

Received: 2011.07.01
Accepted: 2011.09.14
Published: 2011.10.27

Nerkowy katabolizm albuminy – aktualne poglądy i kontrowersje

Renal catabolism of albumin – current views and controversies

Jakub Gburek, Krzysztof Gołąb, Katarzyna Juszczyńska

Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej, Akademia Medyczna im. Piastów Śląskich we Wrocławiu

Streszczenie

Albumina jest głównym białkiem osocza krwi, chłonki, płynu mózgowo-rdzeniowego oraz śródmiąższowego. Białko to pełni w organizmie wiele ważnych funkcji, m.in. utrzymuje prawidłowe ciśnienie koloido-osmotyczne, transportuje ważne metabolity, czy działa antyoksydacyjnie. Synteza albuminy zachodzi głównie w wątrobie, a jej katabolizm odbywa się przeważnie w śródłonku naczyń mięśni, skóry i wątroby oraz w nabłonku kanalików nerkowych. Na nerkowy katabolizm albuminy składa się przesączanie kłębuszkowe oraz kanalikowa resorpcja zwrotna. Procesy kanalikowe obejmują endocytozę za pośrednictwem receptorów zmiatających - megaliny i kompleksu kubilina-amnionless. Możliwy dalszy katabolizm tego białka to: lizosomalna proteoliza do aminokwasów i krótkich peptydów, zawracanie produktów degradacji do krwiobiegu lub światła kanalika oraz transcytoza całych cząsteczek. Omówiono molekularne aspekty wyżej wymienionych procesów i przedstawiono kontrowersje wynikłe z badań ostatniej dekady.

Słowa kluczowe:

albumina • nerkowy katabolizm białek • kanalik proksymalny nerki • proteinuria • megalina • kubilina

Summary

Albumin is the main protein of blood plasma, lymph, cerebrospinal fluid and interstitial fluid. The protein assists in many important body functions, including maintenance of proper colloidal osmotic pressure, transport of important metabolites and antioxidant action. Synthesis of albumin takes place mainly in the liver, and its catabolism occurs mostly in vascular endothelium of muscle, skin and liver as well as in the kidney tubular epithelium. Renal catabolism of albumin consists of glomerular filtration and tubular reabsorption. The tubular processes include endocytosis via the multiligand scavenger receptor tandem megalin and cubilin-amnionless complex. Possible ways of further catabolism of this protein are lysosomal proteolysis to amino acids and short peptides, recycling of degradation products into the bloodstream and tubular lumen or transcytosis of whole molecules. The article discusses the molecular aspects of these processes and presents the controversies arising in the light of the last decade of research.

Key words:

albumin • renal catabolism of proteins • renal proximal tubule • proteinuria • megalin • cubilin



Full-text PDF: <http://www.phmd.pl/fulltxt.php?ICID=964329>**Word count:** 5012**Tables:** –**Figures:** 1**References:** 69**Adres autora:** dr hab. Jakub Gbuřek, Katedra i Zakład Biochemii Farmaceutycznej Akademii Medycznej, ul. Szewska 38/39, 50-139 Wrocław; e-mail: jakub.gbuřek@am.wroc.pl**Wykaz skrótów:** **AMN** – amnionless; **C** – ciałko transcytotyczne; **CLC-5** – kanał chlorkowy typu 5; **CUB** – kubilina; **CUBAM** – kompleks kubiliny z amnionless; **DAT** – pęcherzyki apikalne o dużej gęstości; **E** – endosom; **GSC** – współczynnik przepuszczalności kłębuszkowej; **HDL** – lipoproteiny o dużej gęstości; **IL-6** – interleukina 6; **K_d** – stała dysocjacji; **K_m** – stała Michaelisa; **L** – lizosom; **LDL** – lipoproteiny o małej gęstości; **MEG** – megalina; **NHE** – antyporter sodowo-protonowy; **RAP** – białko zasocjowane z receptorem; **RIAs** – metody radioimmunologiczne.

WPROWADZENIE

Albumina jest jednym z najwcześniej poznanych białek organizmu. Po raz pierwszy została opisana przez Denisa w 1840 roku. Jej nazwa wywodzi się od łacińskiego słowa *albus* (biały) ze względu na właściwość tworzenia białego precipitatu w środowisku kwaśnym. Białko to występuje bardzo powszechnie w organizmie m.in.: w osoczu, chłonce, płynie mózgowo-rdzeniowym oraz w płynie śródtkankowym i pełni wiele ważnych funkcji fizjologicznych. Albumina stanowi ponad 50% zawartości wszystkich białek osocza, a jej względnie duże stężenie (45 g/l; 0,6 mM) warunkuje około 80% ciśnienia koloido-osmotycznego osocza krwi. Jest ono odpowiedzialne za rozdział wody między osoczem, a resztą płynów pozakomórkowych ustroju, co zapewnia utrzymanie prawidłowej hemodynamiki krwi i zapobiega obrzękom. Równie ważna jest funkcja transportowa albuminy. Duża objętość dystrybucji związana z jej stosunkowo łatwym przenikaniem przez nabłonek naczyń kapilarnych sprawia, że ponad 60% całkowitej puli tego białka obecna jest w przestrzeni pozanaczyniowej. Tak duże przenikanie albuminy do płynów śródmiąższowych umożliwia jej kontakt z większością komórek organizmu, przez co jest ona idealnym nośnikiem drobnocząsteczkowych metabolitów. Do endogennych substancji transportowanych przez albuminę należą m.in.: długołańcuchowe kwasy tłuszczowe, aromatyczne kwasy karboksylowe, bilirubina, kwasy żółciowe, porfiryny, tlenek azotu oraz jony metali dwuwartościowych, w tym kationy Co, Cu, Ni, Zn. Jako białko wiążące kationy metali przejściowych uczestniczących w generacji wolnych rodników, takich jak Cu czy Fe, pełni także rolę antyoksydacyjną, a kompleksowanie jonów Cd, Hg i V jest ważne dla procesów detoksyfikacji. Ze względu na obecność wolnej grupy –SH Cys34 albumina *per se* jest przeciwutleniaczem i ważnym elementem bariery antyoksydacyjnej osocza. Warto również wspomnieć, że białko to stanowi podstawowy materiał zapasowy osocza i jest rozkładane w razie długotrwałego głodzenia i niedoboru niezbędnych aminokwasów. W stanie niedoboru białek synteza albuminy ulega 2,5-krotnemu przyspieszeniu, a jej zasoby obniżają się prawie o 50% [43,54].

Ze względu na tak ważne dla homeostazy funkcje albuminy bardzo istotne dla organizmu jest zachowanie jej prawidłowego stężenia w osoczu. Spadek stężenia albuminy

obserwuje się w wielu zaburzeniach metabolicznych o różnej etiologii. Może to być wynikiem niewłaściwej dystrybucji, np. przy wodobrzuszu; obniżonej syntezy na tle schorzeń wątroby, zaburzeń wchłaniania aminokwasów lub diety niskobiałkowej; utraty w przebiegu enteropatii, oparzeń, zabiegów chirurgicznych lub zespołu nerczycowym, a także przyspieszonego katabolizmu w stanach zapalnych i nowotworowych. Spadek stężenia albuminy objawia się wieloma poważnymi zaburzeniami, m.in. powstawaniem obrzęków, aktywacją czynników krzepnięcia, hipotransferynią, dyslipidemią HDL, triglicydemią, stresem oksydacyjnym oraz wieloma niedoborami metabolicznymi związanymi z jej funkcją transportową. Poza tym w stanach hipoalbuminemii spotęgowane jest działanie leków wiązanych przez albuminę na skutek wzrostu frakcji farmakologicznie czynnej. Hiperalbuminemia jest stanem rzadko spotykanym i może być wywołana znacznym odwodnieniem lub nadmiernym zastojem krwi żyłnej. Nadmierne stężenie albuminy w osoczu nie wiąże się jednak z poważniejszymi zaburzeniami [4,56].

Dożylne podanie preparatów albumin w stanach hipoalbuminemii powoduje szybkie, chwilowe wyrównanie deficytu tego białka. Dlatego preparaty albumin znalazły zastosowanie m.in. w terapii rozległych oparzeń, ostrej niewydolności oddechowej, ciężkiego zespołu hemolitycznego u noworodków oraz u pacjentów po zabiegach kardiologicznych [45,55]. Poza tym, ze względu na właściwość kumulacji albuminy w tkance guzów i miejscach objętych stanem zapalnym, trwają prace nad lekami opartymi na bazie koniugatów z albuminą. Badane są m.in. leki sprzęgane z egzo- lub endogenną albuminą, sieciowane w postaci mikro- i nanokapsulek albuminowych oraz fuzje genetyczne w przypadku leków polipeptydowych [37].

Katabolizm albuminy jest więc bardzo ważnym problemem badawczym z punktu widzenia patofizjologii, jak również medycyny interwencyjnej. Jednym z głównych organów zaangażowanych w ten proces jest nerka. Zaburzenia nerkowego katabolizmu albuminy mogą prowadzić nie tylko do powikłań związanych z hipoalbuminemią, ale także do rozwoju zespołu nefrotycznego w przebiegu albuminurii, a w dalszej konsekwencji do krańcowej niewydolności tego narządu. Z tego względu zagadnienie to jest przedmiotem intensywnej badań od wielu lat. Badania ostatniej dekady

znacząco przyczyniły się do zrozumienia molekularnych mechanizmów uczestniczących w tym procesie, jak i kontrowersji z nimi związanych. W opracowaniu przedstawione są wyniki najnowszych badań z tego zakresu.

OGÓLNOUSTROJOWY METABOLIZM ALBUMINY

Synteza

Albumina jest wytwarzana na polisomach szorstkiej siateczki endoplazmatycznej hepatocytów i wydzielana jako preprobiałko. W czasie przemieszczania się do gładkiej siateczki endoplazmatycznej usuwany jest peptyd sygnałowy. Dalsza obróbka następuje na szlaku wydzielniczym i polega na usunięciu heksapeptydu obecnego na N-końcu cząsteczki. Szybkość syntezy albuminy wynosi 10–15 g na dobę, co stanowi około 10% ogólnej syntezy białek w wątrobie. Niewielka ilość albuminy (około 2 g) jest magazynowana w wątrobie, zaś większość jest wydzielana do przestrzeni naczyniowych. Osoczowa pula tego białka stanowi 30–40% jego całkowitej ilości, a pozostała część znajduje się głównie w skórze i mięśniach. Około 5% albuminy przecieka do przestrzeni zewnątrzkomórkowej, skąd drogą limfatyczną powraca do krążenia ogólnego. Synteza albuminy jest procesem ciągłym. Odpowiednie bodźce regulują go na poziomie transkrypcji i inicjacji translacji. Synteza albuminy nasila się po spożyciu posiłku i maleje w okresach międzyposiłkowych. Także hormony wywierają wpływ na ten proces. Synteza albuminy rośnie w nadczynności tarczycy a maleje w niedoczynności. Kortykosteroidy i insulina nasilają wytwarzanie albuminy u osób zdrowych. Na proces syntezy tego białka hamująco wpływają cytokiny prozapalne np. IL-6. Obniżenie stężenia potasu w hepatocytach zmniejsza ilość albuminy uwalnianej do krążenia, ale nie wpływa hamująco na sam proces syntezy białka. Jednak dominujący wpływ na intensywność syntezy albuminy mają zmiany ciśnienia onkocytowego. Prawidłowe stężenie albumin jest utrzymywane także dzięki zrównoważonemu katabolizmowi występującemu we wszystkich tkankach [35].

Katabolizm

Okres półtrwania albuminy w osoczu wynosi 19 dni, a jej dzienny rozpad w organizmie człowieka nie przekracza 14 g. Katabolizm tego białka zachodzi głównie w mięśniach i skórze (około 40–60%), a dokładniej w komórkach śródbłonka naczyń tych tkanek. W świetle ostatnich badań uważa się, że molekularnym mechanizmem internalizacji i transportu albuminy do organelli degradacyjnych w tych komórkach jest endocytoza zależna od kaweoliny z udziałem drobnocząsteczkowych receptorów zmiatających gp18, gp30 i gp60 (albondyny) [6,61,62,64]. W mniejszym stopniu w procesie tym uczestniczy wątroba (około 15%), przy czym w wychwycie albuminy oprócz komórek śródbłonka naczyń uczestniczą także hepatocyty. Katabolizm albuminy w komórkach miększu zachodzi również poprzez struktury związane z kaweoliną [36,63]. Po internalizacji i fuzji kaweoli z lizosomami następuje proteolityczny rozkład albuminy. Cząsteczki rozkładane są do wolnych aminokwasów, które zasilają ogólnoustrojową pulę aminokwasów.

Katabolizm albuminy zachodzi również w nerkach (około 10%). Jednak molekularne mechanizmy biorące udział

w nerkowym obrocie albuminy są zasadniczo inne. Po filtracji kłębuszkowej białko jest internalizowane w kanalikach bliższych, za pośrednictwem endocytozy zależnej od klatryny, z udziałem tendemu wielkocząsteczkowych receptorów zmiatających megaliny i kubiliny, a cząsteczki albuminy ulegają lizosomalnej degradacji i/lub transcytozie. Zostanie to omówione szczegółowo w następnych rozdziałach.

NERKOWY KATABOLIZM ALBUMINY

Nerkowy katabolizm albuminy obejmuje proces filtracji w kłębuszkach nerkowych, wchłaniania w kanalikach bliższych oraz wewnątrzkomórkową degradację lub częściową transcytozę do krwiobiegu. Tylko niewielka ilość albuminy, do około 100 mg na dobę, jest wydzielana z moczem. W przypadku uszkodzenia bariery filtracyjnej lub dysfunkcji kanalików bliższych albumina pojawia się w moczu w stężeniach nawet do ponad 3 g na dobę [1].

Filtracja kłębuszkowa albuminy

O składzie przesączu pierwotnego decyduje przepuszczalność bariery kłębuszkowej, której miarą jest współczynnik przepuszczalności kłębuszkowej (glomerular sieving coefficient – GSC), czyli stosunek stężenia danej cząsteczki w przesączu pierwotnym do jej stężenia w osoczu. Stopień przesączania albuminy jest przedmiotem niegasnących kontrowersji, a wyznaczone w różnych modelach doświadczalnych wartości GSC różnią się nawet o trzy rzędy wielkości.

Z obliczeń teoretycznych wynika, że średnica porów tej bariery wynosi około 4 nm i ze względu na stosunkowo dużą zawartość glikozaminoglikanów jest ujemnie naładowana. Wobec tego filtracja cząsteczek o większej średnicy i/lub obdarzonych ujemnym ładunkiem wypadkowym powinna być utrudniona. Cząsteczka albuminy ma w przybliżeniu kształt elipsoidy o średnicy wielkiej i małej odpowiednio 14 nm i 3,8 nm, a jej wypadkowy ładunek wynosi -15 ($pI=4,5$). GSC dla cząsteczki o takiej charakterystyce powinien być stosunkowo niski i wahać się w granicach 5×10^{-4} – 7×10^{-4} [41,67]. Stężenie albuminy w osoczu wynosi około 45 g/l, stąd jej stężenie w przesączu pierwotnym powinno się wahać w granicach 22–32 mg/l [25]. Wartości te są zbliżone do danych pochodzących z niektórych badań z udziałem chorych lub zwierzęcych modeli doświadczalnych. W dużej zgodności z modelem teoretycznym są wyniki uzyskane techniką mikropunkcji wczesnych odcinków kanalika proksymalnego u szczurów zdrowych (6×10^{-4}) [39,67]. GSC albuminy obliczony na podstawie jej stężenia w moczu od chorych z zespołem Fanconiego charakteryzujących się maszyną albuminurią jest nieco niższy od dolnego zakresu wartości teoretycznych ($8,0 \times 10^{-5}$) [46]. Z kolei GSC obliczony na podstawie stężenia albuminy w moczu szczurów z farmakologicznie zahamowanym zwrotnym wchłanianiem kanalikowym nieco wyższy ($3,3 \times 10^{-4}$) [66]. Jeszcze wyższe wartości GSC uzyskuje się w badaniach na izolowanej nerce perfundowanej w temperaturze 8°C, gdzie aktywność kanalikowa jest całkowicie zahamowana w związku z brakiem płynności błony komórkowej (1×10^{-3}) [47]. Obserwowane rozbieżności można tłumaczyć ograniczeniami technicznymi stosowanych metod pomiarowych. Na przykład przy technice mikropunkcji zachodzi obawa, że pobrana próbka może być zanieczyszczona



osoczem z uszkodzonych w czasie projekcji pipety kapilar, a także może nie odzwierciedlać rzeczywistego przesącza z względu na bardzo szybkie wchłanianie białek już w pierwszym odcinku kanalika bliższego. W przypadku danych od pacjentów z zespołem Fanconiego nie można dokładnie ocenić stopnia uszkodzenia cewki bliższej i należy zakładać, że zwrotne wchłanianie białek nie jest zahamowane całkowicie. To samo dotyczy modeli z farmakologiczną inhibicją wchłaniania zwrotnego. Również dane pochodzące z doświadczeń z użyciem izolowanych organów są trudne do interpretacji ze względu na zupełnie inną hemodynamikę niż w warunkach *in vivo*. Mimo rozbieżności w wartościach GSC oznaczanych różnymi technikami przez wiele lat ogólnie przyjętym paradygmatem było, że przesączanie kłębuszkowe albuminy jest stosunkowo niewielkie i charakteryzuje się współczynnikiem GSC poniżej 1×10^{-3} .

W ostatnich latach duże kontrowersje wzbudziły wyniki uzyskane mało inwazyjną techniką mikroskopii dwufotonowej *in situ*. Oznaczony GSC był znacznie wyższy niż w poprzednich badaniach ($2-4 \times 10^{-2}$). Fluorescencyjnie znakowana albumina była podawana dożylnie szczurom odmiany *Nagase*, które charakteryzują się znaczną hipalbuminemią. U szczurów tych zarówno szybkość filtracji, jak i reabsorpcji egzogennej albuminy jest taka sama jak u powszechnie wykorzystywanych do badań szczurów *Sprague-Dawley*. GSC był wyznaczany przez porównanie intensywności fluorescencji osocza w kapilarach kłębuszkowych i przesącza pierwotnego w przestrzeni Bowmana. Podobne wartości uzyskiwano niezależnie od stężenia i sposobu podania znakowanej albuminy (bolus/wlew) [52,59]. Dane te są zgodne z wcześniejszymi badaniami na szczurach, u których wywołano białkomocz przez podanie aminonukleozydu puromycyny. Ksenobiotyk ten wywołał hipalbuminemię objawiającą się ponad 60% spadkiem stężenia osoczowej albuminy. W porównaniu do osobników zdrowych u szczurów narażonych na działanie puromycyny nie stwierdzono wychwytu zwrotnego albuminy w rąbku szczoteczkowym komórek kanalików proksymalnych, czego konsekwencją był wzrost wskaźnika nerkowego wydzielania albuminy do wartości powyżej 300 mg na dobę. Brak resorpcji zwrotnej był związany z gwałtownym obniżeniem ekspresji megaliny, ATP-azy i klatryny w apikalnym biegunie kanalika [49].

Autorzy badań uważają, że kłębuszkowa filtracja albuminy jest procesem bardzo wydajnym, który odbywa się przeważnie na zasadzie stacjonarnego konwekcyjnego przepływu aniżeli dyfuzji oraz że ograniczenia wynikające z wielkości cząsteczki albuminy i cech strukturalnych bariery kłębuszkowej nie są tak duże jak przypuszczano. W konsekwencji sugerują, że u podłoża albuminurii leżą wyłącznie zaburzenia procesów wchłaniania zwrotnego albuminy, a nie jak wcześniej sądzono uszkodzenie bariery kłębuszka [15,16,17].

Selektywności bariery kłębuszkowej związanej z ładunkiem rzeczywiście nie obserwowano w niektórych wcześniejszych badaniach [33,60]. Zwiększona filtracja mogłaby być również związana ze swobodnym przesączaniem albuminy przez duże pory o średnicy 75–110 Å, których obecność w barierze kłębuszka sugerują wyniki badań Ohlson i wsp. [47] nad filtracją białek w izolowanej perfundowanej nerce. Występowanie takich porów *in vivo* potwierdzają

badania chorych z zespołem Fanconiego, u których stwierdza się znaczące ilości większych białek, takich jak transferyna czy IgG w moczu [46]. Jednak wyniki Russo i wsp. [59] spotkały się w środowisku naukowym z dużym niedowierzaniem. Gekle [26] zwraca uwagę, że o ile technika mikroskopii dwufotonowej może być z powodzeniem zastosowana do oceny przesączania związków drobnocząsteczkowych, to w przypadku albuminy mogła prowadzić do obserwacji artefaktów. Przy tak dużej różnicy stężeń znakowanej albuminy w osoczu i świetle kanalika sygnał fluorescencji pochodzący z przesącza mógł być znacznie podwyższony przez szumy tła. Ponadto podkreśla on, że system reabsorpcji kanalika bliższego prawdopodobnie nie jest wystarczająco wydajny, aby przetransportować tak dużą ilość albuminy. Z kolei de Borst [21] zauważa, że przedstawione wyniki nie uprawniają do podjęcia tak jednoznacznej konkluzji i sugeruje, że obserwowany efekt mógł być wywołany przez bezpośrednie toksyczne działanie dużych ilości albuminy na komórki nabłonkowe kanalika proksymalnego. Natomiast Remuzzi i wsp. [57] w komentarzu zamieścili niepublikowane wcześniej wyniki mikropunkcji na szczurach *Munich-Wistar*, które są zgodne z wcześniejszymi oznaczanymi wartościami GSC. U szczurów tych część kłębuszków znajduje się na powierzchni nerki, co umożliwia pobranie ultrapresącza wprost z torebki Bowmana, przez co wyklucza się efekt reabsorpcji w pierwszym odcinku kanalika. Tak masowy wychwyt nie potwierdza również niedawne doświadczenia na myszach z nokautem genu megaliny i/lub kubiliny – receptorów odpowiedzialnych za zwrotne wchłanianie albuminy. Wydalanie albuminy było zwiększone u myszy z nokautem genu megaliny ($1,5 \pm 0,7$ mg/24 h) w porównaniu z myszami typu dzikiego ($0,2 \pm 0,1$ mg/24 h). Jednak wzrost ten jest zbyt mały, aby mógł tłumaczyć filtrację tak znacznych ilości albuminy. GSC obliczony w oparciu o GFR i stężenie albuminy w moczu myszy z zahamowaną ekspresją megaliny wynosiłby $1,6 \times 10^{-4}$ – $1,1 \times 10^{-4}$, co jest zbliżone z wcześniej opublikowanymi wartościami [3,10].

Wchłanianie zwrotne albuminy

Miejsce wchłaniania zwrotnego albuminy nie budzi wątpliwości. Badania prowadzone od początku lat 60 ub.w. z wykorzystaniem wielu technik mikroskopowych nieodmiennie wskazują, że proces ten zachodzi w cewce bliższej. Za pomocą mikropunkcji *in vivo* ustalono, że wychwyt albuminy odbywa się w zbliżonej ilości w początkowej i końcowej części kanalika krętego, a także częściowo w kanaliku prostym części zstępującej. W innych odcinkach nefronu nie stwierdza się istotnej resorpcji albuminy. Mechanizm wychwytu albuminy pozostawał jednak przez długi czas niewyjaśniony. Cewka bliższa wyścielona jest nabłonkiem sześciennym zwartym. Stąd międzykomórkowe przenikanie albuminy przez nabłonek do krwiobiegu wydawało się od początku mało prawdopodobne. Utrudniałoby to również jej stosunkowo duży rozmiar i małe stężenie w przesącza [11,41,67]. Ogólnej kinetycznej charakterystyki procesu wchłaniania albuminy dostarczyły pionierskie badania Parka i Macka [53] z użyciem izolowanych perfundowanych kanalików nerkowych. Wskazywały one na obecność dwóch systemów wychwytu: jednego charakteryzującego się stałą Michaelisa (K_m) 0,03 mg/ml i pojemnością wiążącą (B_{max}) 0,1–0,2 mg/ml oraz drugiego o K_m 1,2 mg/ml i B_{max} 10 mg/ml.

Badania nad procesem endocytozy w fazie płynnej (pinocytozy) w komórkach nabłonkowych kanalika proksymalnego wykazały, że zachodzi on ze zbyt małą wydajnością, aby mógł tłumaczyć efektywny wychwyt albuminy. Wchłanianie tego białka odbywa się prawie 40-krotnie szybciej niż związków resorbowanych w procesie pinocytozy, takich jak dekstran czy inulina [29].

Doświadczenia przeprowadzone w latach 90 ub.w. wykazały, że wychwyt albuminy jest w dużej mierze procesem swoistym. Wiązanie znakowanej albuminy może być niemal całkowicie zahamowane przez nadmiar cząsteczek nieznakowanych. Ponadto nieznakowana albumina wzmaga dysocjację znakowanych cząsteczek z błony komórek nabłonkowych kanalika proksymalnego. Charakteryzuje je stała dysocjacji K_d w granicach $100\text{--}300 \times 10^{-9}$ M (7–20 mg/l). Kinetyka wiązania albuminy wskazuje na obecność przynajmniej jednego miejsca wiązającego. Taka charakterystyka sugerowała, że główną rolę w reabsorpcji albuminy odgrywa adsorpcyjna endocytoza. Potwierdzono, że farmakologicznie zahamowanie tego procesu u szczurów przez alkalizację endosomów NH_4Cl lub bafilomycyną A1 powoduje zwiększone wydalanie albuminy z moczem [31,32].

Ponadto w badaniach na komórkach OK wykazano, że endocytoza albuminy zależy od integralności cytoszkieletu. Zahamowanie polimeryzacji aktyny cytochalazyną D powoduje niemal całkowity zanik wchłaniania albuminy. Proces endocytozy albuminy przyspiesza również oddziaływanie z mikrotubulami. W wyniku rozerwania mikrotubul na skutek działania nocodazolu zaobserwowano wyraźny spadek wchłaniania albuminy, ale proces ten nie ustaje całkowicie. Wydaje się, że w początkowej fazie procesu endocytozy ruch pęcherzyków z błony komórkowej do przedziału endosomalnego zależy od ciągłości szkieletu aktynowego, a w późniejszej fazie dochodzi do interakcji z mikrotubulami. W badaniach tych wykazano jednocześnie, że dominującym mechanizmem pobierania cząsteczek jest endocytoza zależna od klatryny [28,65]. Endocytoza zależna od kaweoliny nie występuje w komórkach nabłonkowych kanalika proksymalnego ze względu na brak ekspresji tego białka [23,69].

Dopiero badania ostatniej dekady w pełni wyjaśniły molekularny mechanizm wychwytu albuminy w kanaliku proksymalnym. Okazuje się, że do efektywnego wychwytu tego białka w kanaliku proksymalnym niezbędne jest oddziaływanie kubiliny z białkiem amnioless (AMN). Ze względu na ścisłą asocjację i zależność funkcjonalną tego kompleksu określa się go mianem CUBAM.

Kubilina

Kubilina została zidentyfikowana jako receptor albuminy przez Birna i wsp. [5]. Autorzy wyizolowali kubilinę z błon rąbka szczoteczki nerki szczura za pomocą chromatografii powinowactwa na złożu z immobilizowaną albuminą. Wyznaczyli również stałą dysocjacji kompleksu techniką powierzchniowego rezonansu plazmonowego ($K_d=0,63 \mu\text{M}$) oraz wykazali, że psy chowu wsobnego z funkcjonalnym defektem kubiliny i myszy z zahamowaną ekspresją megaliny wydalają z moczem znaczne ilości albuminy. Wskazywało to jednocześnie na współdziałanie obu receptorów w endocytozie albuminy.

Kubilina jest zewnątrz błonową glikoproteiną o masie cząsteczkowej około 460 kDa. Początkowo zidentyfikowano ją jako antygen teratogennych przeciwciał powstających u królików po wstrzyknięciu preparatu rąbka szczoteczki nerki. Pierwotnie nazywana glikoproteiną 280 (gp 280) zlokalizowana została w kanalikach proksymalnych nerek i nabłonku woreczka żółciowego. Jej ekspresję stwierdzono także w jelicie krętym, macicy oraz łożysku. Początkowo nie znano ligandów dla tej proteiny. Dopiero w późniejszych badaniach stwierdzono, że cząsteczka kubiliny jest identyczna z receptorem kompleksu czynnika wewnętrznego z witaminą B_{12} (IF- B_{12}) występującego w jelicie cienkim i przypisano jej funkcję białka receptorowego. Ludzki gen kubiliny zlokalizowano na chromosomie 10p12.33-p13. Białko to jest zbudowane ze 110-aminokwasowego N-końca, po którym występuje 8 domen podobnych do EGF i 27 domen podobnych do białek dopełniacza jeżówki morskiej i białek morfogenezy szpiku (complement C1r/C1 uegf, and bone morphogenic protein-1 – CUB). Kubilina nie zawiera domeny transbłonowej. N-końiec odpowiada za zakotwiczenie białka w błonie. Każda domena CUB składa się ze 110 reszt aminokwasowych. Na strukturę domen CUB składają się dwie warstwy pięciu przeciwległych płaszczyzn β połączonych także przez struktury β . Stanowią one najbardziej konserwatywny obszar cząsteczki i prawdopodobnie są odpowiedzialne za wiązanie ligandów [9,13,14]. Kubilina nie jest w pełni samodzielnym receptorem endocytarnym. Do jej prawidłowego błonowego umiejscowienia i stabilności niezbędne jest oddziaływanie z białkiem AMN [2,18]. Dodatkowo białko to jest odpowiedzialne za internalizację kubiliny. Niedawno wykazano, że sekwencja FXNPXF w domenie cytoplazmatycznej jest funkcjonalnie aktywna i pośredniczy w sekwestracji kompleksu poprzez oddziaływanie z białkami adaptorowymi Dab2 (disabled protein-2) i ARH (autosomal recessive cholesterolemia protein). Internalizacja CUBAM może również zachodzić poprzez asocjację z megaliną [48]. Główną rolę CUBAM w kanalikowym wychwyte albuminy potwierdziły niedawne badania na myszach z nerkowo-swoistym nokautem kubiliny i megaliny, u których obserwuje się masywną albuminurię. Badania te jednocześnie sugerują, że udział megaliny w wiązaniu albuminy może być nieznaczny. Intensywność albuminurii u myszy z podwójnym i pojedynczym nokautem była na tym samym poziomie [3].

Megalina

Megalina została zidentyfikowana jako receptor albuminy przez Cui i wsp. [19]. Badania przeprowadzono *in vivo* nastrzykując kanaliki proksymalne szczurów roztworami albuminy znakowanymi koloidalnym złotem lub izotopem jodu ^{125}I . W trakcie doświadczenia określano wpływ wielu substancji na kanalikowy wychwyt tych białek. Podanie EDTA, RAP, cytochromu c osłabiało, a gentamycyny całkowicie hamowało kanalikową reabsorpcję znakowanej albuminy. Wymienione ligandy charakteryzują duże powinowactwo do megaliny, a ich obecność skutecznie utrudnia wiązanie albuminy przez ten receptor. Wskazywało to, że megalina jest mediatorem kanalikowej reabsorpcji tego białka. Wnioski te potwierdzono w badaniach z użyciem chromatografii powinowactwa na kolumnie ze złożem sprzęgniętym z megaliną.



Megalina została pierwotnie odkryta jako antygen w zapaleniu nerek typu Heymanna i nazwana glikoproteiną 330 (gp 330). W 1994 r. po udanej próbie klonowania poznano bliżej jej strukturę i zmieniono nazwę na obojętną. Ludzki gen megaliny zlokalizowano na chromosomie 2q24-q31. Megalina jest dużą transbłonową proteiną należącą do rodziny receptorów lipoprotein o niskiej gęstości (LDL). Białko to ma masę cząsteczkową 600 kDa i jest zbudowane z około 4600 reszt aminokwasowych. Cząsteczka megaliny zawiera dużą N-końcową, zewnątrzkomórkową domenę, pojedynczą transbłonową domenę i krótki C-końcowy fragment cytoplazmatyczny. Zewnątrzkomórkowa domena ma cztery obszary bogate w cysteinę i jest odpowiedzialna za wiązanie ligandów. Kilka powtórzeń sekwencji podobnej do naskórkowego czynnika wzrostu (EGF) oraz fragment ubogi w cysteinę zawierający motyw YWDT oddzielają region wiążący ligandy od części zakotwiczonej. Motyw YWDT odpowiada za dysocjację receptora od liganda w kwaśnym środowisku endosomu. Część cytoplazmatyczna zawiera trzy motywy NPXY, które inicjują proces endocytozy przez załączanie receptorów w opłaszczonych dołkach i pośredniczenie w wiązaniu białek adaptorowych. W kanalikach proksymalnych megalina znajduje się w błonie apikalnej oraz opłaszczonych klatryną pęcherzykach endocytarnych. Poza kanalem proksymalnym nerki megalina występuje także w wielu innych komórkach pochodzenia nabłonkowego, m.in. w podocytach kłębuszków nerkowych, śpicie naczyńkowym, komórkach najądrza, tarczycy i przytarczyc, w nabłonku ucha środkowego, nabłonku migawkowego oka oraz łożysku.

Megalina ma zdolność wiązania wielu białek, oprócz albuminy jej ligandami są: lipoproteiny (B, E, H J), białka transportujące witaminy (A, D, B₁₂), hormony (angiotensyna II, nabłonkowy czynnik wzrostu), enzymy i ich inhibitory (lizozym, plazminogen) i inne. Tworzy z nimi kompleksy, które następnie ulegają internalizacji z utworzeniem endosomów wczesnych. Po zakwaszeniu środowiska endosomów dochodzi do dysocjacji kompleksu i wolny receptor jest zwracany na powierzchnię komórki z udziałem apikalnych pęcherzyków o dużej gęstości [9,13,14,20].

Wewnątrzkomórkowy transport i degradacja albumin

Transport do lizosomów i degradacja

Wewnątrzkomórkowy przepływ albuminy przebiega za pośrednictwem transportu pęcherzykowego. Już z wczesnych doświadczeń wiadomo było, że sortowanie albuminy, receptorów i samych pęcherzyków ma ścisły związek z zakwaszaniem ich środowiska. Alkalinizacja pęcherzyków bafilomycyną A1 lub roztworem NH₄Cl już w niskim stężeniu prowadziła do gwałtownego obniżenia wchłaniania albuminy. Zwolniony był jednocześnie rozkład albuminy w lizosomach i powrót receptorów do błony komórkowej [29,31,44].

W wyniku zakwaszania światła pęcherzyków następuje początkowo dysocjacja płaszcza klatrynowego i utworzenie wczesnych endosomów. Dalsze zakwaszanie powoduje dysocjację kompleksów albuminy z megaliną i kubiliną oraz pączkowanie pęcherzyków apikalnych o dużej gęstości

(dense apical tubules – DAT), które zwracają receptory na powierzchnię komórki. Dysocjacja kompleksów następuje już poniżej pH=6,5 [19,20,41].

W ostatnich latach zidentyfikowano transportery zaangażowane w zakwaszanie pęcherzyków endocytotycznych. W procesie przenoszenia protonów do wnętrza endosomu zaangażowana jest V-ATP-aza zlokalizowana w błonie tego organelum [42]. Jednocześnie w celu wyrównywania potencjału błony endosomalnej niezbędne jest wprowadzenie jonów ujemnych. W komórkach kanalików proksymalnych kanały chlorkowe typu CLC-5 odgrywają istotną rolę w transporcie jonu przeciwnego. Wykazano, że CLC-5 jest związana z endosomami zawierającymi albuminę, a nie występuje w endosomach zawierających dekstran, mimo iż w obu typach endosomów jest obecna V-ATP-aza. Obniżenie ekspresji CLC-5 hamuje endocytozę albuminy w kanaliku proksymalnym, ale nie wpływa na pierwszą fazę endocytozy dekstranu. Badania przeprowadzone na myszach z nokautem genu CLC-5 potwierdziły jego znaczenie w recyrkulacji megaliny i kubiliny. Udział CLC-5 w procesie endocytozy jest również przedmiotem zainteresowania w odniesieniu do dziedzicznych chorób nerek. Choroba Denta, w której jednym z pierwszych objawów jest proteinuria spowodowana jest mutacją genu kodującego CLC-5 [12,40].

W proces zakwaszania środowiska pęcherzyków endosomalnych zaangażowane są także antyportery Na⁺/H⁺ (sodium/proton exchangers – NHEs), które usuwają z wnętrza komórki jony H⁺ z jednoczesnym pobieraniem jonów Na⁺. Są to białka transportujące występujące w błonie plazmatycznej wielu komórek, a ich zadaniem jest utrzymywanie prawidłowego pH wewnątrz komórki. Białka te składają się z dwóch funkcjonalnych domen, hydrofobowej zawierającej kilka transbłonowych sekwencji oraz hydrofilowej odpowiadającej za regulację ich aktywności transportowej. Białko NHE-3 ulega ekspresji w komórkach nabłonka jelita oraz w kanalikach proksymalnych nerek, zawsze po stronie apikalnej i jest zdolne do krążenia pomiędzy błoną komórkową, a wczesnym przedziałem endosomalnym, przyczyniając się do zakwaszania zawartości pęcherzyków. Internalizacja białka NHE-3 zachodzi z udziałem pęcherzyków klatrynowych [27]. Prawdopodobnie NHE-3 uczestniczy w absorpcji jonów Na⁺ w tych komórkach. W procesie endocytozy cząsteczek albuminy główną rolę odgrywają endosomalne NHE-3. Stężenie jonów Na⁺ we wczesnych pęcherzykach endocytotycznych jest porównywalne ze stężeniem zewnątrzkomórkowym, ponieważ skład tych pęcherzyków jest zbliżony do tego środowiska. Inhibitory NHE-3 powodują zaburzenia w procesie zakwaszania wczesnych pęcherzyków, co znacznie opóźnia proces endocytozy albuminy. Częściowo te zaburzenia tłumaczy się spowolnionym powrotem receptorów do błony komórkowej na skutek zaburzeń w procesie ich dysocjacji. Innym powodem może być zakłócenie formowania się i fuzji pęcherzyków transportujących poprzez alkalinizację. Dodatkowo stwierdzono, że NHE-3 odpowiada tylko za obniżanie pH wyłącznie w bardzo wczesnej fazie endocytozy. Jego farmakologiczna inhibicja prowadzi do znacznego obniżenia wydajności tego procesu [38].

Istnieje kilka mechanizmów regulacji procesu endocytozy. Jednak w przypadku resorpcji albuminy są słabo poznane.

Jony wapniowe nie oddziałują bezpośrednio na regulację tego procesu. Zmiana cytoplazmatycznego stężenia jonów Ca^{2+} tylko nieznacznie wpływa na wychwyt albuminy. Jednak całkowite usunięcie ich z przestrzeni pozakomórkowej powoduje wyraźne obniżenie zdolności wychwytu białka (K_m wzrasta z $0,1 \times 10^{-6}$ do $2,5 \times 10^{-6}$ M), bez wpływu na maksymalną szybkość wchłaniania. Obecność jonów wapniowych prawdopodobnie warunkuje efektywność pierwszego etapu endocytozy, mianowicie wiązanie ligandów przez receptory [30].

Wiadomo, że stymulacja kinazy białkowej A (PKA) przez cAMP, forskalinę lub parathormon prowadzi do obniżenia całkowitej zdolności wychwytu zwróconego albuminy, jednak nie zmienia powinowactwa białka do receptora. Sytuacja ta jest związana z alkalizacją wczesnych endosomów zależną od obecności cAMP. Znany jest także wpływ kinazy 3 fosfatydyloinozytolu (PI-3K) na endocytozę albuminy. Zahamowanie jej aktywności przez użycie wortmaniny znacząco osłabia wydajność tego procesu. Działanie kinazy 3 fosfatydyloinozytolu jest związane z fazą internalizacji ligandów. W kaskadzie sygnałowej związanej z internalizacją albuminy uczestniczą również białka G. Wychwyt albuminy jest zwiększony w komórkach epitelialnych nerki oposów (oposum kidney cells – OK) transfekowanych genem podjednostki $G_{\alpha i-3}$. Efekt ten był znoszony przez toksynę krztuśca wraz ze wzrostem stężenia i czasu inkubacji. Rola białek G jest prawdopodobnie związana z regulacją procesów transportu pęcherzykowego [7,8].

Lizosomalna degradacja

Lizosomalna hydroliza białek odbywa się z udziałem zestawu proteaz lizosomalnych określanych wspólnym mianem katepsyn. Największą rolę w degradacji białek przypisuje się katepsynom B, H i L. Hydrolazy te są transportowane w postaci proenzymów do wczesnych pęcherzyków endocytarnych z udziałem receptora mannozo-6-fosforanu i ulegają aktywacji wraz z ich dojrzewaniem. Częściowa hydroliza białek zachodzi już w endosomach, jednak masowna degradacja dopiero w lizosomach. Z badań immunocytochemicznych wynika, że w komórkach nabłonkowych kanalika proksymalnego można wyróżnić pod względem składu katepsyn, co najmniej kilka różnych populacji endosomów i lizosomów [48]. Najnowsze badania wskazują, że fuzja endosomów zawierających albuminę z lizosomami jest procesem zależnym od błonowych receptorów tych organelli. U myszy z nokautem lizosomalnego białka SCARB2/Limp-2, należącego do rodziny receptorów zmiatających klasy B, dochodzi do proteinurii, mimo prawidłowej ekspresji i internalizacji receptorów albuminy. U myszy tych stwierdzono, że znakowana fluorescencyjnie albumina po podaniu dożylnym jest efektywnie wchłaniana, lecz nie kolokalizuje z lizosomalną katepsyną B i nie ulega degradacji [22].

Wiele danych doświadczalnych przemawia za tym, że białka – w tym albumina – ulega w lizosomach całkowitej degradacji do wolnych aminokwasów, które następnie są transportowane przez błonę lizosomalną i bazolateralną do krwiobiegu. W eksperymentach z zastosowaniem izolowanych, perfundowanych kanalików proksymalnych królika oraz użyciem znakowanych izotopem jodu ^{125}I białek prawie cała radioaktywność perfuzatu związana jest

z katabolitem ^{125}I -monotyrozyną. Podobne wyniki otrzymuje się również mierząc wypływ radioaktywności ze skrawków nerki perfundowanych radioaktywnie znakowanymi preparatami białek [41,53].

Wyniki badań nie są jednak jednoznaczne. Niektórzy autorzy sugerują, że lizosomalna degradacja albuminy nie jest kompletna, a jej produkty to w dużej mierze łańcuchy polipeptydowe różnej długości, które są zwracane do światła kanalika i wydalane z moczem. Osicka i wsp. [50,51] wykazali, że po dożylnym podaniu 3H-albuminy szczurom w moczu stwierdza się znaczne ilości peptydów pochodzących ze zdegradowanej albuminy. Nie określili oni jednak w swoich badaniach wielkości obserwowanych fragmentów.

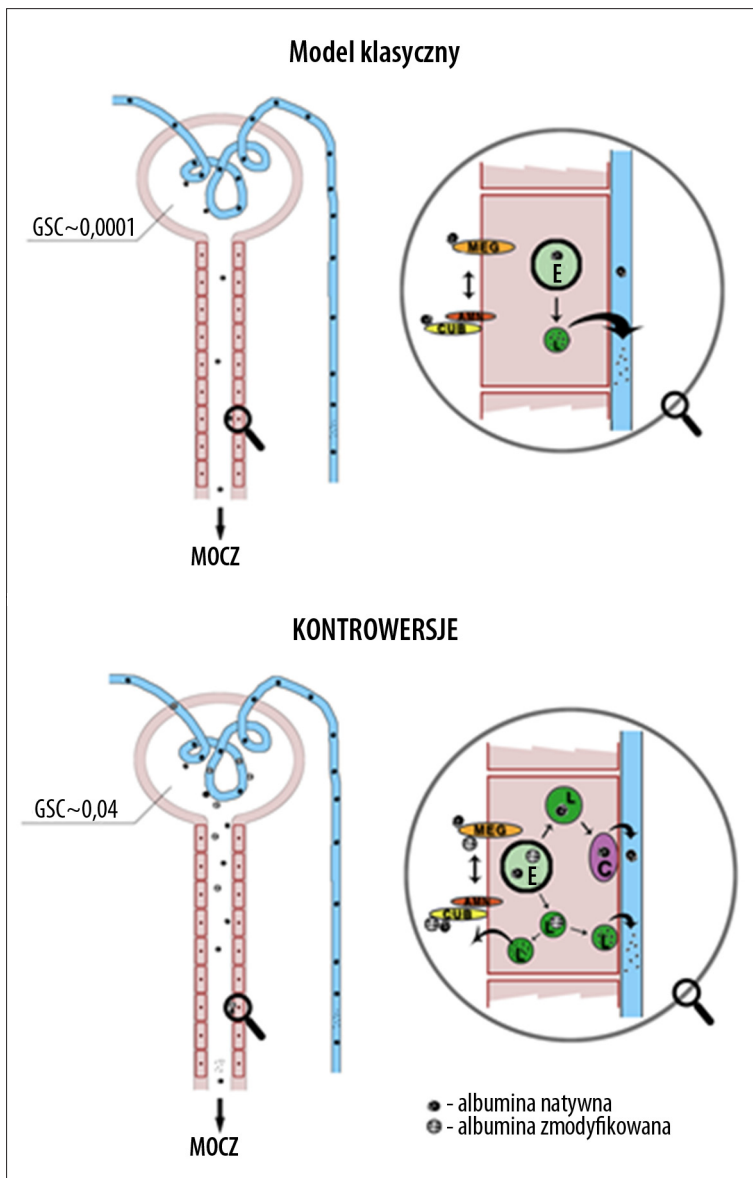
Podobne wyniki otrzymali Gudethithlu i wsp. [34] podając dożylnie szczurom znakowaną ^{125}I -albuminę. Białka moczu precypitowano kwasem trichlorooctowym i podano filtracji żelowej na złożu umożliwiającej oznaczenie zarówno fragmentów, jak i całych cząsteczek albuminy. W moczu stwierdzono niewielkie ilości natywnej albuminy (2%) oraz znaczne ilości fragmentów tego białka (98%) o masach cząsteczkowych 5–14 kDa. Wyniki te potwierdzały również doświadczenia *in vitro* na komórkach ludzkich kanalika proksymalnego HK-2 oraz z użyciem nerki szczura perfundowanej *ex vivo*. Ilość wydalanej albuminy w postaci całych cząsteczek i polipeptydów była prawie 70 razy wyższa od wartości dotychczas oznaczanych. Drobnocząsteczkowe fragmenty albuminy w moczu stwierdzono także w badaniach na szczurach z cukrzycą wywołaną przez podanie streptozocyny [58].

Rozbieżności te mogą być związane z użyciem w poprzednich badaniach metod radioimmunologicznych, które nie wykrywają fragmentów polipeptydowych pozbawionych swoistych dla użytych przeciwciał epitopów, co mogło się zdarzyć w przypadku produktów degradacji albuminy. Warto zwrócić uwagę, że takie ilości wydalanej z moczem albuminy odpowiadałyby ilościom filtrowanej albuminy przy założeniu stosunkowo dużego GSC, jak omówiono wyżej.

Transcytoza

Udział transcytozy jako alternatywnej drogi kierowania internalizowanej albuminy niedawno zaproponowali Russo i wsp. [59]. W swoich badaniach z użyciem mikroskopii elektronowej oraz albuminy znakowanej złotem koloidalnym autorzy zaobserwowali obecność albuminy nie tylko w lizosomach, ale także w dużych pęcherzykach o średnicy około 500 nm. Struktury te występowały wewnątrz całej komórki i często ulegały fuzji z wgłębieniami błony bazolateralnej uwalniając swoją zawartość do sieci okołokanalikowych naczyń włosowatych. Integralność cząsteczek stwierdzono za pomocą przeciwciał skierowanych przeciwko różnym fragmentom albuminy. Autorzy sugerują współistnienie dwóch mechanizmów wewnątrzkomórkowego sortowania albuminy w zależności od integralności cząsteczek. Prawidłowe cząsteczki białka powracają do krążenia poprzez szybki i wydajny proces transcytozy, natomiast niewielka część molekuł wykazujących zmiany strukturalne zostaje przetransportowana do lizosomów, gdzie zgodnie z klasycznym modelem są rozkładane do reszt aminokwasowych i w takiej postaci wracają do obrotu [17,59].





Ryc. 1. Nerkowy katabolizm albuminy – model klasyczny i kontrowersje. Ogólnie przyjęty model zakłada stosunkowo niski poziom filtracji kłębuszkowej albuminy ze względu na jej stosunkowo duży rozmiar i niski punkt izoelektryczny, wydajne wchłanianie zwrotne w procesie endocytozy z udziałem receptorów białkowych megaliny i kompleksu kubilina-amnionless, transport pęcherzykowy do lizosomów i hydrolizę do pojedynczych reszt aminokwasowych. W modelu tym tylko znikoma ilość albuminy zostaje wydalona z moczem, a produkty degradacji w większości powracają do krążenia.

Kontrowersje dotyczą zarówno ilościowego, jak i jakościowego przebiegu tego procesu. Nowe badania wskazują m.in., że przesączanie albuminy może zachodzić ze współczynnikiem przepuszczalności kłębuszkowej 0,04. W proponowanym modelu cząsteczki natywne ulegają głównie transcytozie, natomiast cząsteczki strukturalnie zmienione podążają drogą klasyczną, przy czym lizosomalna degradacja zachodzi w ograniczonym stopniu. Większość produktów degradacji to krótkie polipeptydy, które są wydzielane do światła kanalika; CUB – kubilina; AMN – amnionless; MEG – megalina; E – endosom; L – lizosom; C – ciało transcytotyczne; GSC – współczynnik przepuszczalności kłębuszkowej

Przedstawiony przez Russo i wsp. model zwrotnego wchłaniania albuminy wzbudził liczne kontrowersje. Przeciwnicy tej teorii, uwzględniając wieloletnie badania mikroskopowe komórek kanalika proksymalnego, podważają istnienie tego typu pęcherzyków i możliwość ich fuzji z błoną bazolateralną. Sugerują oni, że obserwowane struktury są wynikiem artefaktów związanych z utwaleniem tkanek przez imersję. Dotychczas używano metod perfuzji, uznanych za optymalne [10,26].

PODSUMOWANIE

Nerka jest odpowiedzialna za około 10% katabolizowanej dziennie puli albuminy. Frakcja ta jest znacząca dla homeostazy, a zaburzenia funkcji nerek, wywołujące początkowo ogólne powikłania związane z niedoborem albuminy, w konsekwencji mogą prowadzić do skrajnej niewydolności tego narządu. Nerkowy katabolizm białek obejmuje filtrację w kłębuszkach nerkowych, procesy adsorpcji i endocytozy w cewkach bliższych oraz wewnątrzkomórkową hydrolizę lub transcytozę wchłoniętych cząsteczek.

Ogólnie przyjęty model zakłada stosunkowo niski poziom filtracji kłębuszkowej albuminy ze względu na jej stosunkowo duży rozmiar i niski punkt izoelektryczny, wydajne wchłanianie zwrotne w procesie endocytozy z udziałem receptorów białkowych megaliny i kubiliny, transport pęcherzykowy do lizosomów i hydrolizę do pojedynczych reszt aminokwasowych. W modelu tym tylko znikoma ilość albuminy zostaje wydalona z moczem, a produkty degradacji w większości powracają do krążenia.

Badania ostatniej dekady przyniosły wiele nieoczekiwanych obserwacji, które mogą diametralnie zmienić poglądy na temat nerkowego katabolizmu albuminy. Wyłaniają się z nich alternatywne mechanizmy, które rzutują zarówno na ilościowy, jak i jakościowy obraz tego procesu. Nowe badania wskazują innymi, że przesączanie albuminy może zachodzić z 50-krotnie większą wydajnością niż wynikało to z dotychczasowych badań. Proponowana wartość współczynnika przepuszczalności (GSC) wynosiłaby wówczas 0,04, a nie jak wcześniej sądzono poniżej 0,001. Kolejne kontrowersje dotyczą stopnia lizosomalnej

degradacji albuminy i kierunku wydalania metabolitów. Niektóre obserwacje przemawiają za tezą, że w wyniku lizosomalnej proteolizy albuminy powstają głównie polipeptydy o masie cząsteczkowej 5–14 kDa, które są w dużej mierze zawracane do światła kanalika i wydalane z moczem.

Zaskakujące są również doniesienia o zjawisku transcytozy albuminy. Mechanizm ten miałby wyjaśniać wydajne wchłanianie i transport większych ilości przesączanej albuminy. Jednocześnie doniesienia te sugerują, że u pod staw albuminurii w przebiegu różnych chorób leżą głównie zaburzenia funkcji kanalika proksymalnego, a nie jak dotychczas sądzono glomerulopatie.

Nowe doniesienia wywołały burzliwą dyskusję w świecie nauki. Jeśli zostaną potwierdzone w dalszych badaniach,

mogą zmienić poglądy na patogenezę niewydolności nerek na tle nadciśnienia tętniczego, nefropatii cukrzycowej oraz chorób sercowo-naczyniowych. Porównanie klasycznego i nowego spojrzenia na nerkowy katabolizm albuminy przedstawiono na ryc. 1.

Naszym zdaniem dokumentacja nowych obserwacji nie jest jeszcze wystarczająca, aby jednoznacznie przesądzić o odrzuceniu lub przyjęciu któregoś z proponowanych modeli.

PODZIĘKOWANIA

Autorzy dziękują Sławomirowi Juszczyńskiemu za pomoc w graficznym opracowaniu rysunku.

PIŚMIENICTWO

- [1] Abbate M., Remuzzi G., Zoja C.: Role of proteinuria in progression. W: Seldin and Giebisch's The Kidney. Red.: R. Alpern, S. Hebert. Academic Press, London 2008, vol. 2: 2563–2576
- [2] Ahuja R., Yammani R., Bauer J.A., Kalra S., Seetharam S., Seetharam B.: Interactions of cubilin with megalin and the product of the amnionless gene (AMN): effect on its stability. *Biochem. J.*, 2008; 410: 301–308
- [3] Amsellem S., Gburek J., Hamard G., Nielsen R., Willnow T.E., Devuyt O., Nexo E., Verroust P.J., Christensen E.I., Kozyraki R.: Cubilin is essential for albumin reabsorption in the renal proximal tubule. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2010; 21: 1859–1867
- [4] Artali R., Bombieri G., Calabi L., Del Pra A.: A molecular dynamics study of human serum albumin binding sites. *Farmacologia*, 2005; 60: 485–495
- [5] Birn H., Fyfe J.C., Jacobsen C., Mounier F., Verroust P.J., Orskov H., Willnow T.E., Moestrup S.K., Christensen E.I.: Cubilin is an albumin binding protein important for renal tubular albumin reabsorption. *J. Clin. Invest.*, 2000; 105: 1353–1361
- [6] Bito R., Hino S., Baba A., Tanaka M., Watabe H., Kawabata H.: Degradation of oxidative stress-induced denatured albumin in rat liver endothelial cells. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.*, 2005; 289: C531–C542
- [7] Brunskill N.J., Cockcroft N., Nahorski S., Walls J.: Albumin endocytosis is regulated by heterotrimeric GTP-binding protein $G_{\alpha-3}$ in opossum kidney cells. *Am. J. Physiol.*, 1996; 271: F356–F364
- [8] Brunskill N.J., Stuart J., Tobin A.B., Walls J., Nahorski S.: Receptor-mediated endocytosis of albumin by kidney proximal tubule cells is regulated by phosphatidylinositol 3-kinase. *J. Clin. Invest.*, 1998; 101: 2140–2150
- [9] Christensen E.I., Birn H.: Megalin and cubilin: multifunctional endocytic receptors. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2002; 3: 256–266
- [10] Christensen E.I., Birn H., Rippe B., Maunsbach A.B.: Controversies in nephrology: renal albumin handling, facts, and artifacts! *Kidney Int.*, 2007; 72: 1192–1194
- [11] Christensen E.I., Birn H., Verroust P., Moestrup S.K.: Membrane receptors for endocytosis in the renal proximal tubule. *Int. Rev. Cytol.*, 1998; 180: 237–284
- [12] Christensen E.I., Devuyt O., Dom G., Nielsen R., Van der Smissen P., Verroust P., Leruth M., Guggino W.B., Courtroy P.J.: Loss of chloride channel CLC-5 impairs endocytosis by defective trafficking of megalin and cubilin in kidney proximal tubules. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003; 100: 8472–8477
- [13] Christensen E.I., Gburek J.: Protein reabsorption in renal proximal tubule-function and dysfunction in kidney pathophysiology. *Pediatr. Nephrol.*, 2004; 19: 714–721
- [14] Christensen E.I., Nielsen R.: Role of megalin and cubilin in renal physiology and pathophysiology. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.*, 2007; 158: 1–22
- [15] Comper W.D., Haraldsson B., Deen W.M.: Resolved: normal glomerular filter nephrotic levels of albumin. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2008; 19: 427–432
- [16] Comper W.D., Hilliard L.M., Nikolic-Paterson D.J., Russo L.M.: Disease-dependent mechanisms of albuminuria. *Am. J. Physiol.*, 2008; 295: F1589–F1600
- [17] Comper W.D., Russo L.M.: The glomerular filter: an imperfect barrier is required for perfect renal function. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 2009; 18: 336–342
- [18] Coudroy G., Gburek J., Kozyraki R., Madsen M., Trugnan G., Moestrup S.K., Verroust P.J., Maurice M.: Contribution of cubilin and amnionless to processing and membrane targeting of cubilin-amnionless complex. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2005; 16: 2330–2337
- [19] Cui S., Verroust P.J., Moestrup S.K., Christensen E.I.: Megalin/gp330 mediates uptake of albumin in renal proximal tubule. *Am. J. Physiol.*, 1996; 271: F900–F907
- [20] Czekay R.P., Orlando R.A., Woodward L., Lundstrom M., Farquhar M.G.: Endocytic trafficking of megalin/RAP complexes: dissociation of the complexes in late endosomes. *Mol. Biol. Cell*, 1997; 8: 517–532
- [21] De Borst M.H.: On the origin of albuminuria. *Kidney Int.*, 2007; 72: 1409
- [22] Desmond M.J., Lee D., Fraser S.A., Katerelos M., Gleich K., Martinello P., Li Y.Q., Thomas M.C., Michelucci R., Cole A.J., Saftig P., Schwake M., Stapleton D., Berkovic S.F., Power D.A.: Tubular proteinuria in mice and humans lacking the intrinsic lysosomal protein SCARB2/Limp-2. *Am. J. Physiol.*, 2011; 300: F1437–F1447
- [23] Garcia E., Li M.: Caveolin-1 immunohistochemical analysis in differentiating chromophobe renal cell carcinoma from renal oncocytoma. *Am. J. Clin. Pathol.*, 2006; 125: 392–398
- [24] Gekle M.: Renal proximal tubular albumin reabsorption: daily prevention of albuminuria. *News Physiol. Sci.*, 1998; 13: 5–11
- [25] Gekle M.: Renal tubule albumin transport. *Annu. Rev. Physiol.*, 2005; 67: 573–594
- [26] Gekle M.: Renal albumin handling: a look at the dark side of the filter. *Kidney Int.*, 2007; 71: 479–481
- [27] Gekle M., Freuding R., Mildnerberger S.: Inhibition of $\text{Na}^+\text{-H}^+$ exchanger-3 interferes with apical receptor-mediated endocytosis via vesicle fusion. *J. Physiol.*, 2001; 531: 619–629
- [28] Gekle M., Mildnerberger S., Freuding R., Schwerdt G., Silbernagl S.: Albumin endocytosis in OK cells: dependence on actin and microtubules and regulation by protein kinases. *Am. J. Physiol.*, 1997; 272: F668–F677
- [29] Gekle M., Mildnerberger S., Freuding R., Silbernagl S.: Endosomal alkalization reduces J_{max} and K_m of albumin receptor-mediated endocytosis in OK cells. *Am. J. Physiol.*, 1995; 268: F899–F906
- [30] Gekle M., Mildnerberger S., Freuding R., Silbernagl S.: Kinetics of receptor-mediated endocytosis of albumin in cells derived from the proximal tubule of the kidney (opossum kidney cells): influence of Ca^{2+} and cAMP. *Pflugers Arch.*, 1995; 430: 374–380
- [31] Gekle M., Mildnerberger S., Freuding R., Silbernagl S.: Functional characterization of albumin binding to the apical membrane of OK cells. *Am. J. Physiol.*, 1996; 271: F286–F291
- [32] Gekle M., Mildnerberger S., Freuding R., Silbernagl S.: Long-term protein exposure reduces albumin binding and uptake in proximal tubule-derived opossum kidney cells. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 1998; 9: 960–968



- [33] Greive K.A., Nikolic-Paterson D.J., Guimarães M.A., Nikolovski J., Pratt L.M., Mu W., Atkins R.C., Comper W.D.: Glomerular permselectivity factors are not responsible for the increase in fractional clearance of albumin in rat glomerulonephritis. *Am. J. Pathol.*, 2001; 159: 1159–1170
- [34] Gudehithlu K.P., Pegoraro A.A., Dunea G., Arruda J.A., Singh A.K.: Degradation of albumin by the renal proximal tubule cells and the subsequent fate of its fragments. *Kidney Int.*, 2004; 65: 2113–2122
- [35] Hutson S.M., Stinson-Fisher C., Shiman R., Jefferson L.S.: Regulation of albumin synthesis by hormones and amino acids in primary cultures of rat hepatocytes. *Am. J. Physiol.*, 1987; 252: E291–E298
- [36] Iancu C., Mocan L., Bele C., Orza A.I., Tabaran F.A., Catoi C., Stiuțiu R., Stir A., Matea C., Iancu D., Agoston-Coldea L., Zaharie F., Mocan T.: Enhanced laser thermal ablation for the *in vitro* treatment of liver cancer by specific delivery of multiwalled carbon nanotubes functionalized with human serum albumin. *Int. J. Nanomedicine*, 2011; 6: 129–141
- [37] Kratz F.: Albumin as a drug carrier: design of prodrugs, drug conjugates and nanoparticles. *J. Control. Release*, 2008; 132: 171–183
- [38] Kurashima K., Szabo E.Z., Lukacs G., Orlowski J., Grinstein S.: Endosomal recycling of the Na⁺/H⁺ exchanger NHE-3 isoform is regulated by the phosphatidylinositol 3-kinase pathway. *J. Biol. Chem.*, 1998; 273: 20828–20836
- [39] Lund U., Ripe A., Venturoli D., Tenstad O., Grubb A., Rippe B.: Glomerular filtration rate dependence of sieving of albumin and some neutral proteins in rat kidneys. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2003; 284: F1226–F1234
- [40] Luyckx V.A., Goda F.O., Mount D.B., Nishio T., Hall A., Hebert S.C., Hammond T.G., Yu A.S.: Intrarenal and subcellular localization of rat CLC5. *Am. J. Physiol.*, 1998; 275: F761–F769
- [41] Maack T., Park C.H., Camargo M.J.: Renal filtration, transport and metabolism of proteins. W: *The Kidney: Physiology and Pathophysiology* Red.: Seldin D.W., Giebisch G. Raven Press, New York 1992, 3005–3038
- [42] Marshansky V., Ausiello D.A., Brown D.: Physiological importance of endosomal acidification: potential role in proximal tubulopathies. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.*, 2002; 11: 527–537
- [43] Miller A., Jędrzejczak W.W.: Albumina – funkcje biologiczne i znaczenie kliniczne. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2001; 55: 17–36
- [44] Mukherjee S., Ghosh R.N., Maxfield F.R.: Endocytosis. *Physiol. Rev.*, 1997; 77: 759–803
- [45] Nicholson J.P., Wolmarans M.R., Park G.R.: The role of albumin in critical illness. *Br. J. Anaesth.*, 2000; 85: 599–610
- [46] Norden A.G., Lapsley M., Lee P.J., Pusey C.D., Scheinman S.J., Tam F.W., Thakker R.V., Unwin R.J., Wrong O.: Glomerular protein sieving and implications for renal failure in Fanconi syndrome. *Kidney Int.*, 2001; 60: 1885–1892
- [47] Ohlson M., Sörensson J., Haraldsson B.: A gel-membrane model of glomerular charge and size selectivity in series. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.*, 2001; 280: F396–F405
- [48] Olbricht C.J.: Distribution of cathepsins B and L in the kidney and their role in tubular protein absorption. *Eur. J. Clin. Chem. Clin. Biochem.*, 1992; 30: 675–681
- [49] Osicka T.M., Hankin A.R., Comper W.D.: Puromycin aminonucleoside nephrosis results in a marked increase in fractional clearance of albumin. *Am. J. Physiol.*, 1999; 277: F139–F145
- [50] Osicka T.M., Houlihan C.A., Chan J.G., Jerums G., Comper W.D.: Albuminuria in patients with type 1 diabetes is directly linked to changes in the lysosome-mediated degradation of albumin during renal passage. *Diabetes*, 2000; 49: 1579–1584
- [51] Osicka T.M., Panagiotopoulos S., Jerums G., Comper W.D.: Fractional clearance of albumin is influenced by its degradation during renal passage. *Clin. Sci.*, 1997; 93: 557–564
- [52] Osicka T.M., Strong K.J., Nikolic-Paterson D.J., Atkins R.C., Jerums G., Comper W.D.: Renal processing of serum proteins in an albumin-deficient environment: an *in vivo* study of glomerulonephritis in the Nagase analbuminaemic rat. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2004; 19: 320–328
- [53] Park C.H., Maack T.: Albumin absorption and catabolism by isolated perfused proximal convoluted tubules of the rabbit. *J. Clin. Invest.*, 1984; 73: 767–777
- [54] Peters J.T.: *All about albumin: biochemistry, genetics and medical applications*. Academic Press, San Diego (CA) 1996
- [55] Powers K.A., Kapus A., Khadaroo R.G., He R., Marshall J.C., Lindsay T.F., Rotstein O.D.: Twenty-five percent albumin prevents lung injury following shock/resuscitation. *Crit. Care Med.*, 2003; 31: 2355–2363
- [56] Quinlan G.J., Martin G.S., Evans T.W.: Albumin: biochemical properties and therapeutic potential. *Hepatology*, 2005; 41: 1211–1219
- [57] Remuzzi A., Sangalli F., Fassi A., Remuzzi G.: Albumin concentration in the Bowman's capsule: multiphoton microscopy vs micropuncture technique. *Kidney Int.*, 2007; 72: 1410–1411
- [58] Russo L.M., Sandoval R.M., Campos S.B., Molitoris B.A., Comper W.D., Brown D.: Impaired tubular uptake explains albuminuria in early diabetic nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 2009; 20: 489–494
- [59] Russo L.M., Sandoval R.M., McKee M., Osicka T.M., Collins A.B., Brown D., Molitoris B.A., Comper W.D.: The normal kidney filters nephrotic levels of albumin retrieved by proximal tubule cells: Retrieval is disrupted in nephritic states. *Kidney Int.*, 2007; 71: 504–513
- [60] Schaeffer R.C.Jr., Gratrix M.L., Mucha D.R., Carbajal J.M.: The rat glomerular filtration barrier does not show negative charge selectivity. *Microcirculation*, 2002; 9: 329–342
- [61] Schnitzer J.E., Bravo J.: High affinity binding, endocytosis, and degradation of conformationally modified albumins. Potential role of gp 30 and gp 18 as novel scavenger receptors. *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 7562–7570
- [62] Schnitzer J.E., Oh P.: Albondin-mediated capillary permeability to albumin. Differential role of receptors in endothelial transcytosis and endocytosis of native and modified albumins. *J. Biol. Chem.*, 1994; 269: 6072–6082
- [63] Schnitzer J.E., Oh P., Pinney E., Allard J.: Filipin-sensitive caveolae-mediated transport in endothelium: reduced transcytosis, scavenger endocytosis, and capillary permeability of select macromolecules. *J. Cell Biol.*, 1994; 127: 1217–1232
- [64] Schnitzer J.E., Sung A., Horvat R., Bravo J.: Preferential interaction of albumin-binding proteins, gp30 and gp18, with conformationally modified albumins. Presence in many cells and tissues with a possible role in catabolism. *J. Biol. Chem.*, 1992; 267: 24544–24553
- [65] Sorokin A., von Zastrow M.: Signal transduction and endocytosis: close encounters of many kinds. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.*, 2002; 3: 600–614
- [66] Tencer J., Frick I.M., Oquist B.W., Alm P., Rippe B.: Size-selectivity of the glomerular barrier to high molecular weight proteins: upper size limitations of shunt pathways. *Kidney Int.*, 1998; 53: 709–715
- [67] Tojo A., Endou H.: Intrarenal handling of proteins in rats using fractional micropuncture technique. *Am. J. Physiol.*, 1992; 263: F601–F606
- [68] Vinge L., Lees G.E., Nielsen R., Kashtan C.E., Bahr A., Christensen E.I.: The effect of progressive glomerular disease on megalin-mediated endocytosis in the kidney. *Nephrol. Dial. Transplant.*, 2010; 25: 2458–2467
- [69] Voldstedlund M., Thuneberg L., Tranum-Jensen J., Vinten J., Christensen E.I.: Caveolae, caveolin and cav-p60 in smooth muscle and renin-producing cells in the rat kidney. *Acta Physiol. Scand.*, 2003; 179: 179–188

Autorzy deklarują brak potencjalnych konfliktów interesów.