

## Białko szoku termicznego 72 (Hsp72) w chorobach nerek

Białka szoku termicznego (Heat shock proteins, Hsp) to ważne efekторы komórkowej odpowiedzi stresowej, obecne we wszystkich organizmach i niezwykle konserwatywne filogenetycznie. Ich zasadnicza rola to udział w prawidłowym fałdowaniu nowopowstałych białek oraz denaturacja lub degradacja białek uszkodzonych. Działają również zewnątrzkomórkowo biorąc udział m.in. w reakcji stanu zapalnego oraz immunizacji komórek układu odpornościowego. Białko Hsp72 jest jednym z najlepiej poznanych białek tej grupy i jego synteza jest silnie indukowana przez warunki stresowe. Liczne badania udowadniają ochronną funkcję tego białka w komórkach cewkowych nerki poddanych stresowi niedokrwienia i komórkach otrzewnej narażonych na szkodliwe działanie płynów dializacyjnych. Podwyższona ekspresja białka Hsp72 w komórkach nowotworowych nerki koreluje z immunizacją limfocytów cytotoksycznych przeciwko tym komórkom. Wydaje się, iż stymulacja syntezy białka Hsp72 może mieć znaczenie terapeutyczne w leczeniu niewydolności nerek (transplantacja, dializa otrzewnowa), jak i nowotworów nerki.

(NEFROL. DIAL. POL. 2007, 11, 78-82)

### Heat shock protein 72 (Hsp72) in renal diseases

Heat shock proteins (Hsp) are known as major effectors of cellular stress response. Hsp are present in all organisms and they are highly conserved through evolution. Their basic intracellular roles are assisting in folding of newly translated proteins and refolding or degradation of denatured proteins. Hsp have also an important extracellular function e.g. they take part in initiation of the inflammation process and they are recognized as antigens by immune system cells. Hsp72 is one of the best studied proteins of this group and its synthesis is strongly activated by stress conditions. Numerous studies show protecting function of Hsp72 in renal tubular cells during stress of ischemia and in peritoneal cells exposed to toxic effects of peritoneal dialysis fluids. High level of Hsp72 in cells of renal carcinoma correlated with immunization of cytotoxic T lymphocytes against these cells. Considering these facts, upregulation of Hsp72 synthesis seems to be a potential therapeutic intervention in treatment of renal failure (transplantation, peritoneal dialysis) and renal cell carcinoma as well.

(NEPHROL. DIAL. POL. 2007, 11, 78-82)

#### Wstęp

Białka szoku termicznego (ang. *Heat Shock Proteins*, Hsp) lub białka opiekuńcze, to ważne efekторы komórkowej odpowiedzi stresowej, występujące we wszystkich organizmach i niezwykle dobrze zachowane w procesie ewolucji. Zostały one podzielone na rodziny pod względem masy cząsteczkowej i pełnią różne funkcje w komórce (tabela I).

Zasadnicze funkcje białek szoku termicznego są następujące [66]:

1. biorą udział w procesie formowania prawidłowej struktury białek, które powstają podczas translacji,

2. biorą udział w reaturacji lub degradacji białek zdenaturowanych lub uszkodzonych przez czynniki stresowe.

Transkrypcja genów białek szoku termicznego jest indukowana przez bardzo wiele czynników, które zostały podzielone przez Morimoto na 3 grupy: stres środowiskowy, stany patofizjologiczne i procesy fi-

zjologiczne (rycina 1). Wymaga ona aktywacji czynnika transkrypcyjnego HSF (*Heat Shock Transcription Factor*). Czynniki HSF występują w 4 odmianach – HSF1, 2, 3 i 4. Czynniki transkrypcyjne HSF1 występują w postaci nieaktywnego monomeru i jest uważany za główny czynnik odpowiedzi stresowej. Jego aktywacja następuje nawet po nieznacznym podwyższeniu temperatury oraz w wyniku zaistnienia wielu różnych warunków fizjologicznych i środowiskowych [47]. W komórkach niepoddanych stresowi czynnik transkrypcyjny HSF1 zlokalizowany jest w jądrze i w cytoplazmie [13,45]. Występuje w postaci niezwiązanej z DNA i nieaktywnej, co spowodowane jest wewnętrznymi wiązaniami typu helisa-helisa i oddziaływaniami z białkami opiekuńczymi np. Hsp70, Hsp90, Hdj1 [20].

W warunkach stresowych pewna część znajdujących się w komórce białek ulega denaturacji, co powoduje wiązanie się do nich białek opiekuńczych, tym samym uwol-

Łukasz MARZEC<sup>1</sup>

Zbigniew ZDROJEWSKI<sup>1</sup>

Ewa BRYL<sup>2</sup>

Bolesław RUTKOWSKI<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych, Akademia Medyczna w Gdańsku  
Kierownik: prof. dr hab. Bolesław Rutkowski

<sup>2</sup>Katedra i Zakład Fizjopatologii, Akademia Medyczna w Gdańsku  
Kierownik:  
Dr hab. Jacek M. Witkowski, prof. ndzw. AMG

#### Słowa kluczowe:

- białka szoku termicznego
- Hsp72
- ostra niewydolność nerek
- przewlekła niewydolność nerek

#### Key words:

- heat shock proteins
- Hsp72
- acute renal failure
- chronic renal failure

#### Adres do korespondencji:

Łukasz Marzec  
Klinika Nefrologii, Transplantologii  
i Chorób Wewnętrznych AMG  
80-211 Gdańsk, ul. Dębinki 7  
Tel.: (058) 349 15 13; Fax: (058) 346 11 86  
e-mail: lukamar@wp.pl

nienie czynnika HSF1. Jeśli znajduje się on w cytoplazmie ulega translokacji do jądra. Aktywacja HSF1 następuje w wyniku trimeryzacji i fosforylacji, po czym wiąże się on do sekwencji HSE (*Heat Shock Promoter Element*) i zachodzi transkrypcja genów szoku termicznego. Pod koniec odpowiedzi stresowej komórki, aktywność transkrypcyjna HSF1 jest hamowana przez bezpośrednie wiązanie Hsp70 i Hdj1 oraz białka HSBP1 (*HSF1 binding protein*). Prowadzi to do powrotu czynnika HSF1 do formy nieaktywnego monomeru.

Najlepiej poznaną dotychczas grupą białek szoku termicznego jest grupa białek Hsp70, której głównymi przedstawicielami w komórkach ssaków są:

- białko o masie 72 kDa (Hsp70, Hsp72), wysoce indukowane przez stres;
- białko o masie 73 kDa (Hsc70, Hsp73), ulegające konstytutywnie ekspresji we wszystkich komórkach i tkankach.

Białka te wykazują ponad 80% homologii i wspólną budowę. Wszystkie zbudowane są z domeny ATP-azowej w części N-terminalnej (o masie 45 kDa), domeny C-terminalnej (15-18 kDa) wiążącej substrat oraz trzeciej domeny (o masie 10 kDa) z końcem karboksylowym, której funkcja jest jeszcze nieznana [44]. Białka z grupy Hsp70 pełnią w komórce szereg ważnych funkcji (tabela II).

Okazuje się, iż białko Hsp72 występuje nie tylko w cytoplazmie, ale również w przestrzeni międzykomórkowej, do której może być biernie uwalniane podczas nekrozy [7] lub wydzielane w procesie aktywnego transportu przez eksosom [36] pod wpływem m.in. IFN- $\gamma$  i IL-10 [3]. Obecność białka Hsp72, jak również przeciwciał anti-Hsp72 potwierdzono w surowicy krwi zdrowych osób [51], a jego podwyższony poziom korelował z chorobą naczyń nerkowych [67]. Uwolnione białko Hsp72 może wiązać się do różnych komórek m.in. NK, dendrytycznych, makrofagów, monocytów i limfocytów B poprzez zidentyfikowane już receptory, takie jak TLR 2 i 4, CD36 czy CD40, co z kolei uruchamia kaskadę sygnałową prowadzącą do syntezy i wydzielania cytokin prozapalnych [3]. Poza tym białka Hsp, szczególnie z rodziny Hsp70, posiadają wysoką zdolność do immunizacji układu odpornościowego, są jednym z głównych epitopów bakteryjnych rozpoznawanych przez ludzkie limfocyty. Niestety również własne białka Hsp stymulują układ odpornościowy i uczestniczą w patogenezie chorób autoimmunologicznych np. młodzieńczego zapalenia stawów czy stwardnienia rozsianego [50]. Coraz większa zewnątrzkomórkowa rola jaką przypisuje się ostatnio białku Hsp72 spowodowała, iż białko to jest obecnie określane nie tylko jako białko chaperonowe (opiekuńcze), ale przede wszystkim jako białko chaperokinowe – białko opiekuńcze o aktywności cytokinowej.

W związku z tym, że białka szoku termicznego są tak niezwykle istotne dla homeostazy komórkowej, a ich synteza jest indukowana również przez stany patofizjologiczne, zbadano poziom ekspresji tych białek w komórkach pacjentów cierpiących na różne choroby. I tak stwierdzono podwyższony poziom komórkowych białek Hsp, zwłaszcza z rodziny Hsp70 m.in. w przypad-

ku wielu nowotworów [19,30], choroby *Alzheimera* [21], jak również w chorobach nerek.

### **Białko Hsp72 w ostrej niewydolności nerek**

Badania ekspresji białek Hsp w ostrej niewydolności nerek (ONN) z oczywistych względów sprowadza się głównie do modeli zwierzęcych oraz badań *in vitro*. ONN spowodowana niedokrwieniem/reperfuzją (*ischemia/reperfusion* – I/R) nerki jest dosyć dobrze poznanym i opisanym czynnikiem stresowym indukującym odpowiedź szoku termicznego, w tym syntezę Hsp72, w komórkach nerek [56,62]. Niedokrwienie powoduje szereg negatywnych następstw na poziomie komórkowym, poczynając od zaburzeń funkcji komórek przy stosunkowo krótkim okresie niedokrwienia, a kończąc na komórkowej śmierci w procesie apoptozy lub nekrozy w konsekwencji przedłużającego niedokrwienia i wyczerpania komórkowego ATP [12]. Jakkolwiek nekroza to gwałtowny, niekontrolowany i nieodwracalny rozpad komórek, apoptoza to ściśle regulowany mechanizm, oparty na równowadze pomiędzy stopniem uszkodzenia komórek, możliwością ich naprawy oraz inicjacją kaskad sygnałowych prowadzących do ostatecznej śmierci. W zależności więc od nasilenia i czasu działania czynnika uszkadzającego komórkę może ona ulec nekrozie, pozostać nieuszkodzona lub ulec częściowemu uszkodzeniu. Ta zaś z kolei może ulec regeneracji lub może ulec apoptozie [4]. O tym czy komórka jest w stanie odwrócić zmiany wywołane czynnikiem stresowym czy też nie (i w konsekwencji ulec apoptozie) decydują m.in. oddziaływania między uszkodzonymi (zdenaturowanymi) białkami. W związku z tym białka Hsp, w tym Hsp72 wydawały się być jednym z głównych regulatorów procesu apoptozy. Tak jest w rzeczywistości. Nadekspresja Hsp70 w komórkach epitelialnych nerek zmniejszała apoptozę wywołaną wyczerpaniem ATP będącego konsekwencją niedokrwienia [61]. Mechanizm hamowania apoptozy przez Hsp72 jest dwójaki: Hsp72 blokuje MAP kinazę JNK, co zapobiega uwalnianiu cytochromu c z mitochondriów lub hamuje dalsze etapy apoptozy (już po uwolnieniu cytochromu c) poprzez blokowanie tworzenia apoptosomu i aktywacji kaspazy 3 [9].

Ochronna rola białka Hsp72 w komórkach poddanym niedokrwieniu nie sprowadza się tylko do zapobieżenia „apoptotycznej” śmierci. Pozostawienie przy życiu komórki, która nie może pełnić swoich funkcji jest pozbawione fizjologicznego sensu. Szkodliwość niedokrwienia (wyczerpania ATP) polega głównie na zaburzeniu organizacji aktywnego cytoszkieletu komórki. Prowadzi to do utraty biegunowości komórkowej, niezwykłe istotnej dla komórek cewkowych, mogącej powodować m.in. przesunięcie pompy Na/K ATP-azowej, zmianę kierunku wydalania sodu i w konsekwencji redukcję filtracji kłębuszkowej.

Liczne badania udowadniają rolę białek Hsp w przywracaniu integralności cytoszkieletu i biegunowości komórki. Stres wywołany niedokrwieniem i wyczerpaniem ATP powoduje wzrost ekspresji białek Hsp i obniżenie ekspresji białek związanych z cy-

toszkieletem, w tym Na/K-ATPazy [63]. Może to sugerować udział Hsp w przywracaniu tym białkom swojej pierwotnej lokalizacji. Idąc tym tropem udowodniono iż:

1. ekspresja Hsp72 koreluje z odłączeniem się Na/K ATPazy od cytoszkieletu,

2. Hsp72 łącząc się z Na/K-ATPazą stabilizuje ją, tym szybciej i dłużej, im gwałtowniej przebiegało wyczerpanie ATP [54].

Wyniki te pozwoliły opracować model przeciwdziałający skutkom ONN wywołanej niedokrwieniem/reperfuzją oparty na dodaniu rekombinowanego Hsp72 lub przeciwciał anti-Hsp72 *in vitro* [11]. Badania przy użyciu tego modelu potwierdziły rolę Hsp72 w regeneracji i stabilizacji białek wchodzących w skład cytoszkieletu.

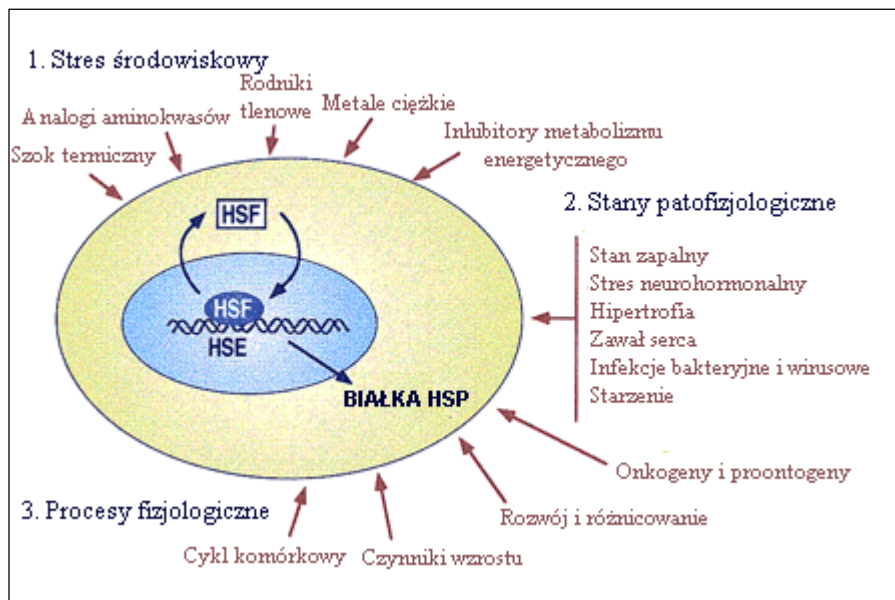
Poddanie komórek wcześniejszemu działaniu umiarkowanego stresu (tzn. nieśmiertelnemu) jest znanym czynnikiem, który przyczynia się do lepszej przeżywalności w warunkach, które zwykle są dla komórek śmiertelne. Organizmy i tkanki wykazujące nadekspresję białek Hsp są bardziej odporne na stres, niż te w których synteza Hsp jest zahamowana. Biorąc pod uwagę te fakty udowodniono, iż umiarkowane niedokrwienie nerek *in vivo* powodowało nie tylko wzrost syntezy białek Hsp (w tym Hsp72), ale również zapobiegało dezorganizacji cytoszkieletu w korze szczerzej nerki poddanej dalszemu, powtarzanemu niedokrwieniu [5]. Z kolei obniżenie ekspresji genu *hsp72* powodowało zwiększenie komórkowych uszkodzeń (mierzonych uwalnianiem Na/K ATPazy z cytoszkieletu) w komórkach cewkowych pozbawionych ATP [53]. Porównanie przebiegu ONN wywołanej niedokrwieniem w 2 szczerzej liniach, które charakteryzują się różną zdolnością do produkcji Hsp72, sugeruje także, iż białka Hsp mogą łagodzić skutki I/R. Podobne wyniki uzyskano w badaniach na ludziach. Występowanie polimorfizmu genu *hsp72* upośledzającego jego ekspresję korelowało z ryzykiem wystąpienia ostrej niewydolności nerek u noworodków z niską wagą urodzeniową [22]. Najnowsze badania pokazują efekt podania szczerzom GGA (Geranylogeranyloacetonu), znanego stymulatora ekspresji Hsp72, w postaci zmniejszonego poziomu BUN i kreatyniny w przebiegu ONN wywołanej niedokrwieniem/reperfuzją. Quercetin – inhibitor Hsp72, zniósł ten efekt [59]. Wreszcie okazuje się, iż Hsp72 blokując aktywację czynnika NF- $\kappa$ B, hamuje stan zapalny w nerkach szczerzów wywołany przez niedokrwienie/reperfuzję [32].

Jakkolwiek większość badań dotyczących ekspresji białek Hsp w przebiegu ONN przeprowadzana jest na modelu doświadczalnym I/R, nieliczne badania udowadniają ochronny efekt Hsp72 w ONN wywołanej działaniem gentamycyny [65] lub chlorku rtęci [58].

Reasumując wydaje się, iż cytoprotekcyjny efekt białka Hsp72 może w przyszłości zostać wykorzystany do obniżenia ryzyka wystąpienia ONN lub przyczynić się do łagodzenia jej skutków.

### **Białko Hsp72 w transplantacji nerek**

Procedura przeszczepienia nerki bardzo przypomina model niedokrwienia/reperfuzji uszkodzenia nerki. Podobnie jak w przypadku badań nad tym modelem, eks-



Rycina 1  
Czynniki indukujące ekspresję białek szoku termicznego [2].  
Conditions that induce the heat shock response [2].

Tabela I  
Białka szoku termicznego [1].  
Heat shock proteins [1].

Nazwa	Masa cząsteczkowa (kDa)	Lokalizacja komórkowa	Funkcja
Ubikwityna	8	Cytoplazma / jądro	Degradacja białek
Hsp10	10	Mitochondria	Kofaktor dla Hsp 60
Małe Hsp (sHsp)	20 - 30	Cytoplazma/ jądro	Różnicowanie komórek
Hsp40	40	Cytoplazma / jądro	Kofaktor dla Hsp 70
Hsp60	60	Mitochondria	Białko opiekuńcze
Hsp70	70	Cytoplazma / jądro	Białko opiekuńcze
Hsp90	90	Cytoplazma / jądro	Białko opiekuńcze

Tabela II  
Funkcje białek z grupy Hsp70.  
Functions of Hsp70 family proteins.

- Działają jako białka opiekuńcze w procesie formowania prawidłowej struktury białek [14,27].
- Biorą udział w reaktywacji białek po denaturacji [18].
- Zapobiegają niewłaściwym oddziaływaniom białkowym i tworzeniu się agregatów [25].
- Kierują uszkodzone białka do degradacji [28].
- Odgrywają rolę w utrzymaniu kształtu komórki i transdukcji sygnału, wiążąc i stabilizując elementy cytoszkieletu [8].
- Mają działanie anty-apoptotyczne poprzez hamowanie aktywacji kinaz białkowych różnych kaskad sygnałowych np. SAPK/JNK, p38 [23].
- Hamują syntezę cytokin prozapalnych poprzez blokowanie kompleksu kinazy I B i w konsekwencji inhibicji czynnika NF- $\kappa$ B [32,34].
- Odpowiadają za tzw. termotolerancję komórek, co oznacza, że komórki poddane nieznacznemu szokowi termicznemu, a następnie regeneracji przeżywają działanie kolejnego stresu, który inaczej byłby dla nich śmiertelny [37].

perymentalne zwiększanie ekspresji białka Hsp72 w przeszczepianej, szczurzej nerce (głównie poprzez podgrzanie), skutkowało zwiększeniem odporności komórek na uszkodzenia wywołane niedokrwieniem [52] i niską temperaturą [29]. Ostatnie badania *ex vivo* pokazują jednak, iż ekspresja Hsp72 w nerce nie zmienia się i pozostaje na niskim poziomie od momentu pobrania narządu, do kilkumiesięcznego okresu po przeszczepieniu narządu. Nie obserwowano również wzrostu ekspresji Hsp72, gdy następowały zaburzenia funkcji graftu [48]. Zarówno badania te, jak i efekt zwiększonej

ekspresji Hsp72 w modelach zwierzęcych sugerują, iż ewentualna stymulacja produkcji białka Hsp72 mogłaby poprawić funkcję przeszczepionej nerki. Jakkolwiek może to mieć również negatywne następstwa. Okazuje się bowiem, że poziom białka Hsp72 produkowanego przez przeszczepioną, a następnie odrzucaną nerkę, korelował z obecnością Hsp72-reaktywnych limfocytów T, co sugeruje rolę tego białka w immunizacji układu odpornościowego gospodarza przeciwko antygenom przeszczepionego organu [60].

## Hsp72 w przewlekłych chorobach nerek

Dane dotyczące ekspresji białka Hsp72 i innych białek szoku termicznego w przypadku przewlekłej niewydolności nerek (PNN) oraz chorobach, które mogą do niej prowadzić są bardzo skąpe. Nieliczne ostatnie badania prowadzone na myszach, ujawniły rolę białka Hsp72 w immunizacji komórek układu odpornościowego w przebiegu kłębuszkowego zapalenia nerek [31] i toczniowego zapalenia nerek [17], sugerując również terapeutyczną rolę przeciwciał anti-Hsp72. Pozostałe badania, prowadzone *in vitro*, dotyczą głównie ochronnej roli, jaką pełni białko Hsp72 w komórkach mezangialnych, cewkowych i podocytach, w warunkach stresu oksydacyjnego towarzyszącego przewlekłej niewydolności nerek [16,35,68]. Właściwie nie ma żadnych danych dotyczących ekspresji białka Hsp72 w komórkach krwi chorych z PNN leczonych zachowawczo lub hemodializami. Tymczasem hemodializa jest znanym czynnikiem stresowym, aktywującym komórki krwi w krążeniu pozaustrojowym (linie krwi, błony dializacyjne) [42]. Dostępność tych komórek oraz metody oznaczania w nich poziomu białek są dużo łatwiejsze, niż w przypadku komórek nerki. Toksyny mocznicowe są także znanym czynnikiem indukującym odpowiedź szoku termicznego w komórkach poddanych ich działaniu *in vitro* lub *in vivo* w modelach zwierzęcych [41]. Jednakże do tej pory nie opisano ich wpływu na ekspresję białek Hsp w komórkach krwi chorych z ONN lub PNN leczonych zachowawczo i dializami. Biorąc pod uwagę ważną rolę jaką odgrywa białko Hsp72 w indukcji stanu zapalnego i miażdżycy, które bardzo często towarzyszą PNN, badania takie mogłyby się przyczynić do znalezienia przyczyn tych komplikacji. Wstępne wyniki badań prowadzonych w kraju, wykazujące korelację pomiędzy poziomem przeciwciał anti-Hsp72 a ryzykiem wystąpienia stanu zapalnego w przebiegu PNN, zdają się potwierdzać słuszność poszukiwań prowadzonych w tym kierunku [49]. W zasadzie jedyną metodą leczenia chorych z PNN, której wpływ na ekspresję białka Hsp72 opisano dość dobrze, jest ciągła ambulatoryjna dializa otrzewnowa. Dlatego też tej kwestii poświęcono następny rozdział niniejszej pracy.

## Hsp72 w dializie otrzewnowej

Jednym z głównych ograniczeń ciągłej ambulatoryjnej dializy otrzewnowej (CADO) jest pogorszenie morfologicznych i czynnościowych właściwości błony otrzewnej. Skutkuje to zmniejszeniem jej zdolności ultrafiltracyjnej i w konsekwencji prowadzi do zakończenia leczenia tą metodą. Podstawowym czynnikiem negatywnie wpływającym na błonę otrzewnej jest bioniezgodność płynów dializacyjnych (PD), na działanie których otrzewna jest ciągle narażona [26]. Do tej pory w badaniach *in vitro* określono właściwości płynów odpowiadające za ich toksyczność. Należą do nich niskie pH, wysoka osmolarność, wysokie stężenie glukozy, mleczanu i produktów degradacji glukozy [33,38,46]. Skład i co za tym idzie właściwości płynów dializacyjnych są ciągle ulepszone, jakkolwiek sama zasada działania tej metody leczenia wyklucza stworzenie cał-

kowiec biozgodnych płynów. CADO polega na powtarzanym wprowadzaniu do jamy otrzewnej roztworów o dużej osmolarności (dla zapewnienia dyfuzji związków toksycznych i ultrafiltracji wody) stąd też komórki poddane działaniu płynu, zawsze będą narażone na ostre warunki stresowe. W związku z tym należało się spodziewać, iż w komórkach jamy otrzewnej będzie następować indukcja białek Hsp w odpowiedzi na stres związany z obecnością płynów. Rzeczywiście, liczne badania udowodniły wzrost poziomu Hsp72 m.in. w komórkach mezotelialnych poddanych działaniu PD *in vitro* [1,6], *in vivo* [2,40] oraz w leukocytach otrzewnowych badanych *ex vivo* [43]. Wyniki te potwierdzają przydatność badania poziomu Hsp72 do oceny biozgodności płynów dializacyjnych. Jakkolwiek dalsze eksperymenty *in vitro* określiły rolę białka Hsp72 nie tylko jako markera toksyczności płynów, ale również jako białka o funkcji ochronnej. Podobnie jak w przypadku ONN wywołanej I/R, umiarkowany stres powodujący wzrost poziomu Hsp72, przystosowywał komórki na niekorzystne działanie PD. Ludzkie komórki mezotelialne poddane umiarkowanemu szokowi cieplnemu lub ekspozycji na płyny dializacyjne wykazywały dużo wyższą tolerancję na toksyczność PD niż komórki niepoddane wstępnemu szokowi. Transfekcja badanych komórek *hsp72* cDNA potwierdziła bezpośredni udział białka Hsp72 w obserwowanym mechanizmie cytoprotekcyjnym [10].

Podsumowując, można stwierdzić, iż ostatnie badania określiły rolę białka Hsp72 nie tylko jako wskaźnika biozgodności płynów dializacyjnych, ale również wskazały jego ważną funkcję w mechanizmie chroniącym komórki poddane toksycznemu działaniu tych płynów. Jakkolwiek w warunkach klinicznych transfekcja cDNA lub kontrolowane „podgrzanie” komórek jamy otrzewnej jest niemożliwe. Ewentualne wykorzystanie fizjologicznych mechanizmów regulujących poziom białka Hsp72 mogłoby zwiększyć tolerancję na stosowane płyny i tym samym zredukować ich efekty uboczne. Obecnie znane są przykłady wykorzystania farmakologicznej indukcji syntezy białka Hsp72 dla złagodzenia skutków różnych procesów patologicznych np. udaru mózgu, wrzodów żołądka czy cukrzycy [57]. Można to osiągnąć poprzez wywołanie warunków stresowych np. zwiększenie ilości zdenaturowanych białek lub poprzez nasilenie fizjologicznych mechanizmów, np. wydłużenie czasu wiązania czynnika HSF1 do DNA [57]. Wydaje się więc, iż tylko kwestią czasu jest przeprowadzenie prób farmakologicznej stymulacji odpowiedzi szoku termicznego u pacjentów leczonych dializą otrzewnową.

### Hsp72 w nowotworach nerki

Jeżeli cytoprotekcyjny efekt białka Hsp72 w przypadku działania czynników stresowych na zdrowe komórki jest korzystny, tak w przypadku nowotworów staje się on działaniem negatywnym. Wysoki poziom białka Hsp72 w komórkach nowotworowych m.in. koreluje ze złymi rokowaniami w leczeniu raka piersi [55], a także ze zwiększoną odpornością na chemoterapię raka kości [61]. Mechanizm cytoprotekcyjny bia-

łek Hsp, głównie Hsp90, jest w zasadzie taki sam jak w przypadku zdrowych komórek: adaptacja do niekorzystnych warunków, hamowanie apoptozy, stabilizacja i ochrona białek m.in. odpowiedzialnych za proces transformacji nowotworowej (ErbB2, Src, kinazy serynowe). W przypadku raka jasno-komórkowego nerki (renal cell carcinoma, RCC), stanowiącego ok. 85% wszystkich nowotworów nerki, nie stwierdzono znaczącego wzrostu poziomu białek Hsp (w tym Hsp72) [39], co sugeruje, iż być może nie uczestniczą one bezpośrednio w tej transformacji nowotworowej. Zauważono natomiast, że mutacja genu *hsp70* o zwiększonej ekspresji prowadziła do immunizacji cytotoksycznych limfocytów T (TLC) przeciwko komórkom rakowym [24]. Późniejsze badania, w których indukowano syntezę Hsp72 w liniach nowotworowych RCC *in vitro* [15] potwierdziły, iż ewentualne zwiększenie ekspresji Hsp72 w komórkach nowotworowych mogłoby być sygnałem immunizującym układ odpornościowy pacjenta przeciwko komórkom rakowym.

Jakkolwiek badania nad wykorzystaniem Hsp72 w immunizacji TLC przeciwko komórkom RCC jeszcze długo pozostaną w cieniu leku o nazwie Oncophage. Jest to szczepionka oparta na kompleksach białka Hsp gp96 z antygenami komórek nowotworowych. Kompleksy te są izolowane z guzów nerki pacjenta i charakteryzują się wysoką specyficznością w immunizującym układzie odpornościowym przeciw komórkom rakowym. Kliniczne badania nad tym lekiem weszły już w 3 fazę i są bardzo obiecujące.

### Piśmiennictwo

- Arbeiter K., Bidmon B., Endemann M. et al.: Peritoneal dialysate fluid composition determines heat shock protein expression patterns in human mesothelial cells. *Kidney Int.* 2001, 60, 1930.
- Arbeiter K., Bidmon B., Endemann M. et al.: Induction of mesothelial HSP-72 upon *in vivo* exposure to peritoneal dialysis fluid. *Perit. Dial. Int.* 2003, 23, 499.
- Asea A.: Stress proteins and initiation of immune response: chaperone activity of hsp72. *Exerc. Immunol. Rev.* 2005, 11, 34.
- Aufricht C.: Heat-shock protein 70: molecular supercool? *Pediatr. Nephrol.* 2005, 20, 707.
- Aufricht C., Bidmon B., Ruffingshofer D. et al.: Ischemic conditioning prevents Na,K-ATPase dissociation from the cytoskeletal cellular fraction after repeat renal ischemia in rats. *Pediatr. Res.* 2002, 51, 722.
- Aufricht C., Endemann M., Bidmon B. et al.: Peritoneal dialysis fluids induce the stress response in human mesothelial cells. *Perit. Dial. Int.* 2001, 21, 85.
- Basu S., Binder R.J., Suto R. et al.: Necrotic but not apoptotic cell death releases heat shock proteins, which deliver a partial maturation signal to dendritic cells and activate the NF-kappa B pathway. *Int. Immunol.* 2000, 12, 1539.
- Beck F.X., Neuhofer W., Muller E.: Molecular chaperones in the kidney: distribution, putative roles, and regulation. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 2000, 279, F203.
- Beere H.M.: "The stress of dying": the role of heat shock proteins in the regulation of apoptosis. *J. Cell Sci.* 2004, 117, 2641.
- Bidmon B., Endemann M., Arbeiter K. et al.: Overexpression of HSP-72 confers cytoprotection in experimental peritoneal dialysis. *Kidney Int.* 2004, 66, 2300.
- Bidmon B., Endemann M., Muller T. et al.: Heat shock protein-70 repairs proximal tubule structure

- after renal ischemia. *Kidney Int.* 2000, 58, 2400.
- Bonegio R., Lieberthal W.: Role of apoptosis in the pathogenesis of acute renal failure. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2002, 11, 301.
- Brown I.R., Rush S.J.: Cellular localization of the heat shock transcription factors HSF1 and HSF2 in the rat brain during postnatal development and following hyperthermia. *Brain. Res.* 1999, 821, 333.
- Bukau B., Horwich A.L.: The Hsp70 and Hsp60 chaperone machines. *Cell.* 1998, 92, 351.
- Cabillic F., Bouet-Toussaint F., Toutirais O. et al.: Interleukin-6 and vascular endothelial growth factor release by renal cell carcinoma cells impedes lymphocyte-dendritic cell cross-talk. *Clin. Exp. Immunol.* 2006, 146, 518.
- Chen H.C., Guh J.Y., Tsai J.H. et al.: Induction of heat shock protein 70 protects mesangial cells against oxidative injury. *Kidney Int.* 1999, 56, 1270.
- Chen M., Aosai F., Norose K. et al.: Toxoplasma gondii infection inhibits the development of lupus-like syndrome in autoimmune (New Zealand Black x New Zealand White) F1 mice. *Int. Immunol.* 2004, 16, 937.
- Ciavarrá R.P., Goldman C., Wen K.K. et al.: Heat stress induces hsc70/nuclear topoisomerase I complex formation *in vivo*: evidence for hsc70-mediated, ATP-independent reactivation *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.* 1994, 91, 1751.
- Ciocca D.R., Clark G.M., Tandon A.K. et al.: Heat shock protein hsp70 in patients with axillary lymph node-negative breast cancer: prognostic implications. *J. Natl. Cancer Inst.* 1993, 85, 570.
- Cotto J.J., Morimoto R.I.: Stress-induced activation of the heat-shock response: cell and molecular biology of heat-shock factors. *Biochem. Soc. Symp.* 1999, 64, 105.
- Dewji N.N., Do C.: Heat shock factor-1 mediates the transcriptional activation of Alzheimer's beta-amyloid precursor protein gene in response to stress. *Brain. Res. Mol. Brain Res.* 1996, 35, 325.
- Fekete A., Treszl A., Toth-Heyn P. et al.: Association between heat shock protein 72 gene polymorphism and acute renal failure in premature neonates. *Pediatr. Res.* 2003, 54, 452.
- Gabai V.L., Meriin A.B., Yaglom J.A. et al.: Role of Hsp70 in regulation of stress-kinase JNK: implications in apoptosis and aging. *FEBS Lett.* 1998, 438, 1.
- Gaudin C., Kremer F., Angevin E. et al.: A hsp70-2 mutation recognized by CTL on a human renal cell carcinoma. *J. Immunol.* 1999, 162, 1730.
- Georgopoulos C., Welch W.J.: Role of the major heat shock proteins as molecular chaperones. *Annu. Rev. Cell. Biol.* 1993, 9, 601.
- Gotloib L., Shostack A., Jaichenko J.: Ruthenium-red-stained anionic charges of rat and mice mesothelial cells and basal lamina: the peritoneum is a negatively charged dialyzing membrane. *Nephron.* 1988, 48, 65.
- Hartl F.U.: Molecular chaperones in cellular protein folding. *Nature.* 1996, 381, 571.
- Hayes S.A., Dice J.F.: Roles of molecular chaperones in protein degradation. *J. Cell Biol.* 1996, 132, 255.
- Healy D.A., Daly P.J., Docherty N.G. et al.: Heat shock-induced protection of renal proximal tubular epithelial cells from cold storage and rewarming injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006, 17, 805.
- Helmbrecht K., Zeise E., Rensing L.: Chaperones in cell cycle regulation and mitogenic signal transduction: a review. *Cell Prolif.* 2000, 33, 341.
- Hsu H.C., Zhou T., Kim H. et al.: Production of a novel class of polyreactive pathogenic autoantibodies in BXD2 mice causes glomerulonephritis and arthritis. *Arthritis Rheum.* 2006, 54, 343.
- Jo S.K., Ko G.J., Boo C.S. et al.: Heat reconditioning attenuates renal injury in ischemic ARF in rats: role of heat-shock protein 70 on NF-kappaB-mediated inflammation and on tubular cell injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006, 17, 3082.
- Jorres A., Topley N., Gahl G.M.: Biocompatibility of peritoneal dialysis fluids. *Int. J. Artif. Organs.* 1992, 15, 79.

34. **Kammanadiminti S.J., Chadee K.**: Suppression of NF-kappaB activation by *Entamoeba histolytica* in intestinal epithelial cells is mediated by heat shock protein 27. *J. Biol. Chem.* 2006, 281, 26112.
35. **Komatsuda A., Wakui H., Oyama Y. et al.**: Overexpression of the human 72 kDa heat shock protein in renal tubular cells confers resistance against oxidative injury and cisplatin toxicity. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1999, 14, 1385.
36. **Lancaster G.I., Febbraio M.A.**: Exosome-dependent trafficking of HSP70: a novel secretory pathway for cellular stress proteins. *J. Biol. Chem.* 2005, 280, 23349.
37. **Laszlo A.**: The effects of hyperthermia on mammalian cell structure and function. *Cell Prolif.* 1992, 25, 59.
38. **Lichtenfels R., Topley N., Jorres A. et al.**: Peritoneal dialysis fluid inhibition of phagocyte function: effects of osmolality and glucose concentration. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1993, 3, 1508.
39. **Lichtenfels R., Kellner R., Bukur J. et al.**: Heat shock protein expression and anti-heat shock protein reactivity in renal cell carcinoma. *Proteomics.* 2002, 2, 561.
40. **Lopez-Cotarelo C., Sellhaus B., Baba H.A. et al.**: Expression of heat shock proteins 72/73 in human peritoneal mesothelial cells in vivo and in vitro. *Nephron.* 2000, 85, 148.
41. **Maddock A.L., Westenfelder C.**: Urea induces the heat shock response in human neuroblastoma cells. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1996, 7, 275.
42. **Malaponte G., Bevelacqua V., Fatuzzo P. et al.**: IL-1beta, TNF-alpha and IL-6 release from monocytes in haemodialysis patients in relation to dialytic age. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2002, 17, 1964.
43. **Marzec L., Liberek T., Chmielewski M. et al.**: Expression of Heat Shock Protein 72 in peritoneal leukocytes is induced by peritoneal dialysis. *Perit. Dial. Int.* 2007, 27, 288.
44. **Mayer M.P., Bukau B.**: Hsp70 chaperones: cellular functions and molecular mechanism. *Cell. Mol. Life. Sci.* 2005, 62, 670.
45. **Mercier P.A., Winegarden N.A., Westwood J.T.**: Human heat shock factor 1 is predominantly a nuclear protein before and after heat stress. *J. Cell. Sci.* 1999, 112 ( Pt 16), 2765.
46. **Morgan L.W., Wieslander A., Davies M. et al.**: Glucose degradation products (GDP) retard remesothelialization independently of D-glucose concentration. *Kidney Int.* 2003, 64, 1854.
47. **Morimoto R.I.**: Regulation of the heat shock transcriptional response: cross talk between a family of heat shock factors, molecular chaperones, and negative regulators. *Genes Dev.* 1998, 12, 3788.
48. **Mueller T., Regele H., Posch M. et al.**: HSP-72 expression in pre-transplant donor kidney biopsies and post-transplant outcome. *Transplantation.* 2004, 78, 292.
49. **Musial K., Zwolinska D., Polak-Jonkisz D. et al.**: [Antibodies against heat shock proteins (HSP) in children with chronic renal failure (CRF) - preliminary results]. *Przegl. Lek.* 2006, 63, (Suppl. 3), 60.
50. **Pockley A.G.**: Heat shock proteins in health and disease: therapeutic targets or therapeutic agents? *Expert Rev. Mol. Med.* 2001, 2001, 1.
51. **Pockley A.G., Shepherd J., Corton J.M.**: Detection of heat shock protein 70 (Hsp70) and anti-Hsp70 antibodies in the serum of normal individuals. *Immunol. Invest.* 1998, 27, 367.
52. **Redaelli C.A., Wagner M., Kulli C. et al.**: Hyperthermia-induced HSP expression correlates with improved rat renal isograft viability and survival in kidneys harvested from non-heart-beating donors. *Transpl. Int.* 2001, 14, 351.
53. **Riordan M., Garg V., Thulin G. et al.**: Differential inhibition of HSP72 and HSP25 produces profound impairment of cellular integrity. *J Am Soc Nephrol.* 2004, 15, 1557.
54. **Riordan M., Sreedharan R., Wang S. et al.**: HSP70 binding modulates detachment of Na-K-ATPase following energy deprivation in renal epithelial cells. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2005, 288, F1236.
55. **Romanucci M., Marinelli A., Sarli G. et al.**: Heat shock protein expression in canine malignant mammary tumours. *BMC Cancer.* 2006, 6, 171.
56. **Schober A., Muller E., Thurau K. et al.**: The response of heat shock proteins 25 and 72 to ischaemia in different kidney zones. *Pflugers Arch.* 1997, 434, 292.
57. **Soti C., Nagy E., Giricz Z. et al.**: Heat shock proteins as emerging therapeutic targets. *Br. J. Pharmacol.* 2005, 146, 769.
58. **Stacchiotti A., Borsani E., Ricci F. et al.**: Bimocinolol ameliorates mercuric chloride nephrotoxicity through recruitment of stress proteins. *Toxicol. Lett.* 2006, 166, 168.
59. **Suzuki S., Maruyama S., Sato W. et al.**: Geranylgeranylacetone ameliorates ischemic acute renal failure via induction of Hsp70. *Kidney Int.* 2005, 67, 2210.
60. **Trieb K., Grubeck-Loebenstien B., Eberl T. et al.**: T cells from rejected human kidney allografts respond to heat shock protein 72. *Transpl. Immunol.* 1996, 4, 43.
61. **Trieb K., Kohlbeck R., Lang S. et al.**: Heat shock protein 72 expression in chondrosarcoma correlates with differentiation. *J. Cancer. Res. Clin. Oncol.* 2000, 126, 667.
62. **Van Why S.K., Hildebrandt F., Ardito T. et al.**: Induction and intracellular localization of HSP-72 after renal ischemia. *Am. J. Physiol.* 1992, 263, F769.
63. **Van Why S.K., Mann A.S., Thulin G. et al.**: Activation of heat-shock transcription factor by graded reductions in renal ATP, in vivo, in the rat. *J. Clin. Invest.* 1994, 94, 1518.
64. **Wang Y.H., Knowlton A.A., Li F.H. et al.**: Hsp72 expression enhances survival in adenosine triphosphate-depleted renal epithelial cells. *Cell Stress Chaperones.* 2002, 7, 137.
65. **Wang Z., Liu L., Mei Q. et al.**: Increased expression of heat shock protein 72 protects renal proximal tubular cells from gentamicin-induced injury. *J. Korean. Med. Sci.* 2006, 21, 904.
66. **Whitley D., Goldberg S.P., Jordan W.D.**: Heat shock proteins: a review of the molecular chaperones. *J. Vasc. Surg.* 1999, 29, 748.
67. **Wright B.H., Corton J.M., El-Nahas A.M. et al.**: Elevated levels of circulating heat shock protein 70 (Hsp70) in peripheral and renal vascular disease. *Heart Vessels.* 2000, 15, 18.
68. **Yokoo T., Kitamura M.**: IL-1beta depresses expression of the 70-kilodalton heat shock protein and sensitizes glomerular cells to oxidant-initiated apoptosis. *J. Immunol.* 1997, 159, 2886.