

Białkomocz kłębuszkowy – wybrane aspekty patofizjologiczne wczoraj i dziś

Franciszek KOKOT¹

Lidia HYLA-KLEKOT²

¹Katedra i Klinika Nefrologii, Endokrynologii i Chorób Przemiany Materii
Kierownik: Prof. dr hab. n. med. Andrzej Więcek

²Chorzowskie Centrum Pediatrii i Onkologii w Chorzowie Oddział Nefrologii Dziecięcej
Kierownik: dr hab. n. med. Lidia Hyla-Klekot

Słowa kluczowe:

- białkomocz
- bariera filtracyjna kłębuszka
- podocyty

Key words:

- proteinuria
- glomerular filtration barrier
- podocytes

Wiedza dotycząca budowy i funkcji bariery filtracyjnej kłębuszka nerkowego uległa w ostatnich latach istotnemu wzbogaceniu dzięki wykryciu warstwy glikokaliksu połączonej ze śródbłonkiem naczyń oraz lepszemu poznaniu budowy i działania warstwy podocytowej i przestrzeni podocytowej. Postępy w tym zakresie są zgodne z dawniejszym poglądem, że bariera filtracyjna kłębuszka nerkowego jest jednostką strukturalną charakteryzującą się selektywnością przepuszczalności zależną od wielkości i odkształcalności białek surowicy krwi oraz od integralności strukturalnej i czynnościowej wszystkich jej warstw. Rola polianionowej struktury kłębuszka nerkowego w kształtowaniu się białkomoczu jest coraz bardziej podważana, chociaż kontrowersyjna. Rola pofiltracyjnej obróbki białek przez cewki nerkowe w powstawaniu białkomoczu jest słabo poznana w poszczególnych glomerulopatiach i wymaga dalszych badań. (NEFROL. DIAL. POL. 2009, 13, 153-156)

Glomerular proteinuria – selective pathophysiological aspects – yesterday and to day

Identification of the endothelial glycocalix and of the structure and function of the podocyte layer and subpodocyte space essentially enriched our knowledge concerning function of the glomerular filtration barrier. Recent findings in this field are consistent with the ancient view that the glomerular filtration barrier is highly size and shape-selective. The role of the polyanionic character of the glomerulus in the pathogenesis of proteinuria is recently object of attack and controversy. Proteinuria is predominantly dependent upon the functional intactness of all layers of the filtration barrier. The role of postfiltration metabolism of proteins by proximal tubular cells in the pathogenesis of final proteinuria is only scarcely elaborated and needs further investigations. (NEPHROL. DIAL. POL. 2009, 13, 153-156)

Pojawienie się białkomoczu jest ważnym objawem, niepokojącym zarówno lekarza jak i chorego. Świadczy o tym chociażby fakt opublikowania prawie 400 prac w roku 2008 poświęconych patogenecie, diagnostyce i leczeniu chorych z białkomoczem lub białkomoczowi w różnych modelach doświadczalnych. To wzrastające zainteresowanie patofizjologią białkomoczu spowodowane jest nie tylko tym, że ucieczka białek z moczem może być przyczyną zmian hemodynamicznych (hipowolemia), wodno-elektrolitowych (obrzęki) i metabolicznych (utrata witaminy D, dyslipemia), hormonalnych (aktywacja układu renina-angiotensyna-aldosteron), immunologicznych (zmniejszenie odporności humoralnej) oraz zaburzeń krzepnięcia (trombofilia), ale również nefrotoksycznym działaniem białek przesączanych w kłębuszkach nerkowych przyspieszających fibrotyzację i zanik miąższu nerkowego. Chociaż białkomocz tylko rzadko jest pochodzenia przednerkowego (przelewowego u chorych z mioglobulinemią, patologicznymi łańcuchami lekkimi immunoglobulin lub z wolną hemoglobinemią) lub zanerkowego (w stanach zapalnych dróg mo-

czowych), to jednak najczęściej jest objawem uszkodzenia miąższu nerkowego, w tym głównie kłębuszków nerkowych, zaś rzadziej cewek nerkowych (wydzielanie białek przez komórki cewek dystalnych, produkty rozpadu białek przesączonych w kłębuszkach ale rozkładanych przez komórki cewek nerkowych).

W roku 2003 opublikowaliśmy stan wiedzy na temat patofizjologii białkomoczu kłębuszkowego w 2002 roku [21]. Obecna praca ma na celu podsumowanie postępów w zakresie patofizjologii białkomoczu kłębuszkowego jakie dokonały się na przestrzeni ostatnich 6-7 lat.

Dla przejrzystości przedmiotem pracy będą następujące zagadnienia:

1. Definicja białkomoczu.
2. Struktura bariery filtracyjnej kłębuszka nerkowego w stanach fizjologicznych:
 - a) warstwa glikokaliksu pokrywająca śródbłonek naczyń włosowatych kłębuszka nerkowego;
 - b) śródbłonek naczyń włosowatych z okienkami (*endothelium fenestratum*);
 - c) błona podstawna kłębuszka nerkowego (GBM);

Adres do korespondencji:
Prof. dr hab. Franciszek Kokot
Klinika Nefrologii SUM
40-029 Katowice, ul. Francuska 20
Tel./Fax: 032-259-14-20
e-mail: nefros@spskm.katowice.pl

- d) przestrzeń podpocytowa;
- e) warstwa podocytów;
- 3. Funkcja bariery kłębuszkowej w warunkach fizjologicznych i patologicznych.

Definicja białkomoczu

Zgodnie z zaleceniami zespołu doradczego *Kidney Disease Outcomes Quality Initiative* (K/DOQI) jako białkomocz (mowa o łącznej ilości wydalanych z moczem białek) określa się wartość wyższą od 200 mg/g kreatyniny lub albuminurię wyższą od 30 mg/d (lub wyższą od 25 mg/g kreatyniny). Postępy w zakresie metodyki oznaczania albumin w moczu sprawiły, że obecnie określa się albuminurię jako marker czynności filtracyjnej bariery kłębuszkowej. Wydalanie albumin w ilości > 30 mg/d lecz < 300 mg/d określa się jako mikroalbuminurię, zaś wartości > 300 mg/d – jako albuminurię. Należy jednak pamiętać, że podane wartości dotyczą górnej granicy zakresu normalnego oraz że średnie wydalanie białka całkowitego z moczem nie przekracza 50 mg/d, zaś albumin – 10 mg/d. Na białka całkowite składają się głównie albuminy, białko *Tamm-Horsfalla* oraz białka niskocząsteczkowe takie jak α -1-mikroglobulina i β 2-mikroglobulina. Białkomocz nasilają takie czynniki jak gorączka, wysiłek fizyczny, pionowa pozycja ciała i ciąża. Toteż proteinurię całkowitą i albuminurię należy oznaczyć w warunkach standardowych (najlepiej po nocnym spoczynku).

Struktura bariery filtracyjnej kłębuszka nerkowego w stanach fizjologicznych

Jeszcze do niedawna uważano, że bariera filtracyjna kłębuszka nerkowego składa się z trzech warstw: z komórek śródbłonka naczyń włosowatych kłębuszka, błony podstawnej kłębuszka oraz z komórek nabłonka zwanych podocytami pokrywających kłębuszek nerkowy od światła przestrzeni *Bowmana*. W ostatnich latach wiadomości dotyczące struktury i czynności bariery filtracyjnej uległy istotnemu wzbogaceniu głównie dzięki wykryciu warstwy glikokaliksu pokrywającej śródbłonek włóscinek kłębuszkowych oraz poznaniu nowych struktur i czynności warstwy podocytów.

Powierzchniowa warstwa pokrywająca śródbłonek od strony światła włóscinek

Do niedawna używane metody wizualizacji poszczególnych struktur bariery filtracyjnej kłębuszka uniemożliwiały uwidocznienie powierzchniowej warstwy pokrywającej śródbłonek. Stanowi ona glikokaliks śródbłonka, złożony z proteoglikanów związanych z ich błoną cytoplazmatyczną. Wykazuje ona grubość 200-400 nm [11,36]. W obrębie tej błony znajdują się białka wydzielane przez komórki śródbłonkowe (np. perlekan, syndekan, werskan) połączone łańcuchami bocznymi glikozaaminoglikanowymi i pokryte białkami osocza (np. albuminami) [12,36]. Błona powierzchniowa pokrywa również (przynajmniej częściowo) „okienka” komórek śródbłonkowych. Przez zadziałanie na tą warstwę powierzchniową neuromidazą znacznie wzrasta przepuszczalność tej warstwy dla albumin oraz zmniejszeniu ulega elektroujemność kłębuszka [9,17,18,38]. Tak więc sądzi się, że powierzchniowa war-

stwa śródbłonka (glikokaliks) wykazuje istotny wpływ zarówno na przepuszczalność jak i ładunek elektryczny bariery filtracyjnej kłębuszka nerkowego.

Śródbłonek naczyń włosowatych kłębuszka

Struktura śródbłonka naczyń kłębuszka nerkowego została względnie dobrze poznana. Komórki te wykazują „okienka” o średnicy 60-100 nm, wśród których większość nie wykazuje błon zamykających ich światło. Ten fakt sugeruje, że okienka te są łatwo przepuszczalne dla wody i składników w niej rozpuszczonych wykazujących średnicę nawet znacznie większą niż cząsteczka albuminy (średnica okienka jest prawie 15-krotnie większa od średnicy cząsteczki albuminy [36]. Dodać jeszcze należy, że okienka komórek śródbłonkowych zajmują aż 20-50% powierzchni ściany włóscinek kłębuszkowych co ma istotny wpływ na funkcję bariery filtracyjnej kłębuszka [cyt. wg 36]. Postępując się jednak specjalną metodyką wizualizacyjną można wykazać, że „okienka” komórek śródbłonkowych są zatkałe czopami glikokaliksu [7,16], co sprawia, że są one przeszkodą dla anionów białkowych osocza, odpychanych przez polianion kłębuszka. Tak więc warstwa śródbłonkowa może stanowić przeszkodę elektrostatyczną dla cząsteczek osocza naładowanych ujemnie. Typowy defekt przepuszczalności warstwy śródbłonkowej stwierdza się u kobiet z preeklampsją [8,24] oraz u chorych z nefropatią cukrzycową [27] spowodowany upośledzoną funkcją troficzną śródbłonkowego czynnika wzrostowego [8,27].

Błona podstawna kłębuszka nerkowego (GBM)

GBM składa się z *lamina rara interna* (przylegająca od zewnątrz do śródbłonkowy) i *externa* (na której spoczywają podocyty) o grubości 20-50 nm każda z nich. Pomiedzy wymienionymi blaszkami znajduje się blaszka gęsta o grubości 50-100 nm. GBM składa się głównie z laminin, proteoglikanów zawierających głównie siarczan heparanu i wiele innych białek strukturalnych [7,10]. Siarczany heparanu wchodzący w skład agniru (wytworzanego głównie przez podocyty) lub perlekanu (syntetyzowanego głównie przez śródbłonek kłębuszka) są istotnymi ogniwami polianionowej struktury GBM [10]. Jak to wykazano w ostatnim czasie usunięcie reszt siarczanu heparanu warunkujących polianionowy charakter bariery filtracyjnej nie wykazuje wpływu na funkcję tej ostatniej [10,13,14] co podważa znaczenie stanu elektrostatycznego kłębuszka w patogenezie białkomoczu. W obrębie blaszki gęstej stwierdza się podobne choć bardziej zagęszczone białka strukturalne występujące w blaszkach rzadkich oraz z włókien złożonych ze spolimeryzowanych monomerów kolagenu IV.

GBM stanowi ważne ogniwo bariery filtracyjnej kłębuszka nerkowego wpływając w istotny sposób na współczynniki przepuszczalności zarówno warstwy śródbłonkowej jak i podocytów [36]. Zarówno defekty wrodzone jak i nabyte syntezy lamininy-beta-2 [4,25] lub kolagenu IV [1] manifestują się m.in. białkomoczem, będącym wyrazem zwiększonej przepuszczalności GBM.

Warstwa podocytowa

Podocyty ze swoimi wypustkami stopowatymi połączonymi między sobą błonami szczelinowatymi stanowią kluczowe ogniwo bariery filtracyjnej kłębuszka nerkowego [12,29] wpływając nie tylko na współczynnik przepuszczalności kłębuszka, ale również na strukturę i czynność błony podstawnej i warstwę śródbłonka naczyniowego [23,29]. Poznano wiele mutacji pojedynczych genów podocytów prowadzących do rozwoju zespołu nerczycowego (mutacje genu kodującego nefrynę, podocynę, białko WT1, białko CD2AP, białko CRIM1, alfa-aktyninę, fosfolipazę C-epsilon) [cyt. wg 23,31]. Badania te sugerują, że wymienione białka czuwają nad integralnością cytoszkieletu i czynnością podocytów [21,22,23]. Ostatnie lata wzbogaciły naszą wiedzę, szczególnie w zakresie genetycznych szlaków regulujących integralność morfologiczną i czynnościową podocytów. Poznano m.in. regulatorową rolę cząsteczek określanych jak mikro-RNA działających jako potranskrypcyjne represory wiążąc translacyjne regiony docelowych genów [35]. Kluczową rolę w ich powstawaniu odgrywa enzym określany jako „*dicer*”. Delecja „*dicera*” jest przyczyną powstawania zmian morfologicznych i czynnościowych bariery filtracyjnej kłębuszka [14,35,37] manifestujących się m.in. białkomoczem. Swoiste mikro-RNA uczestniczą m.in. w patogenezie nefropatii cukrzycowej, zwyrodnienia wielotorbielawatego nerek, guza *Wilmsa* i przekształcania komórek nabłonkowych w komórki mezanchymalne [35]. Podocyty są również miejscem wytwarzania śródbłonkowego czynnika wzrostowego (VEGF), oddziaływującego na czynność śródbłonka naczyń włosowatych kłębuszka [23]. Blokada VEGF przez rozpuszczalny Flt-2 wykazuje korzystny wpływ na glomerulopatię cukrzycową [22]. Nie ulega wątpliwości, że w patogenezie wielu glomerulopatii (glomerulopatia w przebiegu HIV, cukrzycy i inne) podocyty odgrywają istotną rolę. W końcu wspomnieć należy, że podocyty posiadają mechanizmy klirensujące w stosunku do białek (np. IgG), zatrzymanych przez barierę filtracyjną kłębuszka [2]. Ciekawa jest obserwacja, że podocyty mogą stanowić do 50% wszystkich komórek tworzących półksiężyc w obrębie kłębuszka nerkowego [40].

Przestrzeń podpodocytowa

Jak wiadomo od wielu lat podocyty zakotwiczone są w błonie podstawnej kłębuszka wypustkami stopowatymi, te ostatnie zaś połączone są między sobą błonami szczelinowatymi stanowiące ważne ogniwo błony filtracyjnej kłębuszka. Pomiedzy „ciałem” podocyta a ww. błoną znajduje się przestrzeń podpodocytowa zakończona porami wyjściowymi (*exit pore*) wpadającym do przestrzeni *Bowmana*. Ponieważ podocyty wyposażone są w aparat kurczliwy pozwalający na zmiany średnicy porów wyjściowych wydaje się bardzo prawdopodobne, że komórki te mogą stanowić ważny regulator oporu dla przepływu ultrafiltratu kłębuszkowego [11,28]. Można nawet przyjąć, że wzrost ciśnienia w przestrzeni podpodocytowej może być przyczyną nie tylko spadku przesączania kłębuszkowego, ale zwrotnego przepływu ultrafiltratu do światła naczyń

włosowatych kłębuszka. Taki mechanizm mógłby również służyć „przepłukiwaniu” filtru złożonego z błon szczelinowatych, błony podstawnej i warstwy śródbłonka kłębuszkowego [11,28,36]. Drugą składową przestrzeni podpodocytowej jest przestrzeń międzypodocytowa, stanowiąca układ drenażowy kłębuszka dzięki któremu ultraprzesączają się do przestrzeni *Bowmana*. Ta ostatnia jest trzecią składową tzw. przestrzeni moczowej [11,36]. Reasumując należy stwierdzić, że przestrzeń podpodocytowa stanowi istotne ogniwo bariery filtracyjnej kłębuszka nerkowego. Podocyty wyposażone w odpowiednie struktury morfologiczne, sensory wrażliwe na zmiany ciśnienia oraz w aparat kurczliwy wywierają istotny wpływ regulacyjny na wielkość przesączania kłębuszkowego [11,36]. Funkcja podocytów jest niezwykle wrażliwa na wiele czynników uszkadzających sygnalizacyjny aparat tych komórek poprzez wpływ na ich polaryzację [35,38].

Działanie bariery filtracyjnej kłębuszków nerkowych w warunkach fizjologicznych

Zgodnie z do niedawna jeszcze obowiązującymi poglądami o pojawieniu się białkomoczu miały decydować wielkość, ładunek i odkształcalność białek surowicy, integralność morfologiczno-czynnościowa śródbłonka włókniczka kłębuszkowych, grubość i budowa (pęknięcia, tunelizacja) błony podstawnej kłębuszka, liczba i integralność morfologiczno-czynnościowa podocytów (w tym błon szczelinowatych w szczególności), ładunek elektryczny kłębuszka oraz zmiany hemodynamiczne zachodzące w poszczególnym nefronie (wielkość przepływu krwi, przewłókniczkowe ciśnienie hydrauliczne, ciśnienie onkotyczne osocza krwi [7,19,21,26]). Chociaż wydaje się logiczne, że uszkodzenie siła mechanicznego lub elektrostatycznego bariery filtracyjnej kłębuszka zwiększa ryzyko przechodzenia białek osocza do moczu, to wyniki badań ostatnich lat sugerują potrzebę zmiany niektórych poglądów dotyczących patomechanizmów powstawania białkomoczu. Można je streścić w następujących punktach.

- Wbrew opinii niektórych autorów [5,6,33,34] w warunkach fizjologicznych bariera filtracyjna kłębuszka jest mało przepuszczalna dla większości białek osocza [11,12,16,18]. Prawidłowe kłębuszki nerkowe wykazują współczynnik przepuszczalności Θ dla albumin poniżej 0,001, co sugeruje, że tylko niewielkie ilości białka docierają do cewek proksymalnych, gdzie ulegają resorpcji w postaci niezmięnionej lub ulegają biodegradacji przez lizosomy [6,12,17,30].

- W warunkach fizjologicznych do cewki bliższej dociera tylko około 2 g albumin na dobę, które prawie w całości ulegają resorpcji szlakiem transcytozy, w której uczestniczy megalina, lub biodegradacji (w której uczestniczy kubilina) [11].

- Białkomocz ostateczny zależy jest od integralności morfologiczno-czynnościowej wszystkich składowych błon filtracyjnej, w tym najpewniej również od stopnia uszkodzenia polianionowej struktury bariery filtracyjnej uwarunkowanej obecnością podokalyksyny i innych białek sialinowanych [20]. W szczególności zależny jest od

struktury i funkcji warstwy podocytowej (głównie od czynności błon szczelinowatych i trawiennej podocytów) (patrz niżej).

- Rola resorpcyjna cewki proksymalnej w kształtowaniu białkomoczu nie jest wiążąca. Upośledzenie resorpcji lub rozkład białek przez komórki cewkowe może być uwarunkowana nieprawidłową funkcją megaliny lub kubiliny.

- Podocyty wydają się być najbardziej ranliwym ogniwem w patogenezie różnych glomerulopatii.

- Twierdzenie, że białkomocz jest wyrazem głównie upośledzonej funkcji resorpcyjnej cewek nerkowych [5,6] a nie uszkodzenia bariery filtracyjnej, nie znajduje poparcia w wynikach większości badań dotyczących tego problemu.

Funkcja bariery filtracyjnej w stanach chorobowych [patrz piśmiennictwo podane w pracach 7,11,18,19,21,23].

Jak to wynika z badań przedstawionych wyżej, o wielkości i jakości białkomoczu decydują wszystkie warstwy bariery filtracyjnej kłębuszka nerkowego oraz obróbka przesączanych białek przez komórki cewek proksymalnych. W ostatnich latach dostarczono wiele dowodów na to, że szczególną rolę w barierze filtracyjnej odgrywa warstwa podocytowa z przylegającymi do niej przestrzeniami [11,36,38]. Zidentyfikowano wiele białek wytwarzanych przez podocyty (nefryna, podocyna, białko CD2AP, białko ZO-1, alfa-aktynina, aktyna, białko CRIM1 [7,21,31] tworzących strukturę błon szczelinowatych lub cytoskielet podocytów. Uszkodzenie tych struktur białkowych (uwarunkowane genetycznie lub działaniem nefrotoksyn) może być przyczyną dużego białkomoczu. Uszkodzenie warstwy podocytowej może dotyczyć nie tylko struktury i funkcji błon szczelinowatych (są to tzw. podocytopenie) i wypustek stopowatych, ale również ich liczby (podocytopenie) i aktywności metabolicznej. Zmniejszenie liczby podocytów może być przyczyną osłabienia podpory podocytowej, prowadzącej do wybruszenia do przestrzeni *Bowmana* błony podstawnej kłębuszka i do zrostu z nabłonkiem ściennym tej przestrzeni. Ponadto uszkodzone podocyty tracąc swoją polaryzację pośrednio tracąc zdolność oddziaływania na strukturę i czynność warstwy śródbłonkowej i błony podstawnej nerek [39]. Uszkodzenie bariery filtracyjnej pociąga za sobą zwiększony napływ białek do kanalika bliższego nefronu, gdzie konkurują o wiązanie z megaliną i kubiliną, po czym ulegają resorpcji lub metabolizacji przez lizosomy.

Ten etap patogenezy białkomoczu jest najslabiej poznany i wymaga dalszych badań.

Postępy w zakresie patogenezy białkomoczu przyczyniły się do zidentyfikowania niektórych genetycznie uwarunkowanych postaci zespołu nerczycowego (zespół nerczycowy autosomalny recesywny, zespół nerczycowy autosomalny recesywny oporny na glikokortykosteroidy) oraz rodzinnej ogniskowej segmentowej glomerulosklerozy (FSGS) [21,32].

Reasumując przytoczone wyżej fakty można sobie wyobrazić czynność bariery filtracyjnej w następujący sposób.

Polianionowy charakter kłębuszka ner-

kowego wydaje się być słabą przeszkodą w przenikaniu cząsteczek białkowych. Zwraca uwagę polianionowy charakter wszystkich warstw bariery filtracyjnej (glikokaliiks śródbłonka naczyń włosowatych, warstwa śródbłonkowa, błona podstawna kłębuszka, błona szczelinowata warstwy podocytowej i same podocyty, warstwa podpodocytowa). Białka przedostające się przez warstwę glikokaliiks śródbłonka i śródbłonek docierają do GBM i następnie do błon szczelinowatych. Część białek ulega metabolizacji przez podocyty, pozostała zaś ilość dociera do przestrzeni podpodocytowej i stamtąd, przez pory wyjściowe lub kanały międzypodocytowe do przestrzeni *Bowmana*. Z przestrzeni *Bowmana* białka docierają do cewki bliższej, gdzie mechanizmem megalinowym podlegają transcytozie lub transportem kubilinowym rozkładowi przez lizosomy komórek cewkowych. Białkomocz może być wynikiem uszkodzenia bariery filtracyjnej na każdym poziomie upośledzonej funkcji resorpcyjnej cewek nerkowych lub współdziałaniem obu wymienionych mechanizmów. Nieprawdopodobnym wydaje się, by w kłębuszkach nawet chorobowo niezmięzionych dochodziło do swobodnego przesączania białek osoczkowych, następnie resorbowanych przez cewki nerkowe. Inaczej mówiąc białkomocz byłby przede wszystkim wyrazem tubulopatii a nie uszkodzenia bariery filtracyjnej [5,6].

Piśmiennictwo

1. Abrahamson D.R., Isom K., Roach E. et al.: Laminin compensation in collagen alpha (3 (IV) knockout (Alport) glomeruli contributes to permeability defects. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007, 18, 2465.
2. Akilesh S., Huber T.B., Wu H. et al.: Podocytes use FcRn to clear IgG from the glomerular basement membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci USA*, 2008, 105, 967.
3. Chen S., Wassenhove-McCarthy D.J., Yamaguchi Y. et al.: Loss of heparan sulfate glycosaminoglycan assembly in podocytes does not lead to proteinuria. *Kidney Int.* 2008, 74, 289.
4. Choi H.J., Lee B.H., Kang J.W. et al.: Variable phenotype of Pierson syndrome. *Pediatric Nephrol.* 2008, 23, 996.
5. 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.
6. Comper W.D., Haraldsson B., Deen W.M.: JASN debate "normal glomeruli filter nephrotic levels of albumin". *Con. Only minor amounts of albumin cross the highly selective glomerular barrier.* *J. Am. Soc. Nephrol.* 2008, 19, 427.
7. D'Amico G., Bazzi C.: Pathophysiology of proteinuria. *Kidney Int.* 2003, 63, 809.
8. Eremina V., Jefferson J.A., Kowalewska J. et al.: VEGF inhibition and renal thrombotic microangiopathy. *N. Engl. J. Med.* 2008, 358, 1129.
9. Galeano B., Klootwijk R., Manoli I. et al.: Mutation in the key enzyme of sialic acid biosynthesis causes severe glomerular proteinuria and is rescued by N-acetylmannosamine. *J. Clin. Invest.* 2007, 117, 1585.
10. Goldberg S., Harvey S.J., Cunningham J. et al.: Glomerular filtration is normal in the absence of both agrin and perlecan - heparan sulfate from the glomerular basement membrane. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2009, 24, 2044.
11. Haraldsson B., Jeansson M.: Glomerular filtration barrier. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2009, 18, 331.
12. Haraldsson B., Nyström J., Deen W.M.: Properties of the glomerular barrier and mechanisms of proteinuria. *Physiol. Rev.* 2008, 88, 451.
13. Harvey S.J., Jarad G., Cunningham J. et al.: Disruption of glomerular basement membrane charge through podocyte specific mutation of agrin does not

- alter glomerular permselectivity. *Am. J. Path.* 2007, 171, 139.
14. **Harvey S.J., Jarad G., Cunningham J. et al.:** Podocyte - specific deletion of *dicer* alters cytoskeletal dynamics and causes glomerular disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2008, 19, 2150.
 15. **Harvey S.J., Miner J.H.:** Revisiting the glomerular charge barrier in the molecular era. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2008, 17, 393.
 16. **Jarad G., Miner J.H.:** Update on the glomerular filtration barrier. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2009, 18, 226.
 17. **Jeansson M., Björck K., Tenstad O., Haraldsson B.:** Adriamycin alters glomerular endothelium to induce proteinuria. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009, 20, 114.
 18. **Jeansson M., Haraldsson B.:** Glomerular size and charge selectivity in the mouse after exposure to glucosaminoglycan degrading enzymes. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2003, 14, 1756.
 19. **Johnson R.J.:** New insights into the pathogenesis of proteinuria. *Am. J. Kidney Dis.* 2000, 36, 214.
 20. **Kerjaszki D., Sharkey D.J., Farquhar M.G.:** Identification and characterization of podocalyxin - the major sialoprotein of the glomerular epithelial cell. *J. Cell. Biol.* 1984, 98, 1591.
 21. **Kokot F., Ficek R.:** Białkomocznik kłębuszkowy - nowe aspekty patogenetyczne. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2003, 110, 1379.
 22. **Ku C.H., White K.E., Cas A. et al.:** Inducible overexpression of sFlt-1 in podocytes ameliorates glomerulopathy in diabetic mice. *Diabetes* 2008, 57, 2824.
 23. **Mathieson P.W.:** Update on the podocyte. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2008, 18, 206.
 24. **Maynard S., Epstein F.H., Karumaruchi S.A.:** Preeclampsia and angiogenic imbalance. *Ann. Rev. Med.* 2008, 59, 61.
 25. **Miner J.W., Go H., Cunningham J. et al.:** Transgenic isolation of skeletal muscle and kidney defects in laminin beta-2 mutant mice: implications for Pierson syndrome. *Development* 2006, 133, 967.
 26. **Mundel P., Shankland S.J.:** Podocyte biology and response to injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2002, 13, 3005.
 27. **Nakagawa T., Segal M., Croker B., Johnson R.J.:** A breakthrough in diabetic nephropathy: the role of endothelial dysfunction. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2007, 22, 2772.
 28. **Neal C.R., Crook H., Bell E. et al.:** Three-dimensional reconstruction of glomeruli by electron microscopy reveals a distinct urinary subpodocyte space. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2005, 16, 1223.
 29. **Neal C.R., Muston P.R., Njegovan D. et al.:** Glomerular filtration into the subpodocyte space is highly restricted under physiological perfusion conditions. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2007, 293, F1787.
 30. **Norden A.G., Sharratt P., Cutillas P.R. et al.:** Quantitative amino acid and proteomic analysis: very low excretion of polypeptides > 750 Da in normal urine. *Kidney Int.* 2004, 66, 1994.
 31. **Nyström J., Hulténby K., Ek S. et al.:** CRIM1 is localized to the podocyte filtration slit diaphragm of the adult human kidney. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2009, 24, 2038.
 32. **Pollack M.R.:** Inherited podocytopathies: FSGS and nephrotic syndrome from a genetic viewpoint. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2002, 13, 3016.
 33. **Russo L.M., Sandoval R.M., Campos S.B. et al.:** Impaired tubular uptake explains albuminuria in early diabetic nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009, 20, 489.
 34. **Russo L.M., Sandoval R.M., McKee M. et al.:** The normal kidney filters nephrotic levels of albumin retrieved by proximal tubular cells: retrieval is disrupted in nephrotic states. *Kidney Int.* 2007, 71, 504.
 35. **Saal S., Harvey S.J.:** MicroRNAs and the kidney: coming of age. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2009, 18, 317.
 36. **Salmon A.H.J., Neal C.R., Harper S.J.:** New aspects of glomerular filtration barrier structure and function: five layers (at least) not three. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2009, 18, 197.
 37. **Shi S., Yu L., Chiu C. et al.:** Podocyte - selective deletion of *dicer* induces proteinuria and glomerulosclerosis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2008, 19, 2159.
 38. **Singh A., Satchell S.C., Neal C.R. et al.:** Glomerular endothelial glycocalyx constitutes a barrier to protein permeability. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007, 18, 2885.
 39. **Simons M., Hartleben M., Huber T.B.:** Podocyte polarity signalling. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2009, 18, 324.
 40. **Thomer P.S., Ho M., Eremina V. et al.:** Podocytes contribute to the formation of glomerular crescents. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2008, 19, 495.