (2D) kryształy uroplakin, heksagonalnie ułożone i wzajemnie połączone w 16 nm cząstki tworzą płytkę/blaszkę urotelialną (urothelial plaque) (ryc. 1C), zwaną też asymetryczną jednostką błonową (AUM, asymmetric unit membrane). Średnica AUM wynosi 0,2-1 mm. Unikalna struktura płytek urotelialnych decyduje o szczelności, integralności i prawidłowej funkcji nabłonka dróg moczowych [9,29,34,39,42,72,105]. Dzięki płytkom urotelialnym nabłonek dróg moczowych jest najbardziej trwałą i jednocześnie plastyczną barierą ochronną wśród wszystkich biomembran [43,52,72].

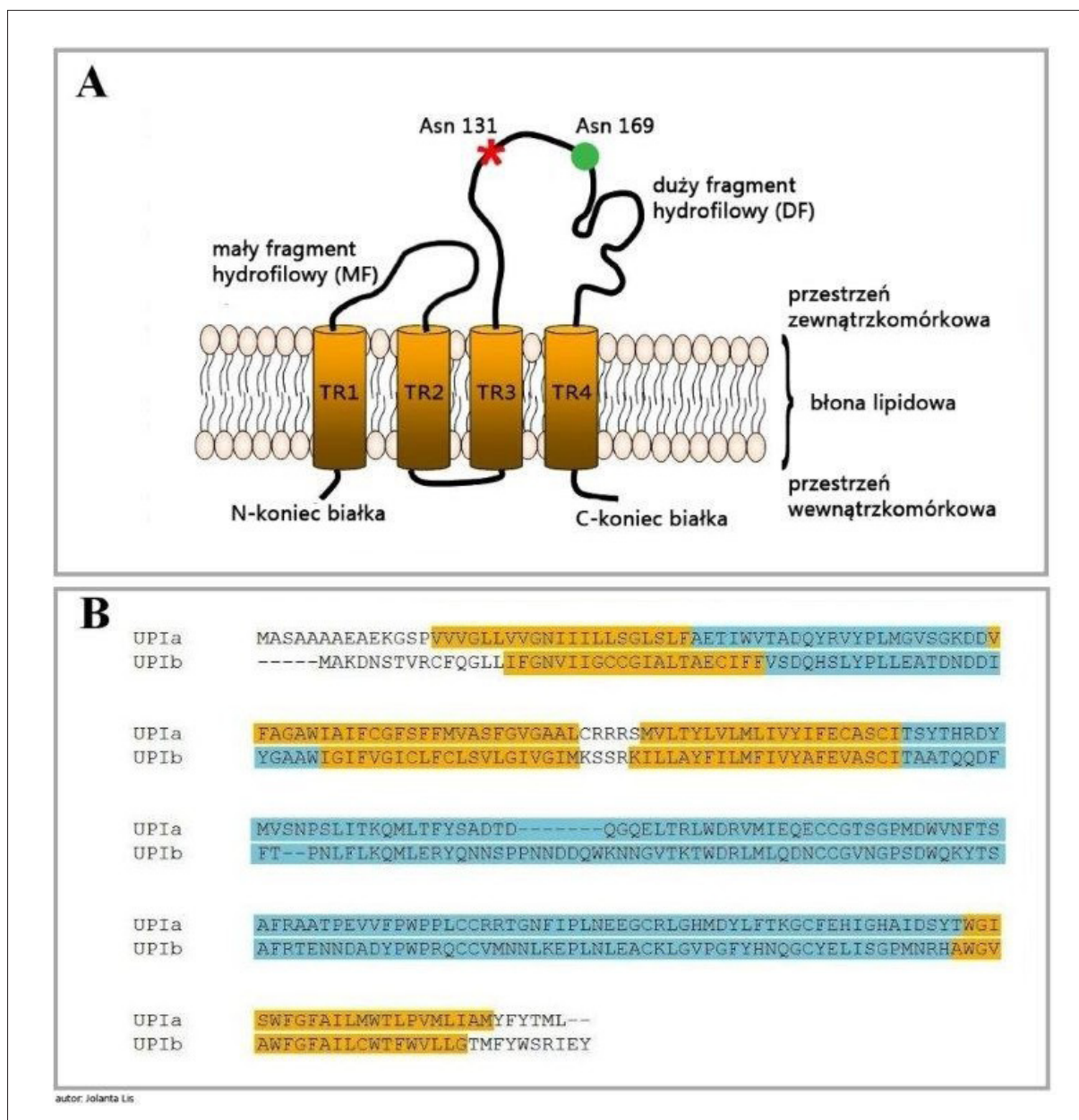
Płytki urotelialne są obecne nie tylko na powierzchni komórek baldaszkowatych, ale można je znaleźć również w cytoplazmie tych komórek, w strukturach zwanych pęcherzykami wrzecionowatymi (fusiform vesicles). Pęcherzyki wrzecionowate stanowią transportery będące w stałym kontakcie z powierzchnią światła przewodu moczowego podczas skurczów i rozkurczów urotelium [53].

Istotnych danych dotyczących funkcji uroplakin dostarczyły badania z zastosowaniem modelu myszy transgenicznnych dla



Ryc. 1. Budowa pęcherza moczowego z uwzględnieniem asymetrycznej błony urotelium, budowanej przez krystaliczne białka uroplakiny. Strona wewnętrzna pęcherza moczowego wyścielona jest nabłonkiem urotelialnym, którego szczytowe komórki (baldaszkowate) są pokryte asymetryczną błoną urotelialną (AUM). Błona jest zbudowana z transmembranowych białek, nazywanych uroplakinami, które polimeryzując ze sobą tworzą tzw. blaszki urotelialne, będące elementem architektonicznym AUM [na podstawie 64,65,102,105]



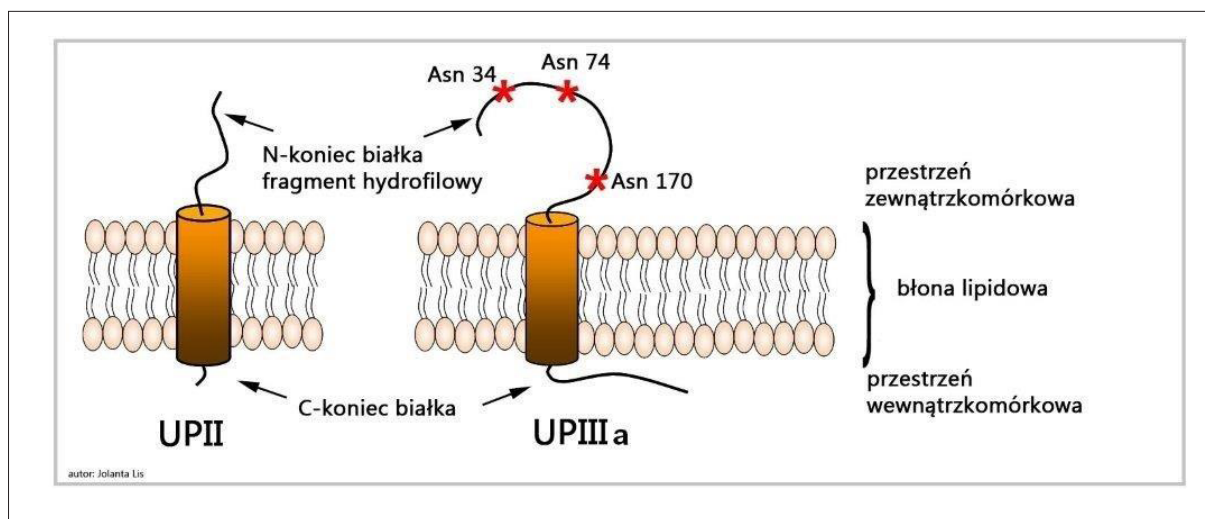


Ryc. 2. Molekularna struktura uroplakin Ia i Ib; A - uroplakina Ia, Ib to transmembranowe białka, w których budowie wyróżnia się 4 domeny transbłonowe (TR), fragment cytoplazmatyczny (C-koniec białka) oraz fragment zewnątrzkomórkowy (N-koniec białka). Uroplakina Ia podobnie jak uroplakina Ib ma jedno miejsce glikozylacji (odpowiednio Asn 169 oraz Asn 131). Do części białkowej UPIa jest dołączony wysokomannozyowy łańcuch cukrowy (schematycznie przedstawiony zielonym kółkiem), a w przypadku UPIb - łańcuch cukrowy typu złożonego (schematycznie przedstawiony czerwoną gwiazdką), B - porównanie sekwencji aminokwasowej ludzkiej uroplakiny Ia (UPIa) z uroplakiną Ib (UPIb) z zaznaczeniem fragmentów transbłonowych (kolor żółty) oraz fragmentów hydrofilowych (kolor niebieski). Fragmenty niezaznaczone żadnym kolorem to fragmenty cytoplazmatyczne białek. Porównanie sekwencji wykonano w programie Clustal, korzystając z sekwencji aminokwasowych UP zgromadzonych w bazie danych UniProtKB; TR - transbłonowa domena, DF - duży fragment hydrofilowy, MF - mały fragment hydrofilowy [na podstawie 10,51,64]

promotora uroplakin i z unieczynnionymi genami dla tych białek [3,28,42,60,74,105]. Zaburzenie prawidłowej ekspresji uroplakin może prowadzić do różnego rodzaju patologii układu moczowego, np. odpływu pęcherzowo-moczowodowego, śródmięzszowego zapalenia pęcherza, nadciśnienia pęcherza, wodonoercza czy też zaburzenia czynności nerek oraz niewydolności nerek [28,42,51,105,116].

BUDOWA UROPLAKIN

Przez wiele lat skład białkowy urotelium nie był w pełni poznany, głównie z powodu trudności związanych z ich oczyszczaniem i uzyskaniem przeciwciał swoistych dla poszczególnych typów uroplakin. Stosując metodę wirowania w gradiencie sacharozy wyizolowano cztery uro-



Ryc. 3. Molekularna budowa uroplakin II i IIIa. W budowie molekularnej uroplakiny II oraz III wyróżnia się jedną domenę transbłonową, fragment cytoplazmatyczny (C-koniec białka) oraz fragment zewnątrzkomórkowy (N-koniec białka). UPIIIa w przeciwieństwie do uroplakiny II, która nie ma miejsc glikozylacji, jest glikozylowanym białkiem, mającym trzy N-glikany typu złożonego. Miejsca glikozylacji UPIIIa (Asn 34, Asn 74, Asn 170) przedstawiono jako czerwone gwiazdki [na podstawie 10,51,64]

plakiny UPIa, UPIb, UPII i UPIII, o masach cząsteczkowych odpowiednio: 27, 28, 15 i 47 kDa [107]. Uroplakiny są glikoproteinami, a jedyny wyjątek wśród nich stanowi dojrzała postać uroplakiny II, która w przeciwieństwie do niedojrzałej UPII jest pozbawiona części cukrowej [105].

Obecnie cechą najczęściej braną pod uwagę przy klasyfikacji uroplakin jest liczba transbłonowych domen w cząsteczce. Uroplakiny Ia oraz Ib mają cztery transbłonowe domeny (ryc. 2A i B) i w związku z tym należą do rodziny tetraspanin [64]. W przeciwieństwie uroplakiny II i III są prostymi, integralnymi białkami błonowymi (ryc. 3) o jednej domenie transbłonowej [64,105].

Błonowe uroplakiny Ia (UPIa: 27 kDa) i Ib (UPIb: 28 kDa), których identyczność sekwencji aminokwasowej wynosi 40% (ryc. 2B), są zbudowane odpowiednio z 258 oraz 260 reszt aminokwasowych. Regiony transbłonowe UPIa i UPIb (ryc. 2A) mają po cztery domeny o kształcie cylindrycznym (TR1-4) i strukturze α -helikalnej [24,64,95]. W rozległym regionie zewnątrzkomórkowym UPI wyróżnia się dwie pętle mniejszą (MF, 24 aa) i większą (DF, 122 aa), które łączą ze sobą i stabilizują strukturę domen transbłonowych. Domeny TR1 i TR2 są połączone ze sobą przez zewnątrzkomórkowy fragment mniejszy (MF), a TR3 i TR4 przez zewnątrzkomórkowy duży fragment (DF). Domeny TR2 i TR3 łączy krótki odcinek peptydowy (5 aa) regionu cytoplazmatycznego i z tego powodu domeny transbłonowe UPIa i UPIb są dość ciasno upakowane w warstwie lipidowej. Trzy pierwsze domeny transbłonowe (TR1, TR2, TR3) zawierają reszty Gly, Asn oraz Glu, które sprzyjają tworzeniu interakcji między poszczególnymi domenami przez oddziaływania typu van der Waalsa oraz oddziaływania wodorowe [64,95]. Fragmenty UPIa i UPIb tworzące pętle mniejszą i większą mają charakter hydrofilowy i są eksponowane do światła pęcherza moczowego. W dużej pętli (DF) na domenie zewnątrzkomórkowej UPIa

i UPIb znajduje się charakterystyczny dla tetraspanin motyw zawierający 4-8 reszt cysteinowych, zaangażowanych w powstawanie/formowanie wiązań dwusiarczkowych, stabilizujących strukturę przestrzenną UPI [51,64,105]. Według Tu i wsp. obecność mostków siarczkowych w UPIa i UPIb może mieć również krytyczne znaczenie dla ochrony tych białek przed rozfałdowaniem spowodowanym wpływem składników zawartych w moczu [95]. UPIa i UPIb po zsyntetyzowaniu są transportowane do retikulum endoplazmatycznego (ER), gdzie tworzą dimery, odpowiednio z UPII i UPIII. Pary UPIa/UPII oraz UPIb/UPIII są nazywane partnerskimi uroplakinami [20,51].

W obrębie pętli większej (DF) regionu zewnątrzkomórkowego stwierdzono na UPIa obecność N-glikanu typu wielomannozowego przyłączonego do Asn169 [105,109], podczas gdy UPIb zawiera N-glikan typu złożonego przyłączonego do Asn131 [105,110] (ryc. 2A). Obecność wielomannozowego glikanu na UPIa jest niezbędna do prawidłowej konstrukcji i funkcji płytek urotelialnych. Modyfikacje glikozylacji UPIa przyczyniają się do wadliwej adhezji między komórkami, nieszczelności nabłonka i dysfunkcji płytek, a to może sprzyjać rozprzestrzenianiu się zakażeń spowodowanych przez bakterie *Escherichia coli* (*E. coli*), a nawet mogą prowadzić do zwiększonej inwazyjności komórek nowotworowych [91].

Uroplakina II (UPII, 15 kDa) jest syntetyzowana jako prekursor (19 kDa) prepro-UPII zawierający peptyd sygnałny (25 aa), propeptyd (59 aa) oraz łańcuch polipeptydowy zbudowany ze 100 reszt aminokwasowych [51,105]. W ER, w czasie potranslacyjnej modyfikacji sekwencja sygnałna jest odcinana od prepro-UPII prekursora i utworzony propeptyd podlega glikozylacji [56]. Początkowo powstają trzy N-glikany typu wielomannozowego, następnie dwa z trzech N-glikanów ulegają dalszej modyfikacji do dwu-antenowych typu złożonego. W wyniku dołączenia oligo-

sacharydów masa cząsteczkowa pro-UPII wzrasta do 30 kDa [29,95,105]. Przyпуска się, że glikozylacja UPII, powoduje zmiany konformacyjne w białku, dzięki którym możliwe jest utworzenie dimeru z partnerską UPIa, a następnie asocjacja uroplakin w heterotetramer (UPIa/II-UIIb/IIIa) [27,31,63,105]. W sieci trans-Golgiego aparatu (trans-Golgi network) glikozylowany peptyd jest odcinany przez endoproteazę furinopodobną i powstaje tzw. dojrzała postać UPII (15 kDa) [31,63,105].

W budowie dojrzałej UPII wyróżnia się hydrofilowy fragment eksponowany do przestrzeni zewnątrzkomórkowej liczący 71 aa, pojedynczą domenę transbłonową (21 aa) oraz mały fragment cytoplazmatyczny (8 aa) (ryc. 3). UPII, podobnie jak UPI oraz UPIII, może występować u innych kręgowców [21]. Kong i wsp. wykazali, że brak genu kodującego białko UPII blokuje powstawanie dwuwymiarowych (2D) kryształów uroplakin na powierzchni komórek baldaszkowatych [44].

Uroplakina III (UPIII, 47-49 kDa) jest integralną glikoproteiną o jednej domenie transbłonowej. Część cytoplazmatyczna UPIII (52 aa) jest krótka i zawiera wiele potencjalnych miejsc fosforylacji. Część zewnątrzkomórkowa UPIII (189 aa) ma potencjalne trzy miejsca N-glikozylacji w pozycjach Asn34, Asn74, and Asn170 [108] (ryc. 3). Nie ustalono jeszcze, która z tych asparagin zawiera przyłączone cukry. Wiadomo, że do części białkowej UPIII (28 kDa) dołączony jest N-glikan typu złożonego o masie 20 kDa, który stanowi 40% masy całej cząsteczki. UPIII jest największa spośród innych UP i stanowi znaczną część wartwy powierzchniowego glikokaliksu [20,42,105].

Dotąd u ssaków, w tym u ludzi, opisano występowanie co najmniej dwóch izoform uroplakiny III. Najlepiej poznana jest struktura UPIIIa i IIIb, których masy cząsteczkowe wynoszą odpowiednio 47 i 35 kDa. Białka te są bardzo podobne, m.in. w strukturze pierwszorzędowej (34% podobieństwa) oraz przestrzennej. Dominującą izoformą w urotelialnych płytkach jest UPIIIa [3,20]. Kong i wsp. [42] wykazali, że w przypadku braku izoformy UPIIIa dochodzi do tworzenia fragmentów asymetrycznej błony urotelium, zawierających jedynie UPIIIb, co powoduje powstawanie małych płytek o dużych centralnie położonych porach [20,28,42,51]. Ludzkie UPIIIa i UPIIIb są syntetyzowane w postaci cząsteczek zawierających peptyd sygnałowy (odpowiednio 18 oraz 29 aa) oraz łańcuch polipeptydowy liczący odpowiednio 269/291 aa. Dojrzałe UPIIIa i IIIb mają dużą hydrofilową domenę skierowaną do przestrzeni zewnątrzkomórkowej (189 i 211 aa), jedną α -helikalną domenę transbłonową (28 i 26 aa) oraz znaczną domenę cytoplazmatyczną (52 i 54 aa) (ryc. 3), zaangażowaną najprawdopodobniej w interakcje między cytoszkieletem komórki a błoną komórkową. W UPIIIa oraz UPIIIb wyróżnia się ponadto domenę zbudowaną z 19 aa, która bezpośrednio przylega do fragmentu transbłonowego od strony N-końca [10,20,29,51]. Najnowsza praca DeSalle'a i wsp. dotycząca dywergentnej ewolucji uroplakin, wskazuje na istnienie u ssaków dodatkowo izoformy UPIIIc [21]. Według autorów sekwencja aminokwasowa tego białka jest w 37% identyczna z UPIIIb. Wszystkie izoformy

UPIII mogą tworzyć heterodimery z UPIb. Izofорма UPIIIc, w przeciwieństwie do UPIIIa i b nie ma ~20-aminokwasowej regionu znajdującego się między domeną transbłonową a N-końcem polipeptydu [21].

Budowa heksamerycznych cząsteczek i powstawanie kryształów 2D uroplakin

Organizacja cząsteczek uroplakin w 16 nm heksametrycznej, stabilnej i zwartej struktury 2D jest dość skomplikowana i związana z naturalną zdolnością do wzajemnych oddziaływań między transbłonowymi oraz zewnątrzkomórkowymi domenami uroplakin. Min i wsp. uważają, że oddziaływania te są istotne nie tylko w budowie płytek urotelialnych, ale także w funkcji urotelium i w przekazywaniu sygnałów między komórkami urotelium [64].

Podstawowym elementem budującym heksameryczne cząsteczki są pary kompleksów UPIa/UII oraz UPIb/UIIIa (ryc. 1C), w których monomery uroplakin są ułożone w stosunku do siebie pod kątem $\sim 10^\circ$. Dimery są stabilizowane dzięki interakcjom pięciu α -helikalnych domen transbłonowych, z czego cztery domeny należą do uroplakin z rodziny tetraspanin (odpowiednio, UPI lub UPIb) oraz jedna domena, z UPII lub UPIII [64,65].

Dimery UPIa/UII oraz UPIb/UIIIa oddziałując ze sobą tzw. „głowami”, tj. szczytowymi fragmentami hydrofilowych domen asocjują tworząc heterotetramer (ryc. 1D). W strukturze tej dimery są ułożone w stosunku do siebie pod kątem $\sim 25^\circ$, a uroplakiny Ia oraz Ib nie mają ze sobą bezpośredniego kontaktu [20,64,95].

Sześć heterotetramerów (UPIa/II-UIIb/IIIa) asocjuje ze sobą tworząc 6-podjednostkową cząsteczkę o średnicy ~ 16 -17,5 nm i wysokości $\sim 12,5$ nm z centralnie położonym otworem (~ 6 nm średnicy) [64]. Dla architektury heksamerów istotne jest wzajemne ułożenie tetramerów. A mianowicie: sześć dimerów UPIa/II asocjuje poprzez cząsteczki UPII tworząc wewnętrzną część heksameru, a sześć dimerów UPIb z UPIIIa tworzy struktury zewnętrzne [20,64,95]. Powstałe heksagonalne cząsteczki tworzą strukturę „elastyczną”, stanowiącą element składowy kryształów 2D uroplakin, nazywanych płytkami urotelialnymi lub też składnikami AUM.

Proces oligomeryzacji heterotetramerów zachodzi najprawdopodobniej dopiero podczas transportu uroplakin z AG na powierzchnię komórek baldaszkowatych [31,115] i nie został jeszcze w pełni poznany [31,44,115]. Wiadomo jednak, że powstawanie dimerów jest etapem koniecznym w tworzeniu 2D kryształów uroplakin, bez którego opuszczenie przez te białka ER jest niemożliwe [95]. Wyjątek stanowi jedynie uroplakina UPIb, która może opuszczać ER w postaci monomeru. Z tego powodu, prawdopodobnie UPIb wykryto na powierzchni urotelium myszy, u których usunięto uprzednio gen kodujący partnerską uroplakinę IIIa, a także dodatkowo w takich tkankach jak rogówka, spojówka czy płuca [5,28]. Tu i wsp. wykazali, że w procesie opuszczenia ER przez UPIb w postaci monomeru, krytyczną rolę odgrywają sekwencje

aminokwasowe domen transbłonowych oraz domeny cytoplazmatycznej tego białka [95]. Zamiana Glu→Ala w TR3 oraz Tyr→Ala we fragmencie cytoplazmatycznym powodowała gromadzenie się UPIb wewnątrz ER [95].

Hudoklin i wsp. [31] nie wykazali w obrębie AG obecności cząsteczek uroplakin zorganizowanych w 16 nm heksameryczne cząsteczki. W pobliżu AG stwierdzono natomiast występowanie trzech rodzajów pęcherzyków zawierających cząsteczki uroplakin. Autorzy w oparciu o uzyskane wyniki opracowali model powstawania i transportu heterodimerów urotelialnych [31]. Według tego modelu przyjmuje się, że cząsteczki uroplakin zorganizowane w heterotetramery są elementem składowym błon lipidowych pęcherzyków uwalnianych z cystern AG (UPTVs - uroplakin-positive transporting vesicles). Pęcherzyki te mogą łączyć się ze sobą, tworząc niedojrzałe pęcherzyki wrzecionowate zawierające cząsteczki uroplakin (iFVs - immature fusiform vesicles), które potem mogą się łączyć z kolejnymi uroplakinami. Dochodzi do wzrostu liczby cząsteczek uroplakin oraz spłaszczenia rosnącego niedojrzałego pęcherzyka wrzecionowatego. W kolejnych etapach następuje usunięcie nadmiaru błony lipidowej z pęcherzyków i tworzą się dojrzałe pęcherzyki wrzecionowate (mFVs - mature fusiform vesicles) zawierające wiele heksamerycznych cząsteczek tworzących duże dwuwymiarowe kryształy uroplakin. Dojrzałe pęcherzyki wrzecionowate mogą być transportowane do części wierzchołkowej komórek baldaszkowatych i tam ulegają fuzji z błoną komórkową lub stanowią rezerwuuar kryształów 2D uroplakin [31].

W procesie kierowania pęcherzyków oddzielonych od AG do części wierzchołkowej komórek baldaszkowatych zaangażowane są białka Rab (rodzina małych GTPaz) [16,40]. Białka te łącząc się z pęcherzykami uwalnianymi z AG, najprawdopodobniej umożliwiają pęcherzykom przejście przez sieć włókien cytokeratynowych (Rab11a i Rab27b), stymulują ich dojrzewanie (Rab8a), a także kierują je do części wierzchołkowej komórek baldaszkowatych (Rab27b) [16,40]. Khandelwal i wsp. przedstawili hipotetyczny model udziału białek Rab oraz Myo5B w pęcherzykowym transporcie cząsteczek uroplakin na powierzchnię komórek baldaszkowatych [40]. Cząsteczka Myo5B najprawdopodobniej jest zaangażowana w oddziaływanie z cytoskieletem aktynowym komórek powierzchniowych tuż przed fuzją pęcherzyków z błoną komórkową. W procesie włączenia fragmentu błony komórkowej dojrzałego pęcherzyka wrzecionowatego pokrytego kryształami 2D uroplakin do błony komórek baldaszkowatych dużą rolę odgrywa najprawdopodobniej 17 kDa białko mieliny i limfocytów (MAL- myelin-and-lymphocyte protein), które jest ekspresjonowane razem z uroplakinami [115]. Wykazano, że usunięcie genu kodującego białko MAL prowadziło u myszy do akumulacji pęcherzyków wrzecionowatych w cytoplazmie komórek baldaszkowatych urotelium. Skutkiem tego włączenie fragmentów pęcherzyków pokrytych kryształami uroplakin do komórek baldaszkowatych stawało się niemożliwe. Nadekspresja tego białka u myszy prowadziła z kolei do zastępowania dojrzałych pęcherzyków wrzecionowatych przez ciała wielopęcherzykowe (MVBs - multivesicular bodies). Zhou i wsp., zasuger-

owali, że wzmocnienie procesu uwalniania pęcherzyków zawierających uroplakinę jest związane z uruchomieniem mechanizmów kompensacyjnych w postaci endocytozy nadmiaru błony komórkowej włączonej do powierzchni komórek baldaszkowatych. Autorzy sugerowali ponadto, że obecność uroplakin w ciałkach wielopęcherzykowych jest związana z recyklingiem tych cząsteczek lub co bardziej prawdopodobne z ich degradacją w lizosomach [115].

Uroplakinę jako markery różnicowania się komórek baldaszkowatych

Komórki baldaszkowate są wysoce zróżnicowanymi komórkami powierzchniowymi nabłonka urotelium, w pełni przystosowanymi do ochrony głębiej położonych tkanek przed szkodliwymi substancjami zawartymi w moczu. W procesie tym ważną rolę odgrywają oprócz szczelnych połączeń między komórkami (tzw. obwódki zamykające) komórki baldaszkowate ograniczające powierzchnię endocytozę oraz asymetryczna błona urotelium. AUM zawiera kryształy 2D uroplakin i jest jednym z czynników decydujących o stopniu zróżnicowania komórek (ryc. 1) [20,97]. Komórki baldaszkowate połączone są ze sobą poprzez tzw. połączenia ścisłe (TJ - Tight Junction), w które jest zaangażowanych wiele powierzchniowych oraz transmembranowych białek, spośród których najważniejszą rolę odgrywają kładyny [4]. Uroplakinę oraz kładyny warunkują właściwy kontakt między komórkami urotelium, dzięki czemu jest możliwe ich odpowiednie różnicowanie.

Ważnymi markerami charakteryzującymi stopień zróżnicowania komórek powierzchniowych urotelium są cytokeratyny (CK) 5, 7, 8, 13, 14, 17, 18 i 20 oraz filamenty aktynowe [82,97]. Oznaczenia zawartości uroplakin i cytokeratyn w komórkach urotelium jest pomocne do określenia stopnia ich zróżnicowania. W niezróżnicowanych komórkach urotelium (komórki podstawne) obecne są CK 13 i 17. W komórkach znajdujących się we wczesnych etapach różnicowania są obecne CK 7 oraz monomery uroplakin. W następnych etapach różnicowania komórek baldaszkowatych monomery uroplakin ulegają asocjacji i powstają dimery, tetramery oraz 6-podjednostkowe struktury. Podczas tego etapu dochodzi również do gromadzenia się w cytoplazmie komórek baldaszkowatych cząsteczek CK, które tworzą włókna, a następnie sieć włókien keratynowych stanowiących swiste rusztowanie komórki. Podczas etapu asocjacji wyraźnie spada synteza liczby cząsteczek uroplakin na rzecz wzrostu liczby cząsteczek zorganizowanych w płytki uroplakin, które są transportowane przez dojrzałe pęcherzyki wrzecionowate do powierzchni komórek baldaszkowatych, gdzie ulegają fuzji z błoną. Ostatecznym etapem różnicowania się komórek baldaszkowatych jest włączanie cząsteczek CK 20 do sieci włókien keratynowych komórek baldaszkowatych [80,97]. Badania Riedel i wsp. [80] oparte na immunohistochemicznej analizie wzoru ekspresji uroplakin oraz cytokeratyny 20 w komórkach baldaszkowatych pochodzących z pęcherza moczowego oraz moczowodów pacjentów wykazały, że komórki te nie są w tym samym stopniu zróżnicowane. Różnice w stopniu dojrzałości między nimi mogą być związane z odmiennym pochodzeniem embrionalnym

wymienionych odcinków układu moczowego, a także z różnorodnością warunków środowiskowych na jakie komórki te są narażone. Ponadto, w pęcherzu moczowym komórki baldaszkowate przez dłuższy czas kontaktują się z moczem, a działające na nie ciśnienie jest wyższe od ciśnienia w świetle moczowodu. Z tego też względu autorzy sugerują, że w obrębie moczowodu kryteria zróżnicowania komórek baldaszkowatych nie są tak rygorystyczne, jak w przypadku pęcherza moczowego [80].

Jako czynniki zaangażowane w proces różnicowania komórek powierzchniowych nablónka urotelialnego wymieniane są cząsteczki należące do rodziny grainyhead *Get1/Grhl3*. Pełnią one również istotną rolę w różnicowaniu komórek skóry, a zaburzenie ich ekspresji prowadzi do poważnych morfologicznych zmian w budowie nablónka [112]. *Get1* jest czynnikiem, który przez modyfikacje histonów obecnych w jądrze komórkowym, w bezpośredni sposób reguluje poziom syntezy UPII. Innymi czynnikami transkrypcyjnymi odgrywającymi istotną rolę w procesie różnicowania komórek nablónka urotelialnego są białka należące do rodziny Forkhead Box (*FOXA1*) oraz czynnik regulujący interferon (*IRF-1* - interferon regulatory factor-1). Czynniki te są ekspresjonowane w wyniku aktywacji receptorów aktywowanych przez proliferatory peroksydomów- γ (*PPAR- γ*) [96]. Według Varley i wsp. cząsteczki *FOXA1* oraz *IRF-1* rozpoznają sekwencje promotorowe genów uroplakin, a następnie wiążąc się z nimi prowadzą do indukcji ekspresji UPIa, UPII oraz UPIIIa [96]. Na udział *PPAR- γ* w procesie różnicowania komórek nabłonkowych wskazywały badania, w których w warunkach *in vivo* za pośrednictwem syntetycznych aktywatorów (troglitazon oraz rosiglitazon) wpłymano na ekspresję mRNA UPII, UPIb oraz w mniejszym stopniu UPIa [96].

Omówione wyżej czynniki zaangażowane w różnicowanie komórek urotelium są również wymieniane jako czynniki mogące mieć istotny udział w transformacji nowotworowej. Wiedza dotycząca procesów prowadzących do nieprawidłowego różnicowania się komórek nabłonkowych urotelium jest dość ograniczona. Wiadomo jednak, że uroplakiny jako jeden z produktów różnicowania się komórek nabłonkowych urotelium, są wymieniane również jako potencjalne markery stanów patologicznych, tj. transformacji czy przetransformowania nowotworów.

FUNKCJA UROPLAKIN

Asymetryczna i elastyczna architektura nablónka urotelialnego zbudowanego ze sztywnych płytek urotelialnych predysponuje go do spełniania wyspecjalizowanych funkcji w obrębie układu moczowego. Uroplakinom, podstawowym elementem budowy urotelium, przypisuje się szczególne znaczenie, ich funkcje zostały szczegółowo opisane przez kilku autorów [34,39,51,105,111]. W tym rozdziale ograniczono się jedynie do przedstawienia ich podstawowych funkcji.

Najbardziej oczywista funkcja uroplakin jest związana tworzeniem nieprzepuszczalnej bariery krew-mocz i ochrony głębiej położonych komórek oraz innych tkanek przed szko-

dliwymi substancjami (m.in. amoniak, mocznik, zmodyfikowane leki oraz toksyny) zawartymi w moczu gromadzonym przez pęcherz [15,52,72]. Urotelium, mimo nieprzepuszczalności, ma niebywałą elastyczność i może z łatwością zmieniać swoją powierzchnię podczas fazy wypełnienia i mikcji. Regiony pokryte kryształami 2D uroplakin łącząc się z tzw. regionami zawiasowymi komórek (cieńsze i niezawierające kryształów 2D uroplakin regiony komórek baldaszkowatych) powodują jej kątowe zagięcie. Tuż pod fragmentami komórek urotelialnych pokrytych kryształami 2D uroplakin znajduje się gęsta sieć mikrofilamentów, które czynnie uczestniczą w regulacji wielkości pęcherza moczowego, w zależności od ilości zawartego w nim moczu [52,53]. Do zmniejszenia powierzchni nablónka urotelialnego i zmniejszenia objętości pęcherza moczowego dochodzi najprawdopodobniej przez obkurczenie mikrofilamentów. Wskutek czego następuje wciągnięcie w głąb komórki regionów pokrytych urotelialnymi płytkami. Podczas gromadzenia się moczu w pęcherzu następuje włączanie fragmentów AUM zawierających 2D kryształy uroplakin upakowanych w dojrzałych pęcherzykach wrzecionowatych obecnych w cytoplazmie komórek baldaszkowatych. Możliwość rozciągania komórek powierzchniowych pod wpływem rearanżacji filamentów aktynowych oraz włókien keratynowych, a także tworzenie ścisłych połączeń między nowo zróżnicowanymi komórkami baldaszkowatymi przyczynia się najprawdopodobniej do szybszego procesu naprawy, zarówno powierzchniowych uszkodzeń jak i głębszych ran pęcherza moczowego [43,45].

Poza podstawowymi funkcjami uroplakin wynikającymi z ich organizowania się w kryształy 2D i tworzenia asymetrycznej błony urotelium, białka te mogą występować także w innych tkankach ssaków i u innych kręgowców [24,66]. Mimo jednak obecności uroplakin w różnych tkankach płazów, gadów, ryb oraz ptaków, jedynie u ssaków wykryto obecność charakterystycznych kryształów 2D uroplakin [21,24,66,106]. Obecność zatem monomerów uroplakin nieorganizowanych w charakterystyczne dla ssaków 16 nm cząstki kryształów 2D pozwala przypuszczać, że białka te pełnią wiele różnorodnych funkcji biologicznych. Porównanie sekwencji aminokwasowych odkrytych u żab białek ewolucyjnie spokrewnionych ze ssaczymi uroplakinami Ia, Ib, II, IIIa oraz IIIb, wykazało, że cząsteczki te są w stosunku do siebie w 60,9, 73,6, 33,5, 36,3 i 36,1% homologiczne [24]. Białka te są ekspresjonowane w komórkach pęcherza moczowego, nerkach, tkance tłuszczowej oraz oocytach żab. Jednak w żadnej z tych tkanek nie zaobserwowano, aby ortologi te tworzyły struktury przypominające ssacze kryształy 2D uroplakin. Wprawdzie w pęcherzu moczowym żab są obecne pewne cząstki, których średnica wynosi 4,5-8,5 nm, jednak nie przypominają one pod względem strukturalnym ani funkcjonalnym ssaczyc 16 nm cząstek uroplakin [24].

Badania prowadzone nad zapłodnieniem jaj żab z gatunku *Xenopus* wykazały, że w procesie tym istotną rolę może odgrywać UPIb oraz UPIIIa [24,59,84]. Podczas zapłodnienia dochodzi do kontaktu oocyty ze spermą zawierającą katępsynę B. Ta proteaza hydrolizuje UPIIIa w obrębie wysoce konserwatywnego regionu zawierającego motyw IDTWP-

GRRSGGMIV, w obrębie domeny cytoplazmatycznej odstawiają się reszty aminokwasowe ulegające fosforylacji (Y_{249}) dzięki czemu uaktywnione zostają reakcje prowadzące do zapłodnienia. Udział żabiej UPIIIa w zapłodnieniu, a także wysoka ewolucyjna konserwatywność uroplakin sugerują, że ssacza UPIIIa ze względu na dużą domenę cytoplazmatyczną ma wiele potencjalnych miejsc fosforylacji i może być zaangażowana w wewnątrzkomórkowe przekazywanie sygnałów [34,90].

Thumbikat i wsp. wykazali, że ssacza UPIIIa pod wpływem interakcji z uropatogennymi szczepami *E. coli* może odgrywać istotną rolę w przekazywaniu sygnałów przez nieprzepuszczalną barierę nabłonka urotelialnego pęcherza moczowego [92,93]. Uropatogenne bakterie we wczesnym etapie kolonizacji wiążąc się z UPIIIa powodują fosforylację treoniny T_{244} obecnej w domenie cytoplazmatycznej tego białka, skutkiem czego dochodzi do napływu jonów wapnia do wnętrza komórek baldaszkowatych. Następstwem interakcji między patogenami a UPIIIa jest wywołanie kaskady reakcji, które ostatecznie prowadzą do rearanżacji cytoskieletu aktynowego komórek baldaszkowatych umożliwiając patogenom przedostanie się do ich wnętrza poprzez endocytozę. Innym mechanizmem kolonizacji komórek pęcherza moczowego przez uropatogenne bakterie jest indukowana apoptoza komórek powierzchniowych na skutek interakcji między UPIIIa a bakteriami. Jak dotąd nie udało się poznać szczegółów tego procesu [92,93].

Proponowany udział uroplakin w kaskadzie przekazywania sygnału w komórce wspierają dodatkowo badania prowadzone na rybie z gatunku *Danio rerio*. W jej genomie stwierdzono obecność genu odpowiedzialnego za białko Upk3l, wykazujące podobieństwo do ssaczyc uroplakin. Białko Upk3l jest ekspresjonowane na powierzchni komórek nabłonkowych pranerek ryb (pronephric tubule epithelial cell), a spadek ekspresji tej właśnie cząsteczki koreluje z różnego rodzaju dysfunkcjami pranerek [66].

Wykrycie UPII oraz UPIIIa w zatoce moczowo-płciowej oraz miedniczce nerkowej ludzkiego płodu pochodzącego z 7 tygodnia ciąży, pozwoliło na przypuszczenie, że białka te, a zwłaszcza UPIIIa, podobnie jak rybie Upk3l, odgrywają istotną rolę we wczesnym etapie rozwoju nerek u ludzi [33,34,66]. Na podstawie przeprowadzonych badań z udziałem różnorodnych organizmów, w których genomie wykryto ortologi ssaczyc uroplakin, można przypuszczać, że uroplakin nie są jedynie produktem różnicowania się komórek nabłonkowych urotelium. Odgrywają istotną rolę we wczesnym etapie organogenezy, w którym mogą umożliwiać właściwą polaryzację komórek oraz oddziaływanie typu komórka-komórka. Oddziaływania te są szczególnie ważne we wczesnych etapach rozwoju nerek, a także w wewnątrzkomórkowej sygnalizacji urotelium [33,34,66].

Innym niezwykle istotnym aspektem obecności asymetrycznej błony pokrywającej nabłonek urotelialny jest udział glikozylowanych uroplakin (UPII oraz UPIII) w tworzeniu tzw. glikokaliks. Dzięki niemu drogi moczowe chronione są przed nadmierną kolonizacją przez mikroorganizmy

[10,26,34,105]. Sugeruje się, że zaburzenia związane z glikozylacją uroplakin mogą mieć znaczący udział w rozwoju zakażeń dróg moczowych [70,91].

Znaczącą rolę w zrozumieniu roli uroplakin mają wyniki, których autorzy wskazują na skutki mutacji lub usunięcia genów kodujących poszczególne uroplakiny [28,29,42]. Hu i wsp. stwierdzili, że usunięcie genu kodującego mysią UPIIIa, nie tylko skutkuje brakiem tego białka w płycie urotelialnej, ale także w znaczący sposób wpływa na ekspresję i potranslacyjną modyfikację partnerskiej uroplakiny UPIb [29]. Usunięcie genu dla UPIIIa powodowało wzrost poziomu mRNA uroplakiny UPIb, podczas gdy malał poziom potranslacyjnej UPIb. Ostatecznie na powierzchni komórek baldaszkowatych była obecna asymetryczna błona urotelium w postaci szczątkowej zbudowana z małych płytek o dużych porach. Kong i wsp. wykazali, że delecja genu kodującego uroplakinę II prowadzi do całkowitego braku płytki urotelialnej na powierzchni komórek baldaszkowatych, co tłumaczy możliwość przedostawania się wody, mocznika oraz innych substancji zawartych w moczu w głąb tkanek [42,105]. Ponadto, brak UPII/UPIIIa powoduje nieprawidłowe różnicowanie się komórek baldaszkowatych, co skutkuje zaburzeniem oddziaływań między nimi. To może spowodować przerost urotelium i w konsekwencji zamknięcie światła moczowodu, może się przyczyniać do powstania odpływu pęcherzowo-moczowodowego [28,29,33,42,51]. Aboushwareb i wsp. wykazali, że delecja mysich genów kodujących uroplakinę II/IIIa wpływa nie tylko na budowę nabłonka urotelialnego, ale także ma związek z objętością pęcherza moczowego, ilością wydalanego oraz zalegającego moczu, ciśnieniem w pęcherzu moczowym, a także częstością oddawanego moczu w zależności od płci zwierzęcia [3]. Wyniki uzyskane w badaniach na mysich modelach podkreślają szczególną rolę, jaką odgrywają uroplakiny i po części wyjaśniają powstawanie różnorodnych anomalii i schorzeń dróg moczowych, tj. pierwotnego odpływu pęcherzowo-moczowodowego, wodonercza, śródmięzszowego zapalenia pęcherza moczowego, zaburzeń czynności i niewydolności nerek [28,29,33,42,86,102,108]. Obiecujące wyniki badań prowadzonych na modelach mysich sprawiły, że niektóre z wyżej wymienionych wad układu moczowego próbowano w sposób bezpośredni powiązać z delekcjami, zmianą ramki odczytu oraz mutacjami w obrębie sekwencji aminokwasowych ludzkich uroplakin. Sugeruje się, że mutacja w obrębie sekwencji aminokwasowej UPIIIa jest istotnym czynnikiem wpływającym na występowanie u ludzi defektów układu moczowego [33]. Jenkins i wsp. podają, że 24% pacjentów z mutacją w UPIIIa miało hipodysplazję nerek [33]. Wyników tych nie potwierdziły badania Schönfeldera i wsp., którzy wskazują, że jedynymi wykrytymi dotychczas u ludzi miejscami mutacji w obrębie UPIIIa prowadzącymi do znaczących zmian w strukturze pierwszorzędowej tego białka są sekwencje Gly202Asp oraz Pro273Leu [86]. W analizowanej przez nich grupie 170 pacjentów z hipodysplazją nerek, jedynie u 0,6% badanych stwierdzono występowanie mutacji w obrębie UPIIIa [86].

Mimo niejednoznacznych wyników dotyczących udziału mutacji UPIIIa w hipodysplazji nerek obecnie uważa się, że białko to jest jedną spośród wielu wymienianych cząsteczek

związanych z anomaliami układu moczowego [100]. O ile jednak w mysich modelach anomalii układu moczowego widać wyraźny związek z brakiem lub też mutacją w obrębie uroplakin, to wyniki badań dotyczące pacjentów z anomaliami układu moczowego nie są tak jednoznaczne [44]. Tłumaczy się to różnicami w rozwoju układu moczowego ludzi i myszy. U ludzi delecja fragmentu genu uroplakin lub też zmiana ramki odczytu tych białek jest poważnym zaburzeniem genetycznym prowadzącym do śmierci w rozwoju prenatalnym lub w pierwszym roku życia dziecka. Potwierdzają to wyniki badań Scotta wskazujące, że śmiertelność w tym okresie z powodu wad układu moczowego wynosi aż ~20% [87].

ROLA UROPLAKIN W PATOLOGII UKŁADU MOCZOWEGO

Zakażenia z udziałem pałeczek *Escherichia coli*

Zakażenie układu moczowego z udziałem *E. coli* to 90% wszystkich zakażeń tego układu i druga co do częstości występowania w populacji ludzkiej choroba infekcyjna o wysokich kosztach leczenia [23,57]. Uropatogenne bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, do której należą pałeczki *E. coli*, zasiedlają drogi moczowe dzięki interakcjom lektyn, fimbriom typu I i P, swoistym dla poszczególnych gatunków i szczepów bakteryjnych a bogatymi w mannozę glikokoniu-gatom urotelium [50,73,89]. Przy czym profil ekspresji reszt cukrowych na nabłonku jest bardziej istotnym warunkiem kolonizacji niż odmiany patogennych szczepów *E. coli* [13].

Receptorem urotelialnym dla adhezyny fimbrii (FimH) *E. coli* u myszy, krów i ludzi są reszty mannozowe obecne na UPIa [110,116]. Jedynie UPIa, ale nie UPIb są wyposażone w niemodyfikowane końcowe reszty mannozowe rozpoznawane przez adhezynę FimH [109]. Połączenie z UPIa jest ważne nie tylko na etapie przylegania bakterii do urotelium, ale ma również podstawowe znaczenie w procesie przenikania bakterii w głąb komórek urotelialnych [70]. Etap adhezji wiąże się ze zmianami konformacyjnymi w domenach zewnątrzkomórkowych wszystkich uroplakin. Inicjuje przegrupowania białek i przekazywanie sygnału w głąb komórki przez podniesienie wewnątrzkomórkowego stężenia wapnia i fosforylację reszt treoniny umiejscowionej w części cytoplazmatycznej UPIIIa [99]. Skuteczna interakcja FimH z UPIa może być również przyczyną zakażeń górnych dróg moczowych, w tym nerek, gdyż UPIa ekspresjonowana jest również w moczowodach i miedniczkach nerkowych [35,55,83]. W takim umiejscowieniu znaczącą rolę w procesie adhezji bakterii odgrywają również fimbrie P umożliwiające niektórym szczepom *E. coli* wywołanie zakażeń odmiedniczkowego zapalenia nerek [81]. Warto dodać, że w procesie penetracji urotelium przez bakterie istotną rolę mogą odgrywać tratwy lipidowe, gdyż ich zniszczenie uniemożliwia inwazję bakteryjną [22]. Wnikające bakterie wykorzystują wewnątrzkomórkowy, błonowy system transportu i pęcherzyki wrzecionowate do namnażania, wymykania się spod kontroli ze strony układu odpornościowego i unikania toksycznego wpływu antybiotyków [7,8,11,37]. W komórkach baldaszkowatych tworzą się wewnątrzkomórkowe magazyny i „fabryki” bakteryjne [8,37,71]. Zaburzenia w glikozyla-

cji uroplakin polegające na zwiększonej ekspresji glikanów ubogich w reszty mannozowe na powierzchni epitelium, obserwowane np. u pacjentów z cukrzycą, stanowią istotny czynnik wrażliwości na infekcje z udziałem *E. coli* [91].

Farmakologiczne próby blokowania oddziaływań między glikoproteinami urotelium a adhezynami FimH mogą prowadzić do skutecznego hamowania inwazji bakteryjnej [93]. Poznanie mechanizmu interakcji adhezyny FimH z UPIa, a także przekazywania sygnału poprzez kompleks uroplakin, w tym UPIIIa oraz próby blokowania tych oddziaływań ma ogromne znaczenie w projektowaniu terapii zakażeń pęcherza moczowego przez *E. coli*. Dotyczy to zwłaszcza nawracającej i chronicznej postaci tych zakażeń. Należy dodać, że naturalnie obecne w moczu białko Tamma-Horsfalla bogate w reszty mannozy hamuje adhezję *E. coli* stanowiąc pierwszą linię obrony przed zakażeniami [67,78]. Ponadto białko powierzchniowe D występujące na powierzchni błon śluzowych różnych narządów z wyjątkiem płuc ma zdolność bezpośredniego wiązania się z UPIa i blokowania adhezji bakterii do urotelium [48].

W ostatnich latach wykryto wiele nowych leków przeciwbakteryjnych skutecznie eliminujących zakażenia dróg moczowych. Szczególnie obiecującą grupą są leki z grupy antagonistów adhezyny FimH blokujące adhezję bakterii do komórek urotelialnych. Projektowanie antagonistów polega głównie na próbie imitacji struktury naturalnych glikotopów [1,2,101]. Leki hamujące interakcję bakterii z ligandem błonowym minimalizują zdolność bakterii do uzyskania lekooporności [1,12,36,61]. Schwarzt i wsp. podjęli próbę uzyskania nowych antagonistów adhezyn FimH o strukturze triazoli z resztami mannozy [88]. Z powodu powszechności zakażeń urotelium i wysokich kosztów ich leczenia, nowe kierunki terapeutyczne tego schorzenia to jeden z priorytetów współczesnej medycyny.

Nowotwory urotelialne

Rak wywodzący się z urotelium zajmuje szóste miejsce na liście najpowszechniej występujących typów nowotworu na świecie. Najczęściej występuje jako guz nieinwazyjny lub tylko powierzchownie naciekający błonę śluzową pęcherza moczowego. Może również przenikać w głąb ściany pęcherza moczowego i poza nią, a nawet u znacznego odsetka pacjentów daje przerzuty odległe [32]. Rak urotelialny pojawia się na wszystkich odcinkach układu moczowego. 90-95% przypadków raka urotelialnego dotyczy pęcherza moczowego, pozostały odsetek (5-10%) to umiejscowienie raka w moczowodach i układzie zbiorczym nerki [33]. W większości przypadków leczenie raka urotelium jest inwazyjne i polega na przezcewkowej resekcji guza. Niestety, u niemal 70% pacjentów obserwuje się wznowę po operacji. Ponadto stosowana chemioterapia i/lub immunoterapia charakteryzują się dużą toksycznością. Dlatego poszukiwanie nowych markerów wczesnego wykrywania i tkankowoswoistych leków jest nieodzowne.

Uroplakiny, z powodu wysokiej konserwatywności struktury, a przede wszystkim szczególnej i wybiórczej swoisto-

ści tkankowej stanowią atrakcyjny model w poszukiwaniu markerów nowotworowych urotelium. Przede wszystkim wykrycie ich ekspresji w analizowanym materiale biologicznym wskazuje z dużym prawdopodobieństwem na nowotwór pochodzenia urotelialnego, co jest istotne w różnicowaniu anaplastycznych nowotworów miednicy [58,62,69,76,103]. Już w zmianach przednowotworowych ekspresja uroplakin ulega obniżeniu, mimo że struktura płytkowa pozostaje zachowana [120]. W przypadku nienaciekających guzów pęcherza moczowego, stanowiących około 50% wszystkich przypadków raka pęcherza moczowego, fragmenty tkanek pobranych z nowotworowo zmienionych miejsc charakteryzowały się nieprawidłową ekspresją uroplakin w porównaniu do tkanek zdrowych, co wskazywało na nieprawidłowe różnicowanie komórek urotelialnych. Obecność odróżnicowanych komórek rakowych w miejscach resekcji i w miejscach rzekomo niezmiennych jest prawdopodobnie przyczyną wysokiego odsetka wznów (do 70%) obserwowanych w nowotworach pęcherza moczowego [119]. Ciekawy jest brak ścisłej korelacji ekspresji uroplakin ze stopniem odróżnicowania raka urotelium, mimo iż uroplakiny są produktem końcowym różnicowania się prawidłowych komórek urotelialnych [30,103]. Negatywna ekspresja uroplakin w biopsjach analizowanych metodami immunohistochemicznymi świadczy o wysokim stopniu zaawansowania raka urotelium, w tym przerzutach do węzłów chłonnych i/lub nawrocie choroby [30,60,74]. Sugeruje się, że jednoczesne wykrycie, w zaawansowanych nowotworach urotelialnych, pozytywnej i negatywnej ekspresji uroplakin u tego samego pacjenta, świadczy o odmiennym pochodzeniu klonalnym raka urotelium [30].

Najczęściej stosowanymi metodami wykrywania ekspresji uroplakin do celów diagnostycznych są metody immunocytochemiczne. Ważne zastosowanie w diagnostyce nowotworowej ma również metoda PCR, którą można wykrywać komórki nowotworowe w krwiobiegu [47,54,75,77,113,114]. Metodą RT-PCR można wykrywać mikroprzerzuty raka urotelialnego do węzłów chłonnych czy płuc, co umożliwiła dokładniejszą ocenę stopnia zaawansowania umiejscowionego bądź układowego guza, a także można śledzić postępy zastosowanej terapii przeciwnowotworowej [19,104].

Obecnie w celu zwiększenia potencjału diagnostycznego i różnicującego choroby nowotworowe układu moczowego opracowuje się testy wykorzystujące oznaczenia kilku markerów jednocześnie. Takie zestawy testów modułowych z użyciem m.in. UPIII, pozwolą z większym prawdopodobieństwem na określenie typu i stopnia zaawansowania procesu nowotworowego oraz pozwolą na wybór terapii celowanej.

Uroplakina III jest umiarkowanie czułym, ale swoistym markerem w immunohistochemicznej analizie pierwotnych i przerzutujących rakach urotelialnych, a także rakach przerzutujących o nieznanym pochodzeniu. Jest także proponowanym markerem różnicowania pierwotnego raka urotelium od innych pierwotnych nowotworów układu moczowo-płciowego [38]. Uroplakinę tę wykryto również w moczu chorych na raka pęcherza moczowego, jednak zni-

kome jej ilości w moczu nie pozwalają na tym etapie badań na wprowadzenie oznaczeń do diagnostyki medycznej [49]. Oprócz UPIII, do wykrywania komórek raka urotelialnego, wykorzystuje się inne markery, takie jak: cytokeratyny o wysokiej masie cząsteczkowej (reaktywność w przedziale 65-100%), p63 (70-92%) oraz trombomodulina (49-69%) [18,46,79]. Odpowiednie zestawienie wymienionych markerów i/lub zastosowanie z PAX2, PAX8 pozwala np. na różnicowanie raka pochodzenia urotelialnego od nowotworów innego pochodzenia [79], w tym raka prostaty [18,46]. Taki zestaw modułowy może być pomocny w diagnostyce obciążonego wysokim stopniem złośliwości raka urotelialnego górnych dróg moczowych, w tym nerek [6,14]. Ponadto zestaw testów zawierający dodatkowo S100P pozwala na różnicowanie raka cewek zbiorczych Belliniego (collecting duct carcinoma) od urotelialnego raka miedniczki nerkowej (renal pelvic urothelial carcinoma) [94]. UPIIIa wraz z markerami urotelialnymi (S100P i GATA3) i markerami komórek płaskonabłonkowych (CK14 i desmogleiną 3) umożliwia rozróżnienie między pierwotnym rakiem płaskonabłonkowym, rakiem urotelium ze zróżnicowaniem w kierunku komórek płaskonabłonkowych i wtórnym rakiem płaskonabłonkowym [25].

Poza UPIIIa w diagnostyce nowotworowej są wykorzystywane również oznaczenia UPII i UPIa. UPII jako marker cechuje się wyjątkową swoistością w wykrywaniu ludzkiego raka przejściowokomórkowego pęcherza moczowego we krwi i może służyć do oceny stopnia zaawansowania procesu nowotworowego, jego przerzutowania i monitorowania leczenia [54,113]. W badaniach karcinogenezy indukowanej na szczurach obniżona ekspresja UPII świadczyła o zmianie w strukturze błony, co łączyło się z destrukcją heterodimeru UPIa/UII przy jednoczesnym zachowaniu tworzenia heterodimeru UPIb/UIII [118]. Smith i wsp. porównywali intensywność reaktywności przeciwciał monoklonalnych anti-UIII i anti-UII z tkankami pochodzącymi z raka nerki, szyjki macicy, pęcherza moczowego i raka urotelium górnych dróg moczowych o wysokim stopniu złośliwości oraz przerzutów raka urotelium [88]. Autorzy wykazali, że przeciwciała monoklonalne anti-UIII reagowało z fragmentami błonowymi, podczas gdy przeciwciała anti-UII barwiło zarówno błonowe jak i cytoplazmatyczne fragmenty i cechowało się lepszą czułością i intensywnością reakcji [88].

Gen dla UPIa (*UPK1A*) został zidentyfikowany jako ważny nowotworowy gen supresorowy (TSG - tumor suppressor gene) [41]. Wykazano, że ektopowa ekspresja tego genu hamuje proliferację komórek, klonogenność, ruchliwość komórek rakowych i tworzenie guzów u myszy bezgranicznych. Potwierdzały to obserwacje kliniczne, w których obniżenie ekspresji korelowało ze zwiększeniem liczby przerzutów do węzłów chłonnych, większym stopniem odróżnicowania i gorszym prognozowaniem przeżycia pacjentów [41]. Badania mechanistyczne Konga i wsp. sugerują, że takie działanie może wynikać z hamowania translokacji jądrowej β -kateniny i inaktywacji ekspresji genów znajdujących się poniżej w szlaku sygnałowym (cyklina-D1, c-jun, c-myc, MMP-7) [41]. Ponadto hamowanie przerzutowania było związane z obniżeniem ekspresji MMP-7 [41]. Immunohi-

stochemiczna analiza UPIa umożliwiła wykrycie przerzutu komórek raka pęcherza do płuc u pacjenta z nawracającym rakiem pęcherza po wielokrotnej resekcji [85]. W przypadku raka płaskokomórkowego przełyku wykazano obniżoną ekspresję UPIa, co korelowało z hipermetylacją promotora dla tej uroplakiny.

Wykrywanie ekspresji uroplakin w skrawkach tkanek metodami immunohistochemicznymi i/lub wykrywanie ich transkryptów we krwi lub moczu za pomocą RT-PCR lub wewnętrznego PCR może dostarczać wielu cennych informacji wykorzystywanych w diagnostyce nowotworów oraz terapiach przeciwnowotworowych. Podejmuje się próby udoskonalania tych metod, poszukiwania bardziej czułych i swoistych technik wykrywania, a także identyfikacji nowych markerów. Duży potencjał reprezentują, jak dotąd nieanalizowane, produkty glikozytacji uroplakin.

ZAKOŃCZENIE

Obecnie diagnostyka schorzeń układu moczowego, a zwłaszcza chorób nowotworowych, polega na stosowaniu badań endoskopowych i obrazowych (ultrasonografia, tomografia komputerowa i inne). W czasie badań inwazyjnych są pobierane wycinki, które służą histopatologicznej i immunohistochemicznej identyfikacji komórek nowotworowo zmienionych oraz do oceny stopnia ich zaawansowania. W ostatnich latach wiedza dotycząca struktury i funkcji, a także szlaków molekularnych w nabłonku dróg moczowych otwiera nowe możliwości dla diagnostyki nieinwazyjnej oraz możliwości zdefiniowania terapii celowanych chorób układu moczowego. Zadania badawcze dotyczą przede wszystkim poznania nowych, a także ulepszenia już poznanych, tkankowoswoistych biomarkerów, do których należą uroplakiny.

W terapii można wykorzystać sprzęgnięte z radioizotopem bądź chemioterapeutykami przeciwciała rozpoznające uroplakiny. Takie koniugaty mogą wybiórczo dostarczać

substancję aktywną (lek) bezpośrednio do nieprawidłowej komórki urotelialnej bez uszkodzenia zdrowych tkanek. Ponadto uroplakiny, dzięki swoistości tkankowej, stanowią ogromny potencjał w terapiach zaburzeń urotelium. Komórkowoswoista ekspresja jest głównym elementem w każdej terapii celowanej, w tym genowej. Można ją uzyskać stosując tkankowoswoisty promotor kontrolujący transkrypcję genu terapeutycznego. Promotor dla UPII jest wykorzystywany w konstrukcji wektorów wirusowych stosowanych w terapii genowej raków pęcherza moczowego [98]. Zaobserwowano zarówno w badaniach *in vitro* jak i *in vivo*, że w terapii genowej z użyciem TNF- α , którego ekspresja zależna była od promotora dla UPII, nastąpiło zahamowanie wzrostu raka pęcherza [117].

Bez odpowiedzi pozostaje pytanie dlaczego uroplakiny reprezentujące prawidłowo zróżnicowane urotelium są obecne na komórkach nowotworowych o wysokim stopniu zaawansowania. Być może reprezentują tylko biochemiczną, ale nie funkcjonalną fazę zróżnicowania. Z pewnością dalsze poznanie struktury i funkcji uroplakin w patofizjologii urotelium pomoże zrozumieć mechanizm molekularny patogenezы zakażeń dróg moczowych. Wiedza ta stwarza również możliwości zdefiniowania nowych nośników terapeutycznych, które znajdą zastosowanie w zapobieganiu i leczeniu chorób układu moczowego. Temu celowi mogą służyć nowe technologie stosowane w inżynierii tkankowej i komórkowej. Polegają one na przeprogramowaniu komórek somatycznych w pluripotentne komórki macierzyste z zachowaną zdolnością do różnicowania uroepitelium z prawidłową ekspresją uroplakin, kładyn i cytokeratyn. Jest to obiecujący model, który może znaleźć zastosowanie i umożliwi poznanie procesu różnicowania, regeneracji tkankowej, zrozumienie procesów patologicznych dotyczących urotelium, a także zrozumienie roli uroplakin [68]. Ocena i analiza kliniczna użyteczności uroplakin oraz ich glikowariantów wymaga zaawansowanych badań laboratoryjnych i klinicznych prowadzonych na dużą skalę przez zaangażowane wielodyscyplinarne zespoły badawcze.

PIŚMIENICTWO

- [1] Abgottspon D., Ernst B.: *In vivo* evaluation of FimH antagonists - a novel class of antimicrobials for the treatment of urinary tract infection. *Chimia*, 2012; 66: 166-169
- [2] Abgottspon D., Rölli G., Hosch L., Steinhuber A., Jiang X., Schwardt O., Cutting B., Smiesko M., Jenal U., Ernst B., Trampuz A.: Development of an aggregation assay to screen FimH antagonists. *J. Microbiol. Methods*, 2010; 82: 249-255
- [3] Aboushwareb T., Zhou G., Deng F.M., Turner C., Andersson K.E., Tar M., Zhao W., Melman A., D'Agostino R. Jr., Sun T.T., Christ G.J.: Alterations in bladder function associated with urothelial defects in uroplakin II and IIIa knockout mice. *NeuroUrol. Urodyn.*, 2009; 28: 1028-1033
- [4] Acharya P., Beckel J., Ruiz W.G., Wang E., Rojas R., Birder L., Apodaca G.: Distribution of the tight junction proteins ZO-1, occludin, and claudin-4, -8, and -12 in bladder epithelium. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2004; 287: F305-F318
- [5] Adachi W., Okubo K., Kinoshita S.: Human uroplakin Ib in ocular surface epithelium. *Invest. Ophthalmol. Vis. Sci.*, 2000; 41: 2900-2905
- [6] Albadine R., Schultz L., Illei P., Ertoy D., Hicks J., Sharma R., Epstein J.I., Netto G.J.: PAX8 (+)/p63 (-) immunostaining pattern in renal collecting duct carcinoma (CDC): a useful immunoprofile in the differential diagnosis of CDC versus urothelial carcinoma of upper urinary tract. *Am. J. Surg. Pathol.*, 2010; 34: 965-969
- [7] Anderson G.G., Dodson K.W., Hooton T.M., Hultgren S.J.: Intracellular bacterial communities of uropathogenic *Escherichia coli* in urinary tract pathogenesis. *Trends Microbiol.*, 2004; 12: 424-430
- [8] Anderson G.G., Palermo J.J., Schilling J.D., Roth R., Heuser J., Hultgren S.J.: Intracellular bacterial biofilm-like pods in urinary tract infections. *Science*, 2003; 301: 105-107
- [9] Apodaca G.: The uroepithelium: not just a passive barrier. *Traffic*, 2004; 5: 117-128

- [10] Baza danych UniProt: www.uniprot.org/uniprot/?query=uroplakin&sort=score (25.02.2014)
- [11] Bishop B.L., Duncan M.J., Song J., Li G., Zaas D., Abraham S.N.: Cyclic AMP-regulated exocytosis of *Escherichia coli* from infected bladder epithelial cells. *Nat. Med.*, 2007; 13: 625-630
- [12] Bouckaert J., Berglund J., Schembri M., De Genst E., Cools L., Wührer M., Hung C.S., Pinkner J., Slättegård R., Zavialov A., Choudhury D., Langermann S., Hultgren S.J., Wyns L., Klemm P. i wsp.: Receptor binding studies disclose a novel class of high-affinity inhibitors of the *Escherichia coli* FimH adhesin. *Mol. Microbiol.*, 2005; 55: 441-455
- [13] Bouckaert J., Mackenzie J., de Paz J.L., Chipwaza B., Choudhury D., Zavialov A., Mannerstedt K., Anderson J., Piérard D., Wyns L., Seeberger P.H., Oscarson S., De Greve H., Knight S.D.: The affinity of the FimH fimbrial adhesin is receptor-driven and quasi-independent of *Escherichia coli* pathotypes. *Mol. Microbiol.*, 2006; 61: 1556-1568
- [14] Butnor K.J., Ordóñez N.G.: Uroplakin is not a reliable immunohistochemical marker for malignant mesothelioma of the pleura. *Appl. Immunohistochem. Mol. Morphol.*, 2008; 16: 326-328
- [15] Chang A., Hammond T.G., Sun T.T., Zeidel M.L.: Permeability properties of the mammalian bladder apical membrane. *Am. J. Physiol.*, 1994; 267: C1483-C1492
- [16] Chen Y., Guo X., Deng F.M., Liang F.X., Sun W., Ren M., Izumi T., Sabatini D.D., Sun T.T., Kreibich G.: Rab27b is associated with fusiform vesicles and may be involved in targeting uroplakins to urothelial apical membranes. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003; 100: 14012-14017
- [17] Chopra B., Hinley J., Oleksiewicz M.B., Southgate J.: Trans-species comparison of PPAR and RXR expression by rat and human urothelial tissues. *Toxicol. Pathol.*, 2008; 36: 485-495
- [18] Chuang A.Y., DeMarzo A.M., Veltri R.W., Sharma R.B., Bieberich C.J., Epstein J.I.: Immunohistochemical differentiation of high-grade prostate carcinoma from urothelial carcinoma. *Am. J. Surg. Pathol.*, 2007; 31: 1246-1255
- [19] Copp H.L., Chin J.L., Conaway M., Theodorescu D.: Prospective evaluation of the prognostic relevance of molecular staging for urothelial carcinoma. *Cancer*, 2006; 107: 60-66
- [20] Deng F.M., Liang F.X., Tu L., Resing K.A., Hu P., Supino M., Hu C.C., Zhou G., Ding M., Kreibich G., Sun T.T.: Uroplakin IIIb, a urothelial differentiation marker, dimerizes with uroplakin Ib as an early step of urothelial plaque assembly. *J. Cell Biol.*, 2002; 159: 685-694
- [21] Desalle R., Chicote J.U., Sun T.T., Garcia-España A.: Generation of divergent uroplakin tetraspanins and their partners during vertebrate evolution: identification of novel uroplakins. *BMC Evol. Biol.*, 2014; 14: 13
- [22] Duncan M.J., Li G., Shin J.S., Carson J.L., Abraham S.N.: Bacterial penetration of bladder epithelium through lipid rafts. *J. Biol. Chem.*, 2004; 279: 18944-18951
- [23] Foxman B., Brown P.: Epidemiology of urinary tract infections: transmission and risk factors, incidence, and costs. *Infect. Dis. Clin. North Am.*, 2003; 17: 227-241
- [24] Garcia-España A., Chung P.J., Zhao X., Lee A., Pellicer A., Yu J., Sun T.T., Desalle R.: Origin of the tetraspanin uroplakins and their co-evolution with associated proteins: implications for uroplakin structure and function. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 2006; 41: 355-367
- [25] Gulmann C., Paner G.P., Parakh R.S., Hansel D.E., Shen S.S., Ro J.Y., Annaiah C., Lopez-Beltran A., Rao P., Arora K., Cho Y., Herrera-Hernandez L., Alsabeh R., Amin M.B.: Immunohistochemical profile to distinguish urothelial from squamous differentiation in carcinomas of urothelial tract. *Hum. Pathol.*, 2013; 44: 164-172
- [26] Hauser P.J., Dozmorov M.G., Bane B.L., Slobodov G., Culkin D.J., Hurst R.E.: Abnormal expression of differentiation related proteins and proteoglycan core proteins in the urothelium of patients with interstitial cystitis. *J. Urol.*, 2008; 179: 764-769
- [27] Hu C.C., Bachmann T., Zhou G., Liang F.X., Ghiso J., Kreibich G., Sun T.T.: Assembly of a membrane receptor complex: roles of the uroplakin II prosequence in regulating uroplakin bacterial receptor oligomerization. *Biochem. J.*, 2008; 414: 195-203
- [28] Hu P., Deng F.M., Liang F.X., Hu C.M., Auerbach A.B., Shapiro E., Wu X.R., Kachar B., Sun T.T.: Ablation of uroplakin III gene results in small urothelial plaques, urothelial leakage, and vesicoureteral reflux. *J. Cell Biol.*, 2000; 151: 961-972
- [29] Hu P., Meyers S., Liang F.X., Deng F.M., Kachar B., Zeidel M.L., Sun T.T.: Role of membrane proteins in permeability barrier function: uroplakin ablation elevates urothelial permeability. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2002; 283: F1200-F1207
- [30] Huang H.Y., Shariat S.F., Sun T.T., Lepor H., Shapiro E., Hsieh J.T., Ashfaq R., Lotan Y., Wu X.R.: Persistent uroplakin expression in advanced urothelial carcinomas: implications in urothelial tumor progression and clinical outcome. *Hum. Pathol.*, 2007; 38: 1703-1713
- [31] Hudoklin S., Jezernik K., Neumüller J., Pavelka M., Romih R.: Urothelial plaque formation in post-Golgi compartments. *PLoS One*, 2011; 6: e23636
- [32] Jemal A., Siegel R., Xu J., Ward E.: Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J. Clin.*, 2010; 60: 277-300
- [33] Jenkins D., Bitner-Glindzic M., Malcolm S., Hu C.C., Allison J., Winyard P.J., Gullett A.M., Thomas D.F., Belk R.A., Feather S.A., Sun T.T., Woolf A.S.: *De novo uroplakin IIIa* heterozygous mutations cause human renal adysplasia leading to severe kidney failure. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2005; 16: 2141-2149
- [34] Jenkins D., Woolf A.S.: Uroplakins: new molecular players in the biology of urinary tract malformations. *Kidney Int.*, 2007; 71: 195-200
- [35] Jiang S., Gitlin J., Deng F.M., Liang F.X., Lee A., Atala A., Bauer S.B., Ehrlich G.D., Feather S.A., Goldberg J.D., Goodship J.A., Goodship T.H., Hermanns M., Hu F.Z., Jones K.E. i wsp.: Lack of major involvement of human uroplakin genes in vesicoureteral reflux: implications for disease heterogeneity. *Kidney Int.*, 2004; 66: 10-19
- [36] Jiang X., Abgottspon D., Kleeb S., Rabbani S., Scharenberg M., Wittwer M., Haug M., Schwardt O., Ernst B.: Antiadhesion therapy for urinary tract infections – a balanced PK/PD profile proved to be key for success. *J. Med. Chem.*, 2012; 55: 4700-4713
- [37] Justice S.S., Hung C., Theriot J.A., Fletcher D.A., Anderson G.G., Footer M.J., Hultgren S.J.: Differentiation and developmental pathways of uropathogenic *Escherichia coli* in urinary tract pathogenesis. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004; 101: 1333-1338
- [38] Kaufmann O., Volmerig J., Dietel M.: Uroplakin III is a highly specific and moderately sensitive immunohistochemical marker for primary and metastatic urothelial carcinomas. *Am. J. Clin. Pathol.*, 2000; 113: 683-687
- [39] Khandelwal P., Abraham S.N., Apodaca G.: Cell biology and physiology of the uroepithelium. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2009; 297: F1477-F1501
- [40] Khandelwal P., Prakasam H.S., Clayton D.R., Ruiz W.G., Gallo L.I., van Roekel D., Lukianov S., Peränen J., Goldenring J.R., Apodaca G.: A Rab11a-Rab8a-Myo5B network promotes stretch-regulated exocytosis in bladder umbrella cells. *Mol. Biol. Cell*, 2013; 24: 1007-1019
- [41] Kong K.L., Kwong D.L., Fu L., Chan T.H., Chen L., Liu H., Li Y., Zhu Y.H., Bi J., Qin Y.R., Law S.Y., Guan X.Y.: Characterization of a candidate tumor suppressor gene uroplakin 1A in esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Res.*, 2010; 70: 8832-8841
- [42] Kong X.T., Deng F.M., Hu P., Liang F.X., Zhou G., Auerbach A.B., Genieser N., Nelson P.K., Robbins E.S., Shapiro E., Kachar B., Sun T.T.: Roles of uroplakins in plaque formation, umbrella cell enlargement, and urinary tract diseases. *J. Cell Biol.*, 2004; 167: 1195-1204
- [43] Kreft M.E., Hudoklin S., Jezernik K., Romih R.: Formation and maintenance of blood-urine barrier in urothelium. *Protoplasma*, 2010; 246: 3-14

- [44] Kreft M.E., Romih R., Kreft M., Jezernik K.: Endocytotic activity of bladder superficial urothelial cells is inversely related to their differentiation stage. *Differentiation*, 2009; 77: 48-59
- [45] Kreft M.E., Sterle M., Veranic P., Jezernik K.: Urothelial injuries and the early wound healing response: tight junctions and urothelial cytodifferentiation. *Histochem. Cell Biol.*, 2005; 123: 529-539
- [46] Kunju L.P., Mehra R., Snyder M., Shah R.B.: Prostate-specific antigen, high-molecular-weight cytokeratin (clone 34 β E12), and/or p63: an optimal immunohistochemical panel to distinguish poorly differentiated prostate adenocarcinoma from urothelial carcinoma. *Am. J. Clin. Pathol.*, 2006; 125: 675-681
- [47] Kurahashi T., Hara I., Oka N., Kamidono S., Eto H., Miyake H.: Detection of micrometastases in pelvic lymph nodes in patients undergoing radical cystectomy for locally invasive bladder cancer by real-time reverse transcriptase-PCR for cytokeratin 19 and uroplakin II. *Clin. Cancer Res.*, 2005; 11: 3773-3777
- [48] Kurimura Y., Nishitani C., Arika S., Saito A., Hasegawa Y., Takahashi M., Hashimoto J., Takahashi S., Tsukamoto T., Kuroki Y.: Surfactant protein D inhibits adherence of uropathogenic *Escherichia coli* to the bladder epithelial cells and the bacterium-induced cytotoxicity: a possible function in urinary tract. *J. Biol. Chem.*, 2012; 287: 39578-39588
- [49] Lai Y., Ye J., Chen J., Zhang L., Wasi L., He Z., Zhou L., Li H., Yan Q., Gui Y., Cai Z., Wang X., Guan Z.: UPK3A: a promising novel urinary marker for the detection of bladder cancer. *Urology*, 2010; 76: 514.e6-e11
- [50] Langermann S., Palaszynski S., Barnhart M., Auguste G., Pinkner J.S., Burlein J., Barren P., Koenig S., Leath S., Jones C.H., Hultgren S.J.: Prevention of mucosal *Escherichia coli* infection by FimH-adhesin-based systemic vaccination. *Science*, 1997; 276: 607-611
- [51] Lee G.: Uroplakins in the lower urinary tract. *Int. Neurourol. J.*, 2011; 15: 4-12
- [52] Lewis S.A.: Everything you wanted to know about the bladder epithelium but were afraid to ask. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2000; 278: F867-F874
- [53] Lewis S.A., de Moura J.L.: Incorporation of cytoplasmic vesicles into apical membrane of mammalian urinary bladder epithelium. *Nature*, 1982; 297: 685-688
- [54] Li S.M., Zhang Z.T., Chan S., McLenan O., Dixon C., Taneja S., Lapor H., Sun T.T., Wu X.R.: Detection of circulating uroplakin-positive cells in patients with transitional cell carcinoma of the bladder. *J. Urol.*, 1999; 162: 931-935
- [55] Liang F.X., Bosland M.C., Huang H., Romih R., Baptiste S., Deng F.M., Wu X.R., Shapiro E., Sun T.T.: Cellular basis of urothelial squamous metaplasia: roles of lineage heterogeneity and cell replacement. *J. Cell Biol.*, 2005; 171: 835-844
- [56] Lin J.H., Wu X.R., Kreibich G., Sun T.T.: Precursor sequence, processing, and urothelium-specific expression of a major 15-kDa protein subunit of asymmetric unit membrane. *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 1775-1784
- [57] Litwin M.S., Saigal C.S., Yano E.M., Avila C., Geschwind S.A., Hanley J.M., Joyce G.F., Madison R., Pace J., Polich S.M., Wang M.: Urologic diseases in America Project: analytical methods and principal findings. *J. Urol.*, 2005; 173: 933-937
- [58] Lobban E.D., Smith B.A., Hall G.D., Harnden P., Roberts P., Selby P.J., Trejdosiewicz L.K., Southgate J.: Uroplakin gene expression by normal and neoplastic human urothelium. *Am. J. Pathol.*, 1998; 153: 1957-1967
- [59] Mahbub Hasan A.K., Sato K., Sakakibara K., Ou Z., Iwasaki T., Ueda Y., Fukami Y.: Uroplakin III, a novel Src substrate in *Xenopus* egg rafts, is a target for sperm protease essential for fertilization. *Dev. Biol.*, 2005; 286: 483-492
- [60] Matsumoto K., Satoh T., Irie A., Ishii J., Kuwao S., Iwamura M., Baba S.: Loss expression of uroplakin III is associated with clinicopathologic features of aggressive bladder cancer. *Urology*, 2008; 72: 444-449
- [61] Meiland R., Geerlings S.E., Langermann S., Brouwer E.C., Coenjaerts F.E., Hoepelman A.I.: Fimch antiserum inhibits the adherence of *Escherichia coli* to cells collected by voided urine specimens of diabetic women. *J. Urol.*, 2004; 171: 1589-1593
- [62] Mhaweche P., Uchida T., Pelte M.F.: Immunohistochemical profile of high-grade urothelial bladder carcinoma and prostate adenocarcinoma. *Hum. Pathol.*, 2002; 33: 1136-1140
- [63] Min G., Stolz M., Zhou G., Liang F., Sebbel P., Stoffler D., Glockshuber R., Sun T.T., Aebi U., Kong X.P.: Localization of uroplakin Ia, the urothelial receptor for bacterial adhesin FimH, on the six inner domains of the 16 nm urothelial plaque particle. *J. Mol. Biol.*, 2002; 317: 697-706
- [64] Min G., Wang H., Sun T.T., Kong X.P.: Structural basis for tetraspanin functions as revealed by the cryo-EM structure of uroplakin complexes at 6-Å resolution. *J. Cell Biol.*, 2006; 173: 975-983
- [65] Min G., Zhou G., Schapira M., Sun T.T., Kong X.P.: Structural basis of urothelial permeability barrier function as revealed by Cryo-EM studies of the 16 nm uroplakin particle. *J. Cell Sci.*, 2003; 116: 4087-4094
- [66] Mitra S., Lukianov S., Ruiz W.G., Cianciolo Cosentino C., Sanker S., Traub L.M., Hukriede N.A., Apodaca G.: Requirement for a uroplakin 3a-like protein in the development of zebrafish pronephric tubule epithelial cell function, morphogenesis, and polarity. *PLoS One*, 2012; 7: e41816
- [67] Mo L., Zhu X.H., Huang H.Y., Shapiro E., Hasty D.L., Wu X.R.: Ablation of the Tamm-Horsfall protein gene increases susceptibility of mice to bladder colonization by type 1-fimbriated *Escherichia coli*. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2004; 286: F795-F802
- [68] Moad M., Pal D., Hepburn A.C., Williamson S.C., Wilson L., Lako M., Armstrong L., Hayward S.W., Franco O.E., Cates J.M., Fordham S.E., Przyborski S., Carr-Wilkinson J., Robson C.N., Heer R.: A novel model of urinary tract differentiation, tissue regeneration, and disease: reprogramming human prostate and bladder cells into induced pluripotent stem cells. *Eur. Urol.*, 2013; 64: 753-761
- [69] Moll R., Wu X.R., Lin J.H., Sun T.T.: Uroplakins, specific membrane proteins of urothelial umbrella cells, as histological markers of metastatic transitional cell carcinomas. *Am. J. Pathol.*, 1995; 147: 1383-1397
- [70] Mulvey M.A., Lopez-Boado Y.S., Wilson C.L., Roth R., Parks W.C., Heuser J., Hultgren S.J.: Induction and evasion of host defenses by type 1-piliated uropathogenic *Escherichia coli*. *Science*, 1998; 282: 1494-1497
- [71] Mulvey M.A., Schilling J.D., Hultgren S.J.: Establishment of a persistent *Escherichia coli* reservoir during the acute phase of a bladder infection. *Infect. Immun.*, 2001; 69: 4572-4579
- [72] Negrete H.O., Lavelle J.P., Berg J., Lewis S.A., Zeidel M.L.: Permeability properties of the intact mammalian bladder epithelium. *Am. J. Physiol.*, 1996; 271: F886-F894
- [73] Ofek I., Hasty D.L., Abraham S.N., Sharon N.: Role of bacterial lectins in urinary tract infections. Molecular mechanisms for diversification of bacterial surface lectins. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2000; 485: 183-192
- [74] Ohtsuka Y., Kawakami S., Fujii Y., Koga F., Saito K., Ando N., Takizawa T., Kageyama Y., Kihara K.: Loss of uroplakin III expression is associated with a poor prognosis in patients with urothelial carcinoma of the upper urinary tract. *BJU Int.*, 2006; 97: 1322-1326
- [75] Okegawa T., Kinjo M., Nutahara K., Higashihara E.: Value of reverse transcription polymerase chain assay in peripheral blood of patients with urothelial cancer. *J. Urol.*, 2004; 171: 1461-1466
- [76] Olsburgh J., Harnden P., Weeks R., Smith B., Joyce A., Hall G., Poulosom R., Selby P., Southgate J.: Uroplakin gene expression in

normal human tissues and locally advanced bladder cancer. *J. Pathol.*, 2003; 199: 41-49

[77] Osman I., Kang M., Lee A., Deng F.M., Polsky D., Mikhail M., Chang C., David D.A., Mitra N., Wu X.R., Sun T.T., Bajorin D.F.: Detection of circulating cancer cells expressing uroplakins and epidermal growth factor receptor in bladder cancer patients. *Int. J. Cancer*, 2004; 111: 934-939

[78] Pak J., Pu Y., Zhang Z.T., Hasty D.L., Wu X.R.: Tamm-Horsfall protein binds to type 1 fimbriated *Escherichia coli* and prevents *E. coli* from binding to uroplakin Ia and Ib receptors. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 9924-9930

[79] Parker D.C., Folpe A.L., Bell J., Oliva E., Young R.H., Cohen C., Amin M.B.: Potential utility of uroplakin III, thrombomodulin, high molecular weight cytokeratin, and cytokeratin 20 in noninvasive, invasive, and metastatic urothelial (transitional cell) carcinomas. *Am. J. Surg. Pathol.*, 2003; 27: 1-10

[80] Riedel I., Liang F.X., Deng F.M., Tu L., Kreibich G., Wu X.R., Sun T.T., Hergt M., Moll R.: Urothelial umbrella cells of human ureter are heterogeneous with respect to their uroplakin composition: different degrees of urothelial maturity in ureter and bladder? *Eur. J. Cell Biol.*, 2005; 84: 393-405

[81] Roberts J.A., Marklund B.I., Ilver D., Haslam D., Kaack M.B., Baskin G., Louis M., Möllby R., Winberg J., Normark S.: The Gal(α 1-4) Gal-specific tip adhesin of *Escherichia coli* P-fimbriae is needed for pyelonephritis to occur in the normal urinary tract. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1994; 91: 11889-11893

[82] Romih R., Jezernik K., Mašera A.: Uroplakins and cytokeratins in the regenerating rat urothelium after sodium saccharin treatment. *Histochem. Cell Biol.*, 1998; 109: 263-269

[83] Romih R., Korošec P., de Mello W.Jr., Jezernik K.: Differentiation of epithelial cells in the urinary tract. *Cell Tissue Res.*, 2005; 320: 259-268

[84] Sakakibara K., Sato K., Yoshino K., Oshiro N., Hirahara S., Mahbub Hasan A.K., Iwasaki T., Ueda Y., Iwao Y., Yonezawa K., Fukami Y.: Molecular identification and characterization of *Xenopus* egg uroplakin III, an egg raft-associated transmembrane protein that is tyrosine-phosphorylated upon fertilization. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 15029-15037

[85] Sano T., Hamada S., Haitani T., Nakashima M., Kajita Y., Shichiri Y.: Lung metastasis of ta bladder cancer: a case report and literature review. *Korean J. Urol.*, 2013; 54: 271-273

[86] Schönfelder E.M., Knüppel T., Tasic V., Miljkovic P., Konrad M., Wühl E., Antignac C., Bakkaloglu A., Schaefer F., Weber S.: Mutations in Uroplakin IIIA are a rare cause of renal hypodysplasia in humans. *Am. J. Kidney Dis.*, 2006; 47: 1004-1012

[87] Scott J.E.: Fetal, perinatal, and infant death with congenital renal anomaly. *Arch. Dis. Child.*, 2002; 87: 114-117

[88] Smith S.C., Mohanty S.K., Kunju L.P., Chang E., Chung F., Carvalho J.C., Paner G.P., Hansel D.E., Luthringer D.J., de Peralta-Venturina M.N., Amin M.B.: Uroplakin II outperforms uroplakin III in diagnostically challenging settings. *Histopathology*, 2014; 65: 132-138

[89] Sokurenko E.V., Chesnokova V., Dykhuizen D.E., Ofek I., Wu X.R., Krogfelt K.A., Struve C., Schembri M.A., Hasty D.L.: Pathogenic adaptation of *Escherichia coli* by natural variation of the FimH adhesin. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998; 95: 8922-8926

[90] Sun T.T., Zhao H., Provet J., Aebi U., Wu X.R.: Formation of asymmetric unit membrane during urothelial differentiation. *Mol. Biol. Rep.*, 1996; 23: 3-11

[91] Taganna J., de Boer A.R., Wuhrer M., Bouckaert J.: Glycosylation changes as important factors for the susceptibility to urinary tract infection. *Biochem. Soc. Trans.*, 2011; 39: 349-354

[92] Thumbikat P., Berry R.E., Schaeffer A.J., Klumpp D.J.: Differentiation-induced uroplakin III expression promotes urothelial cell death in response to uropathogenic *E. coli*. *Microbes Infect.*, 2009; 11: 57-65

[93] Thumbikat P., Berry R.E., Zhou G., Billips B.K., Yaggie R.E., Zachuk T., Sun T.T., Schaeffer A.J., Klumpp D.J.: Bacteria-induced uroplakin signaling mediates bladder response to infection. *PLoS Pathog.*, 2009; 5: e1000415

[94] Truong L.D., Shen S.S.: Immunohistochemical diagnosis of renal neoplasms. *Arch. Pathol. Lab. Med.*, 2011; 135: 92-109

[95] Tu L., Kong X.P., Sun T.T., Kreibich G.: Integrity of all four transmembrane domains of the tetraspanin uroplakin Ib is required for its exit from the ER. *J. Cell Sci.*, 2006; 119: 5077-5086

[96] Varley C.L., Bacon E.J., Holder J.C., Southgate J.: FOXA1 and IRF-1 intermediary transcriptional regulators of PPAR γ -induced urothelial cytodifferentiation. *Cell Death Differ.*, 2009; 16: 103-114

[97] Veranic P., Romih R., Jezernik K.: What determines differentiation of urothelial umbrella cells? *Eur. J. Cell Biol.*, 2004; 83: 27-34

[98] Wang D., Wang Z., Tian J., He X., Chowdhury W.H., Zhang X., Li S., Rodriguez R.: Prostate stem cell antigen enhancer and uroplakin II promoter based bladder cancer targeted tissue-specific vector. *Urol. Oncol.*, 2010; 28: 164-169

[99] Wang H., Min G., Glockshuber R., Sun T.T., Kong X.P.: Uropathogenic *E. coli* adhesin-induced host cell receptor conformational changes: implications in transmembrane signaling transduction. *J. Mol. Biol.*, 2009; 392: 352-361

[100] Weber S.: Novel genetic aspects of congenital anomalies of kidney and urinary tract. *Curr. Opin. Pediatr.*, 2012; 24: 212-218

[101] Wellens A., Garofalo C., Nguyen H., Van Gerven N., Slättegård R., Hernalsteens J.P., Wyns L., Oscarson S., De Greve H., Hultgren S., Bouckaert J.: Intervening with urinary tract infections using anti-adhesives based on the crystal structure of the FimH-oligomannose-3 complex. *PLoS One*, 2008; 3: e2040

[102] Wroński S.: Śródmiąższowe zapalenie pęcherza moczowego. Etiologia, diagnostyka, leczenie. *Nowa Med.* 5/2000 <http://www.czytelniamedyczna.pl/1651.Srodmiaszczowe-zapalenie-pecherza-moczowego-etologia-diagnostyka-leczenie.html>

[103] Wu R.L., Osman I., Wu X.R., Lu M.L., Zhang Z.F., Liang F.X., Hamza R., Scher H., Cordon-Cardo C., Sun T.T.: Uroplakin II gene is expressed in transitional cell carcinoma but not in bilharzial bladder squamous cell carcinoma: alternative pathways of bladder epithelial differentiation and tumor formation. *Cancer Res.*, 1998; 58: 1291-1297

[104] Wu X., Kakehi Y., Zeng Y., Taoka R., Tsunemori H., Inui M.: Uroplakin II as a promising marker for molecular diagnosis of nodal metastases from bladder cancer: comparison with cytokeratin 20. *J. Urol.*, 2005; 174: 2138-2142

[105] Wu X.R., Kong X.P., Pellicer A., Kreibich G., Sun T.T.: Uroplakins in urothelial biology, function, and disease. *Kidney Int.*, 2009; 75: 1153-1165

[106] Wu X.R., Lin J.H., Walz T., Häner M., Yu J., Aebi U., Sun T.T.: Mammalian uroplakins. A group of highly conserved urothelial differentiation-related membrane proteins. *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 13716-13724

[107] Wu X.R., Manabe M., Yu J., Sun T.T.: Large scale purification and immunolocalization of bovine uroplakins I, II, and III. Molecular markers of urothelial differentiation. *J. Biol. Chem.*, 1990; 265: 19170-19179

[108] Wu X.R., Sun T.T.: Molecular cloning of a 47 kDa tissue-specific and differentiation-dependent urothelial cell surface glycoprotein. *J. Cell Sci.*, 1993; 106: 31-43

[109] Wu X.R., Sun T.T., Medina J.J.: *In vitro* binding of type 1-fimbriated *Escherichia coli* to uroplakins Ia and Ib: relation to urinary tract infections. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1996; 93: 9630-9635

[110] Xie B., Zhou G., Chan S.Y., Shapiro E., Kong X.P., Wu X.R., Sun T.T., Costello C.E.: Distinct glycan structures of uroplakins Ia and Ib:

structural basis for the selective binding of FimH adhesin to uroplakin Ia. *J. Biol. Chem.*, 2006; 281: 14644-14653

- [111] Yu W., Hill W.G.: Defining protein expression in the urothelium: a problem of more than transitional interest. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2011; 301: F932-F942
- [112] Yu Z., Mannik J., Soto A., Lin K.K., Andersen B.: The epidermal differentiation-associated Grainyhead gene *Get1/Grhl3* also regulates urothelial differentiation. *EMBO J.*, 2009; 28: 1890-1903
- [113] Yuasa T., Yoshiki T., Isono T., Tanaka T., Hayashida H., Okada Y.: Expression of transitional cell-specific genes, uroplakin Ia and II, in bladder cancer: detection of circulating cancer cells in the peripheral blood of metastatic patients. *Int. J. Urol.*, 1999; 6: 286-292
- [114] Yuasa T., Yoshiki T., Isono T., Tanaka T., Okada Y.: Molecular cloning and expression of uroplakins in transitional cell carcinoma. *Adv. Exp. Med. Biol.*, 2003; 539: 33-46
- [115] Zhou G., Liang F.X., Romih R., Wang Z., Liao Y., Ghiso J., Luque-Garcia J.L., Neubert T.A., Kreibich G., Alonso M.A., Schaeren-Wiemers N., Sun T.T.: MAL facilitates the incorporation of exocytic uroplakin-delivering vesicles into the apical membrane of urothelial umbrella cells. *Mol. Biol. Cell*, 2012; 23: 1354-1366
- [116] Zhou G., Mo W.J., Sebbel P., Min G., Neubert T.A., Glockshuber R., Wu X.R., Sun T.T., Kong X.P.: Uroplakin Ia is the urothelial receptor for uropathogenic *Escherichia coli*: evidence from in vitro FimH binding. *J. Cell Sci.*, 2001; 114: 4095-4103
- [117] Zhu H.J., Zhang Z.Q., Zeng X.F., Wei S.S., Zhang Z.W., Guo Y.L.: Cloning and analysis of human uroplakin II promoter and its application for gene therapy in bladder cancer. *Cancer Gene Ther.*, 2004; 11: 263-272
- [118] Zupančič D., Ovčak Z., Vidmar G., Romih R.: Altered expression of UPIa, UPIb, UPII, and UPIIIa during urothelial carcinogenesis induced by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)nitrosamine in rats. *Virchows Arch.*, 2011; 458: 603-613
- [119] Zupančič D., Romih R.: Heterogeneity of uroplakin localization in human normal urothelium, papilloma and papillary carcinoma. *Radiol. Oncol.*, 2013; 47: 338-345
- [120] Zupančič D., Zakrajšek M., Zhou G., Romih R.: Expression and localization of four uroplakins in urothelial preneoplastic lesions. *Histochem. Cell Biol.*, 2011; 136: 491-500

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.