

Idiopatyczny zespół nerczycowy na podłożu zmian minimalnych – aspekty patogenetyczne „wczoraj i dziś”

Janina TARASZKIEWICZ¹

Lidia HYLA KLEKOT¹

Antoni WYSTRYCHOWSKI²

¹Oddział Nefrologii Chorzowskiego Centrum Pediatrii i Onkologii
Ordynator Oddziału:
Dr hab. n. med. Lidia Hyla Klekot

²Klinika Nefrologii Endokrynologii i Chorób Przemiany Materii Śl.U.M. w Katowicach
Kierownik Kliniki: Prof. dr hab. Andrzej Więcek

Słowa kluczowe:

- idiopatyczny zespół nerczycowy na podłożu zmian minimalnych
- etiopatogeneza
- przepuszczalność bariery filtracyjnej
- patomechanizm białkomoczu

Key words:

- idiopathic minimal change nephrotic syndrome
- etiopathogenesis
- glomerular barrier permeability
- proteinuria patomechanism

Idiopatyczny zespół nerczycowy na podłożu zmian minimalnych (ang. *minimal change nephrotic syndrome - MCNS*) to glomerulopatia niezapalna przebiegająca pod postacią zespołu nerczycowego. Brak zmian histopatologicznych w mikroskopie świetlnym stoi w sprzeczności z niezwykle złożoną i do dziś nie w pełni wyjaśnioną etiopatogenezą zespołu nerczycowego w przebiegu MCNS. Rezultaty wieloletnich badań dowodzą, że bezpośrednią przyczyną wystąpienia białkomoczu w submikroskopowym zapaleniu nerek, jest zwiększenie przepuszczalności bariery filtracyjnej dla albuminy. Jednak dotychczas nie udało się wyizolować określonego czynnika, którego związek z wystąpieniem MCNS zostałby potwierdzony. Postępy w biologii molekularnej w sposób istotny pogłębiły wiedzę o budowie błony filtracyjnej a zwłaszcza roli podocytów w funkcjonowaniu kłębuszka nerkowego. Jednocześnie poznanie złożonych zjawisk immunologicznych, wskazało nową drogę w badaniach nad wyjaśnieniem patomechanizmu białkomoczu nerczycowego. Wielu autorów podkreśla kluczową rolę limfocytów B w patogeniezie zmian minimalnych idiopatycznego kłębuszkowego zapalenia nerek. Mimo poznania mechanizmu zwiększenia przepuszczalności bariery filtracyjnej dla białek i weryfikacji wielu hipotez tłumaczących etiopatogenezę zespołu nerczycowego w przebiegu tej jednostki chorobowej, jej patomechanizm nadal pozostaje niejasny. (NEFROL. DIAL. POL. 2009, 13, 244-249)

Idiopathic minimal change nephrotic syndrome. Pathogenetic aspects – "yesterday and today"

Idiopathic minimal change nephrotic syndrome (MCNS) is a non-inflammatory glomerulopathy with signs of nephrotic syndrome. In this disease, there are no histopathological changes in light microscopy, which contradicts extremely complex and yet not fully explained etiopathogenesis of nephrotic syndrome in course of MCNS. Results of many years of studies show that the increase of glomerular barrier permeability for albumin is the direct cause of proteinuria in submicroscopic nephritis. However, attempts to isolate a single factor whose relation to MCNS development would be proved have failed so far. Progress in molecular biology has significantly increased knowledge of glomerular membrane, especially on the role of podocytes in glomerular function. At the same time, insight into complex immune reactions has revealed a new path to explanation of nephrotic proteinuria patomechanism. Many authors emphasize the key role of B-cells in pathogenesis of minimal changes and idiopathic glomerulonephritis. Despite the discovery of the mechanism of glomerular membrane permeability increase for proteins and the verification of many hypotheses which attempted to explain the etiopathogenesis of nephrotic syndrome associated with this pathologic entity, the pathomechanism of this disease remains unclear. (NEPHROL. DIAL. POL. 2009, 13, 244-249)

Wprowadzenie

Idiopatyczny zespół nerczycowy na podłożu zmian minimalnych (ang. *minimal change nephrotic syndrome – MCNS*) to glomerulopatia niezapalna przebiegająca pod postacią zespołu nerczycowego, charakteryzującego się dużą nawrotowością, dobrą reakcją na sterydoterapię i rzadko prowadzącego do niewydolności nerek (mniej niż 20% chorych).

Rozpoznanie tej jednostki chorobowej

opiera się przede wszystkim na obrazie morfologicznym w mikroskopie świetlnym, jakim jest brak zmian, lub występowanie zmian „minimalnych” w kłębuszkach nerkowych ocenianego biopsjatu.

Choroba zwana również submikroskopowym zapaleniem nerek, dotyczy głównie dzieci, ze szczytem zachorowań w wieku 2-8 lat. Wśród rozpoznawanych do 16 r.ż. pierwotnych kłębuszkowych zapaleń nerek (kzn) glomerulopatia submikroskopowa występuje

Adres do korespondencji:

Janina Taraszkiewicz
Chorzowskie Centrum Pediatrii i Onkologii,
Oddział Nefrologii
41-500 Chorzów ul. Truchana 7
Tel. 032 3490126 fax 032 2415529
e-mail: chcpio.nefro@gmail.com

w 80%, natomiast u dorosłych stanowi ok. 20-25% przypadków idiopatycznego zespołu nerczycowego.

W dzieciństwie występuje dwa-trzy razy częściej u chłopców niż u dziewczynek.

Typowy przebieg kliniczny to pełnoobjawowy zespół nerczycowy o nagłym początku i nawrotowym charakterze. Przewlekły i nawrotowy charakter choroby sprawiają, że ogólna częstość jej występowania sięga 16/100 000, u dzieci poniżej 15 rż. zapadalność wynosi 2-7 zachorowań rocznie/100 000.

W rzadkich przypadkach submikroskopowe zapalenie nerek może występować jako postać wtórna w przebiegu chorób nowotworowych, najczęściej ziarnicy złośliwej, chłoniaków nieziarniczych, raka nerki i innych. Zespół nerczycowy może pojawić się równocześnie z chorobą Hodkina lub ją poprzedzać. Po uzyskaniu remisji chłoniaka zespół nerczycowy zwykle ustępuje. Opisano również zmiany typowe dla obrazu MCNS po stosowaniu niektórych leków (ampicylina, sole litu, nlpz).

Czynnikiem wywołującym może być także alergja pokarmowa [32].

Rozpoznanie choroby ustala się na podstawie symptomatycznego przebiegu klinicznego i braku zmian w obrazie mikroskopowym lub obecności ich „minimalnej” postaci, drogą wykluczenia innych histopatologicznych postaci kłębuszkowego zapalenia nerek.

Patomorfologia „zmian minimalnych”

W mikroskopie świetlnym kłębuszki są prawidłowej wielkości, niekiedy obserwuje się zapalnie poszerzone pętle włócnicek oraz niewielki rozplęm mezangium. Powiększenie rozmiarów kłębuszka oraz nacieki w tkance śródmiąższowej mogą być zwiastunem transformacji w kierunku ogniskowego, segmentalnego szkliwiejącego kzn (ang. *focal and segmental glomerulosclerosis* – FSGS).

Przy masywnym białkomoczu obserwuje się wakuolizację komórek nabłonka cewek bliższych (zwyrodnienie kropelkowo-szkliste), będącą wynikiem absorpcji białek i ustępującą po uzyskaniu remisji. W badaniu immunofluorescencyjnym nie stwierdza się złogów immunoglobulin i dopełniacza (obecność złogów IgM z rozplemem mezangium sugeruje FSGS).

Opisywane przez wielu autorów zmiany morfologiczne w mikroskopie świetlnym u chorych na idiopatyczne zapalenie nerek (zmiany minimalne, rozlany rozplęm mezangium lub ogniskowe segmentalne szkliwienie kłębuszków), należy traktować jako warianty tej samej choroby. Jednocześnie przez lata uważano, że wspólną cechą tych obrazów są widoczne w mikroskopie elektronowym rozlane zmiany w obrębie komórek nabłonka trzewnego (podocytów) w postaci obrzęku, obkurczenia, zlewania się i oddzielania od błony podstawnej ich wyrostków stopowatych [9,25,62].

Według współczesnych kryteriów oceny ultrastruktury kłębuszków nerkowych zlewanie wyrostków stopowatych podocytów jest zmianą nieswoistą, będącą jedynie objawem nerczycowego białkomoczu. W obrazie elektronowym nie stwierdza się również zmian w grubości i strukturze błony podstawnej [41].

W obrębie tkanki śródmiąższowej nie stwierdza się patologii, a opisywane czasem włóknienie, zanik cewek i nacieki komórkowe mają niewielkie nasilenie.

Jeśli zmiany cewkowo-śródmiaższowe są wyraźne, należy brać pod uwagę FSGS, a u chorych w starszym wieku mogą one być wynikiem choroby naczyń [32].

Fenomen bariery filtracyjnej

Brak zmian histopatologicznych w mikroskopie świetlnym stoi w sprzeczności z niezwykle złożoną i do dziś nie w pełni wyjaśnioną etiopatogenezą zespołu nerczycowego w przebiegu MCNS.

Rezultaty wieloletnich badań dowodzą, że bezpośrednią przyczyną wystąpienia białkomoczu w submikroskopowym zapaleniu nerek jest zwiększenie przepuszczalności bariery filtracyjnej dla albuminy.

Postępy w biologii molekularnej w sposób istotny pogłębiły wiedzę o budowie błony filtracyjnej a zwłaszcza roli podocytów w funkcjonowaniu kłębuszka nerkowego. Szczególnie przyczyniło się do tego odkrycie grupy białek wytwarzanych przez podocyty i mutacji genów, które je kodują. Jednocześnie poznanie złożonych zjawisk immunologicznych, wskazało nową drogę w badaniach nad wyjaśnieniem mechanizmów białkomoczu.

Niezaburzone przesączanie kłębuszkowe zależy jest od integralności strukturalnej i czynnościowej błony filtracyjnej składającej się z warstwy komórek śródbłonka włócniczekowego, błony podstawnej oraz warstwy nabłonka trzewnego kłębuszka utworzonego przez podocyty [34].

Komórki śródbłonka naczyń krwionośnych są to komórki z ogromną liczbą okienek, których sumaryczna powierzchnia światła wynosi ok. 50% całkowitej powierzchni śródbłonka. Powierzchnia błony plazmatycznej tych komórek, skierowana do światła naczynia, pokryta jest warstwą ujemnie naładowanego glikokaliksu.

Komórki endotelium wydzielają wiele czynników wazoaktywnych (endotelina, PDGF, NO, prostacyklina), oraz są komórkami docelowymi dla czynników prozapalnych.

Błona podstawna złożona z trzech blaszek, zbudowana jest m.in. z kolagenu IV i V, lamininy, fibronektyny, entaktyny i proteoglikanów z ujemnie naładowanymi grupami siarczanu heparanu (HS): agryny i perlykanu [3].

Blaszka rzadka (jasna) zewnętrzna i wewnętrzna błony podstawnej są utworzone z proteoglikanów (głównie siarczanu heparanu), lamininy 11 i agryny.

Blaszka gęsta, środkowa (ciemna), zawiera spolimeryzowane monomery kolagenu IV (łańcuchy $\alpha 3$, $\alpha 4$, $\alpha 5$). Kompleks integrzyn (winkulina, paksylina, talina oraz dimery $\alpha 3$ i $\beta 1$ integrzyn) łączy aktywne z kolagenem i lamininą 11, a kompleks dystroglikanów (cytoplazmatyczna utrofina, przezbłonowy β -dystroglikan, zewnętrzny α -dystroglikan łączy się z macierzą) z łańcuchem $\alpha 5$ lamininy i agryną [10].

Trzecią warstwę filtru tworzą podocyty w liczbie ok. 550 w jednym kłębuszku.

Podocyty obejmują zewnętrzną powierzchnię błony podstawnej kłębuszka nerkowego, są najbardziej zróżnicowanymi i

największymi komórkami kłębuszka nerkowego. W odróżnieniu od innych komórek nabłonkowych nie mają zdolności proliferacyjnych. W podocycie wyróżnia się trzy strukturalne i funkcjonalne części: ciało komórki, wyrostek większy (główny) i wyrostek stopowaty.

Wyrostek stopowaty zawiera aparat kurczliwy zbudowany m.in. z aktyny, miozyny, aktyniny, taliny, winkuliny i wimentyny. Wyrostek większy natomiast ma dobrze rozwinięty cytoszkielet zbudowany z mikrofilamentów i filamentów pośrednich.

Ciało komórki i wypustki główne są zawieszony w przestrzeni Bowmana, natomiast wyrostki stopowate są „zakotwiczone” w błonie podstawnej kłębuszka.

Pomiędzy wyrostkami stopowatymi znajdują się szczeliny (szerokości 30-40 nm) z rozpiętą w nich błoną szczelinową [3,56].

Błony szczelinowe są najbardziej szczelnym i najważniejszym elementem w funkcjonowaniu bariery filtracyjnej kłębuszka. Zbudowane są z wielu białek, które tworzą funkcjonalny kompleks. Głównymi białkami budującymi i wzmacniającymi błony szczelinowe są nefryna i podocyna [45].

Hipotetycznie przyjmuje się, że nefryna tworzy „szkielet” błony szczelinowej (połączenie „głowa do głowy” dwóch cząsteczek białka „wychodzących” z sąsiednich wyrostków stopowatych), co miałyby odpowiadać modelowi „zamka błyskawicznego” widocznego w mikroskopie elektronowym [48].

W nefrynie wyróżnia się domenę pozakomórkową, przezbłonową i wewnątrzkomórkową. Fragmenty pozakomórkowe tworzą sieć homofilowych i heterofilowych połączeń będących rusztowaniem błon szczelinowych, natomiast fragment wewnątrzkomórkowy oddziałuje z takimi białkami jak CD2AP, podocyna i kinazy, uczestnicząc w przekazywaniu sygnałów z błon szczelinowych do wnętrza podocytów [36].

Podocyna jest integralnym białkiem błonowym i łączy się z cytoplazmatyczną częścią nefryny oraz z dwoma innymi białkami: białkiem związanym z CD2 (*CD2-associated protein* – CD2AP) oraz białkiem podobnym do nefryny, Neph1 [13].

Nefryna i podocyna należą do białek sygnałowych, przekazujących informacje z zewnątrz komórki do jej wnętrza. Prawdopodobnie właściwie oddziaływanie nefryny z podocyną i CD2AP ma zasadnicze znaczenie dla przepływu płynów, elektrolitów i białek przez barierę filtracyjną [52].

Poza wymienionymi w strukturze błony szczelinowej uczestniczą inne białka adhezyjne α -aktynina 4, która wiąże aktywne oraz densyna [29].

Ważnym elementem błon szczelinowych jest również kanał jonowy – TRPC6 (*canonical transient receptor potential 6*). TRPC6 należy do rodziny TRP (transient receptor potential) – kationo-selektywnych kanałów jonowych.

Podrodzina TRPC obejmuje grupę kanałów kationowych, które są istotne dla wzrostu wewnątrzkomórkowego stężenia wapnia w wyniku stymulacji receptorów G i kinazy tyrozynowej. Kanały te tworzą homoi heterotetramery, które mogą oddziaływać z wieloma innymi białkami [47].

Istotną rolę strukturalną spełnia również białko przezbłonowe wyrostków stopowa-

tych podocytów - dystroglikan, które łączy się z lamininą i agryną w błonie podstawnej a wewnątrz podocytów z aktyną poprzez utrofinę [46].

Białko to składa się z przezłonowej podjednostki b oraz pozakomórkowej podjednostki a. Dystroglikan jest odpowiedzialny za utrzymywanie uporządkowanego układu białek błony podstawnej, co wpływa na jej przepuszczalność [33].

Salmon i wsp. przedstawili nowy model budowy bariery filtracyjnej, który obejmuje pięć warstw strukturalnych. W przedstawionym nowym modelu autorzy podkreślają znaczenie powierzchniowej warstwy glikokaliksu na komórkach śródbłonka ESL (endothelial surface layer), którą wyróżniają jako pierwszą funkcjonalno-strukturalną warstwę bariery filtracyjnej oraz piątą warstwę tej konstrukcji w postaci przestrzeni podpodocytarnej SPS (subpodocyte space). Według tych badaczy głównym elementem warstwy ESL jest glikokaliks, pokrywający powierzchnię zewnętrzną komórek śródbłonka, natomiast pokład SPS to obszar „danej” przestrzeni moczowej, pomiędzy wyrostkami stopowatymi podocytów a błoną podstawną, między samymi wyrostkami oraz pomiędzy podocytami a komórkami nabłonka ściennego torebki Bowmana. Zajmująca 60% powierzchni bariery filtracyjnej przestrzeń podpodocytarnej SPS stanowi istotny funkcjonalno-hydrauliczny element tej „fenomenalnej” struktury [50].

Filtrat kłębuszkowy przepływa w sposób ściśle określony, przechodząc kolejno przez wszystkie warstwy bariery filtracyjnej: glikokaliks, okienka śródbłonka, błonę podstawną oraz błony szczelinowe, zamykające szczeliny między wyrostkami stopowatymi podocytów oraz peryferyjną przestrzeń podpodocytarną do układu cewek.

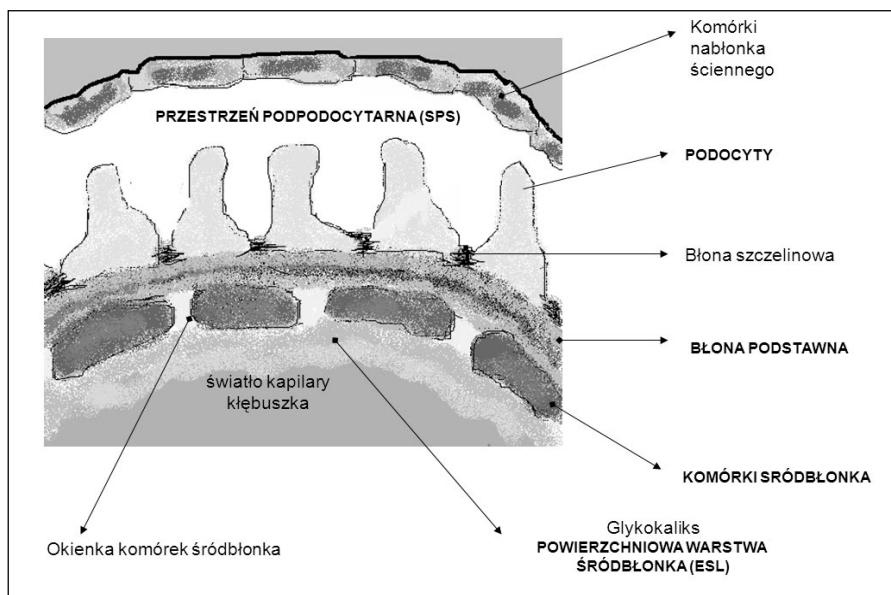
Patogeneza białkomoczu w mcns „wczoraj i dziś”

Poznanie niezwykle precyzyjnej struktury i funkcji błony filtracyjnej wyznacza nowe spojrzenie na "submikroskopowy" patomechanizm zespołu nerczycowego.

Przez wiele lat badań eksperymentalnych nad patomechanizmem białkomoczu uważano, że utrata ładunku ujemnego przez błonę podstawną powoduje zanik odpychania cząsteczek białka (ujemnie naładowanej albuminy) i dlatego przechodzą one do przestrzeni pozanaczyniowej [12,24].

W wysuniętej przez Sewella i Shorta hipotezie polikationowej, utrata ujemnego ładunku była spowodowana krążącym polikationem [53].

Kolejnym wynikiem badań nad charakterem ujemnego potencjału elektrycznego błony podstawnej było ustalenie, że istotą tzw. miejsc anionowych w błonie podstawnej, odpowiedzialnych za blokowanie cząsteczek białkowych jest siarczan heparanu (HS) [9,53,67]. Teoria o zaburzonym wytwarzaniu siarczanu heparanu, była przedmiotem dociekań wielu badaczy (hipoteza enzymatyczna i degradacyjna) [22,57]. Jednak pod koniec XX wieku Regele i wsp. udowodnili, że usytuowanie dystroglikanu, białka przezłonowego wyrostków stopowatych podocytów, aktywnie modeluje organizację białek błony podstawnej, a co za tym idzie jej przepuszczalność [46].



Rycina 1
Struktura bariery filtracyjnej kłębuszka.
Glomerular filtration barrier structure.

Kojima i wsp. wykazali, że połączenia dystroglikanu z lamininą i agryną w błonie podstawnej są bezpośrednio rozszczepiane przez polikation i wolne rodniki tlenowe, oraz że podocyty drogą endocytozy usuwają niezwiązane białka adhezyjne błony komórkowej, co prowadzi do strukturalnej dezorganizacji blaszki jasnej zewnętrznej błony podstawnej. Na tej podstawie opracowano hipotezę, że dystroglikan jest odpowiedzialny za utrzymywanie uporządkowanego układu białek błony podstawnej, co wpływa na jej przepuszczalność [33].

Wijnhoven i wsp. wykorzystując najnowsze możliwości biologii molekularnej udowodnili, że białkomoczu u pacjentów z MCNS (zarówno u dorosłych jak i u dzieci) nie jest związany ze zmniejszeniem ekspresji domen siarczanowych HS w błonach podstawnych kłębuszków nerkowych [67].

Według tych badaczy oraz Singh i wsp. uszkodzenie struktury glikokaliksu endotelialnego skutkuje białkomoczem, a główną determinantą właściwości elektrostatycznych błony włośniczek jest kwas neuraminowy [55,66].

Odkrycie grupy białek wytwarzanych przez podocyty i mutacji genów, które je kodują, wyznaczyło nowe kierunki w badaniach nad wyjaśnieniem powstawania białkomoczu nerczycowego. W oparciu o wyniki swoich badań Jalanko uważa, iż zasadnicze znaczenie w tym procesie odgrywa błona szczelinowa i zidentyfikowane w niej proteiny nefryna i podocyna. Autor wykazał, że u myszy pozbawienie genu nefryny prowadzi do dużej utraty białek surowicy, podczas gdy genetyczny defekt białek błony podstawnej powoduje tylko nieznaczne ich wydalanie. Wskazuje to, że błony szczelinowe mają większe znaczenie niż błona podstawna dla wybiórczej przepuszczalności białek przez filtr kłębuszkowy. Jednocześnie w badaniach na ludzkich nerkach płodowych Jalanko wykazał, że przy braku nefryny nie dochodzi do dojrzewania błon szczelinowych [28]. Wernerson i wsp. w swoich badaniach nad ultrastrukturą bariery filtracyjnej wykazał, że

w MCNS dochodzi do zmiany dystrybucji nefryny w podocytach.

Według tych badaczy nefryna jest rozmieszczona nieregularnie, traci strukturę liniową przybierając postać ziarnistości (granular pattern), a zmiany te nasilone są w miejscach o najbardziej zaawansowanym procesie zlewania się wypustek podocytów. Analiza ilościowa wykazała znaczne zmniejszenie ilości nefryny w nerkach chorych z MCNS w porównaniu z kontrolą, z najmniejszym jej stężeniem w miejscach zlewania się wypustek stopowatych i przemieszczeniem z błony komórkowej do cytoplazmy [66].

W wyniku kolejnych badań ustalono, że za występowanie białkomoczu w MCNS odpowiedzialny jest czynnik krążący, zwiększający przepuszczalność bariery filtracyjnej dla białka. Doświadczalnie wykazano, że istnieje grupa związków, o masie cząsteczkowej ok. 30-50 kDa, z których jedne wykrywane są u pacjentów z MCNS, a inne u chorych z ogniskowym stwardnieniem kłębuszków (FSGS). Ich aktywność w warunkach fizjologii jest równoważona przez działanie ich naturalnych inhibitorów, jakimi są apolipoproteiny E2, E4 i J. Zaburzenie tej równowagi powoduje uszkodzenie błony szczelinowej i białkomocz [16,20,22].

Pośrednim dowodem na istnienie zaburzeń immunologicznych leżących u podłoża MCNS jest kliniczna wrażliwość na leczenie immunosupresyjne.

Jednocześnie brak klasycznych cech immunologicznego zapalenia w obrębie nerki sugeruje, że czynnik wywołujący białkomocz pochodzi spoza niej.

Już w 1974 r. Shalhoub przedstawił hipotezę w myśl, której nercyca lipidowa miałyby być wywołwana przez nieprawidłowy klon limfocytów grasiczozależnych, wydzielających mediatory zwiększające przepuszczalność błony podstawnej kapilarów kłębuszka [37,54,68].

Tej hipotetycznej substancji nadano nazwę VPF (vascular permeability factor) – czynnik zwiększający przepuszczalność naczyń. W badaniach doświadczalnych po-

twierdzono, że osocze dzieci chorujących na idiopatyczny zespół nerczycowy zawiera czynnik zwiększający przepuszczalność błony filtracyjnej kłębuszka [16,37].

Obecnie powszechnie uznana jest hipoteza patogenetyczna zakładająca nadmierną aktywność nieprawidłowego klonu limfocytów T, produkujących czynniki uszkodzające błonę filtracyjną kłębuszka nerkowego i zwiększające jego przepuszczalność dla albuminy. W tym mechanizmie dochodzi do uszkodzenia mikrostruktury kłębuszka przez krążące czynniki przepuszczalności białka [14,16,18,43]. Ich obecność i aktywność wykrywana jest w surowicy chorych z aktywną postacią choroby [20]. Obserwacje kliniczne, takie jak nawrót submikroskopowego zapalenia nerek po transplantacji nerki, oraz liczne badania prowadzone *in vitro* i *in vivo* wykazujące, że osocze chorych na idiopatyczny zespół nerczycowy zawiera czynnik zwiększający białkomoczu, przemawiają także za rolą potencjalnego VPF w patogenezie MCNS [17,18,26,70].

Gandini i wsp. opisali występowanie zespołu nerczycowego u pacjentów, u których stwierdzono gruczolaka jelita, co mogło sugerować, że to czynnik wydzielany przez komórki nowotworowe może być odpowiedzialny za rozwój białkomoczu (nefropatia paraneoplastyczna) [15].

Jednak dotychczas nie udało się wyizolować określonego czynnika, którego związek z wystąpieniem MCNS zostałyby potwierdzone. Podczas ponad 30-letnich badań opisano kilka substancji o cechach VPF, ich rola nie została jednak jednoznacznie określona. Szczególne znaczenie w tym patomechanizmie przypisuje się cytokinom zapalnym, w tym interleukinom oraz czynnikowi wzrostu śródbłonna – VEGF (*vascular endothelial growth factor*) [15,39,64].

Jednak wciąż pozostaje wiele niejasności, co do fizjologicznej roli tej cytokiny i jej udziału w patogenezie kłębuszkowych zapaleń nerek. Trudności interpretacyjne wynikają m.in. z tego, że mamy do czynienia zarówno z krążącą pulą VEGF, jak i jej miejscowym wytwarzaniem w obrębie kłębuszka [8,31,37,43,44,59].

Nadal prowadzone są badania nad udziałem mechanizmów immunologicznych (defekt odpowiedzi komórkowej, zaburzona funkcja limfocytów T) oraz wpływu interleukin i/lub ich receptorów na przepuszczalność bariery filtracyjnej dla białka. [2,7,23]. Za bezpośrednim udziałem limfocytów T w patomechanizmie MCNS przemawiają wyniki prac badawczych, wykazujące wzrost aktywności cytokin produkowanych przez subpopulację limfocytów Th1 i Th2 podczas ostrego nawrotu zespołu nerczycowego [14,71].

Grimbert i wsp. wykazał wzrost aktywności jądrowego czynnika transkrypcyjnego NF- κ B, nasilającego syntezę cytokin w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej u chorych w okresach nawrotu zespołu nerczycowego [23,32].

Ustalono, że glikokortykosteroidy inaktywują czynnik NF- κ B, indukując ekspresję genu dla białka inhibitorowego I κ B α . Zjawisko to nie zachodzi w przypadkach oporności submikroskopowego kzn na glikokortykosteroidy. Skuteczność cyklosporyny A u takich chorych wynika z odmiennego działania, polegającego na hamowaniu degra-

dacji białka I κ B α w proteosomach cytoplazmy [49,63].

Wzrost wytwarzania cytokin w okresach zaostrenia choroby MCNS, dotyczy przede wszystkim cytokin syntetyzowanych przez subpopulację limfocytów Th2 (IL-4,IL-13). [33,39,66]. Pomiędzy limfocytami Th1 i Th2 istnieje pewien antagonizm, limfocyty Th1 wspierają głównie odpowiedź komórkową, natomiast Th2 – odpowiedź humoralną.

Ponadto cytokiny wytwarzane przez Th1 wpływają ujemnie na rozwój komórek Th2 i *vice versa*. Zjawiska te są podstawą polaryzacji immunologicznej, pełniącej kluczową rolę w regulowaniu odpowiedzi odpornościowej.

W badaniach nad dysfunkcją układu immunologicznego w patomechanizmie białkomoczu, autorzy podkreślają znaczenie zaburzeń równowagi w układzie wzajemnych relacji Th1/Th2 oraz potencjalnego związku pomiędzy zwiększeniem aktywności IL-4 i IL-13 (limfokin alergii) a zjawiskiem atopii w przebiegu klinicznym MCNS [1,51,58].

Jednocześnie w wielu pracach udowodniono korelację jednoczesnego występowania u pacjentów z MCNS chorob, u podłoża których leży zaburzenie funkcji limfocytów Th2 (astma, katar sienny) z nadmierną ekspresją limfokin typu interleukiny 4 i 13, bezpośrednio odpowiedzialnych za syntezę IgE dokonującą się w limfocytach B [4,11,40,61]. Podobnie, znaczenie cytokin subpopulacji Th2 w patomechanizmie submikroskopowego kzn potwierdzają badania nad korzystnym wpływem leku immunomodulacyjnego, lewamisolu w leczeniu MCNS. W badaniach doświadczalnych wykazano, że lewamisol wpływa selektywnie na indukcję transkrypcji genów dla IL-18, zwiększając syntezę cytokin produkowanych przez populację Th1, zmniejszając odpowiedź Th2 [13,60].

Müller-Berghaus i wsp. badając wpływ polimorfizmu genu dla IL-12, wykazali istotny wpływ tej cytokiny na doświadczalny model przebiegu klinicznego zespołu nerczycowego na podłożu zmian minimalnych. Interleukina 12 jest głównym czynnikiem indukującym produkcję IFN- γ i odgrywa decydującą rolę w tworzeniu fenotypu limfocytów Th1. Działając stymulująco na Th-0 promuje różnicowanie subpopulacji Th-1, hamując jednocześnie rozwój linii limfocytów Th-2. Autorzy wykazali, że niedobór genetycznej produkcji IL-12, skutkuje zwiększoną ekspresją mediatorów subpopulacji Th-2, co wiąże się z sterydozależnością i zwiększoną nawrotowością w przebiegu MCNS [40].

Dowodem na istnienie zaburzeń immunologicznych u podłoża MCNS, jest kliniczna skuteczność leków immunosupresyjnych (cyklosporyna A, takrolimus), których mechanizm działania polega na hamowaniu aktywacji limfocytów T z blokowaniem transkrypcji i ekspresji genów dla szeregu interleukin (IL-1,IL-3, IL-4), interferonu IFN- γ i innych cytokin (TNF- α , GM-CSF). Ponadto takrolimus hamuje syntezę IL-5 przez komórki CD4+, IL-8 i czynnika VPF, a także obniża ekspresję receptorów dla IL-2, IL-7 i glikokortykosteroidów oraz zależną od limfocytów T pierwotną aktywację limfocytów B [35]. Prowadzone w ostatnich latach, intensywne badania potwierdzają bezpośredni wpływ cytokin na podocyty. Wykazano, że

na powierzchni ludzkich podocytów znajdują się receptory dla IL-4 i IL-13 a działanie tych cytokin powoduje fosforylację białek strukturalnych w podocyty i w konsekwencji dysfunkcję błony filtracyjnej. Ponadto udowodniono, że IL-4 uszkadza połączenia międzykomórkowe [27,1]. Liczne cytokiny, pochodzące od limfocytów Th2 (IL-4,IL-5,IL-13) silnie pobudzają limfocyty B do produkcji przeciwciał. W badaniach nad subpopulacjami limfocytów u pacjentów z nawrotnym zespołem nerczycowym typu „zmian minimalnych” udokumentowano nie tylko zmiany populacji limfocytów T ale również zaburzenia aktywności limfocytów B. Ta immunologiczna dysregulacja może być wtórna do zaburzeń równowagi T komórkowej odporności z dominującą rolą zaburzeń w zakresie limfocytów CD8, zarazem wykazana w badaniach dodatnia korelacja pomiędzy liczbą CD8 a wzrostem IgM ukazuje zależność między komórkową i humoralną odpowiedzią immunologiczną w MCNS [6,30].

Kemper i wsp. w rezultacie badań dzieci, w różnych stadiach choroby, wykazali, że w okresie nawrotu zespołu nerczycowego (MCNS) u nieleczonych dochodzi do wzrostu aktywacji limfocytów B, natomiast w remisji stwierdzono redukcję liczby limfocytów B i komórek CD19+. Jednocześnie autorzy podkreślają wpływ sterydoterapii na dysregulację limfocytów B poprzez wzrost CD19+ i redukcję limfocytów T typu CD4 w sterydozależnym nawrocie choroby i indukowanej sterydami remisji oraz sugerują, że limfopenia CD4 może być wykładnikiem sterydozależności [30].

Aktualne doniesienia naukowe, wskazujące na aktywację limfocytów B w nawrocie białkomoczu i redukcję liczby limfocytów B i komórek CD19 w remisji choroby, mogą sugerować, że czynnikiem uszkodzającym barierę filtracyjną kłębuszka może być toksyczna immunoglobulina wydzielana przez nieprawidłowe limfocyty B, działająca bezpośrednio lub pośrednio poprzez wpływ na limfocyty T i/lub bezpośrednio na podocyty. Współcześnie wielu autorów na podstawie badań i własnych doświadczeń klinicznych z zastosowaniem chimerycznego ludzko-mysiego przeciwciała monoklonalnego (rituximab) w leczeniu idiopatycznego sterydozależnego i sterydoopornego zespołu nerczycowego, wskazuje na kluczową rolę limfocytów B w patogenezie zmian minimalnych idiopatycznego kłębuszkowego zapalenia nerek [5,19,42]. Rituximab wiąże się swoiście z antygenem przezbłonowym CD20, występującym na powierzchni limfocytów B, powodując lizę i śmierć komórki.

Hamuje on CD20 -zależną proliferację i różnicowanie limfocytów B. Komórki macierzyste limfocytów B, nie posiadają antygeny CD20, dlatego też populacja limfocytów B może zostać odbudowana po zakończeniu terapii [35].

Uzyskanie sukcesu terapeutycznego w leczeniu i podtrzymywaniu remisji z zastosowaniem rituximabu może sugerować i jednocześnie potwierdzać znaną rolę limfocytów B w niezwykle złożonej, wieloczynnikowej patogenezie MCNS.

Podsumowanie

Współczesne osiągnięcia dynamicznie

rozwijającej się biologii molekularnej i genetyki pozwoliły na dokonanie w ciągu ostatnich kilku lat przełomowych odkryć w dziedzinie glomerulopatii. Mimo poznania mechanizmu zwiększenia przepuszczalności bariery filtracyjnej dla białek i weryfikacji wielu hipotez tłumaczących etiopatogenezę zespołu nerczycowego w przebiegu tej jednostki chorobowej, jej patomechanizm nadal pozostaje niejasny.

Wiele zjawisk pozostaje jeszcze niewyjaśnionych, by wiedzę o budowie i działaniu bariery filtracyjnej uznać za zamkniętą. Również udział procesów immunologicznych współuczestniczących w regulacji przepuszczalności błony filtracyjnej wymaga doprecyzowania. Należy oczekiwać, że najbliższe lata wyjaśnią te wątpliwości oraz doprowadzą do poznania istoty fenomenu „krążącego czynnika przepuszczalności” oraz swoistości zaburzeń immunologicznych w przebiegu nefropatii zmian minimalnych. Mogłoby to w sposób zasadniczy zmienić postępowanie terapeutyczne, ukierunkowując i poprawiając efektywność leczenia immunosupresyjnego.

Piśmiennictwo

- Acharya B., Shirakawa T., Pungky A. et al.: Polymorphism of the interleukin-4, interleukin-13, and signal transducer and activator of transcription 6 genes in Indonesian children with minimal change nephrotic syndrome. *Am. J. Nephrol.* 2005, 25, 30.
- Akilesh S., Humer T.B., Wu H. et al.: Podocyte use FcRn to clear IgG from the glomerular basement membrane. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 2008, 105, 967.
- Angielski S., Jankowski M., Stępiński J.: Anatomia i fizjologia nerek. W: Książek A., Rutkowski B. *Nefrologia*, Wyd. Czelej Lublin 2004.
- Arkwright P.D., Clark G.: Infantile nephrotic syndrome and atopy. *Pediatr. Nephrol.* 1996, 4, 19.
- Benz K., Dotsch J., Rascher W., Stachel D.: Change in the course of steroid-dependent nephrotic syndrome after rituximab therapy. *Ped. Nephrol.* 2004, 7, 794.
- Berg R.E., Cordes C.J., Forman J.: Contribution of CD8+ T cells to innate immunity: IFN- secretion induced by IL-12 and IL-18. *Eur. J. Immunol.* 2002, 10, 2807.
- Berg J.G., Weening J.J.: Role of the immune system in the pathogenesis of idiopathic nephrotic syndrome. *Clin. Sc.* 2004, 107, 125.
- Boner G., Cox A., Kelly D. et al.: Does vascular endothelial growth factor (VEGF) play a role in the pathogenesis of minimal change disease? *Nephrol. Dial. Transplant.* 2003, 18, 2293.
- Broyer M., Meyrier A., Niaudet P., Habib R.: Minimal change and focal and segmental glomerular sclerosis. In: *Oxford Textbook of Clinical Nephrology*, Cameron J.S., Davison M.A., Grunfeld J.P. et al.: Oxford Med. Pub. 1992, 493.
- Carlson J.A., Harrington J.T.: Laboratory evaluation of renal function. In: *Diseases of the Kidney*, Ed.: Schrier R.W., Gottschalk C.W. Little Brown, Boston, 1992, 361.
- Cho B., Yoon S.R., Jang J.Y. et al.: Up-regulation of interleukin-4 and D23/FcγRII in minimal change nephrotic syndrome. *Pediatr. Nephrol.* 1999, 13, 199.
- Cotran R.S., Rennke H.G.: Anionic sites and the mechanisms of proteinuria. *N. Engl. J. Med.* 1983, 27, 1050.
- Donia A.F., Amer G.M., Ahmed H.A. et al.: Levamisole: adjunctive therapy in steroid dependent minimal change nephrotic children. *Pediatr. Nephrol.* 2002, 5, 355.
- Frank C., Herrmann M., Fernandez S. et al.: Dominant T cells in idiopathic nephrotic syndrome of childhood. *Kidney Int.* 2000, 57, 510.
- Gandini E., Allaria P., Castiglioni A. et al.: Minimal change nephrotic syndrome with cecum adenocarcinoma. *Clin. Nephrol.* 1996, 45, 268.
- Garin E.H.: Circulating mediators of proteinuria in idiopathic minimal lesion nephrotic syndrome. *Pediatr. Nephrol.* 2000, 14, 872.
- Garin E.H., Laflam P.F., Muffly K.: Proteinuria and fusion of podocyte foot processes in rats after infusion of cytokine from patients with idiopathic minimal lesion nephrotic. *Nephron Exp. Nephrol.* 2006, 102, 105.
- Garin E.H., West L., Zheng W.: Interleukin-8 alters glomerular heparan sulfate glycosaminoglycan chain size and charge in rats. *Pediatr. Nephrol.* 2000, 14, 284.
- Gilbert R., Hulse E., Rigden S. et al.: Rituximab therapy for steroid-dependent minimal change nephrotic syndrome. *Ped. Nephrol.* 2006, 11, 1698.
- Glassock R.: Circulating permeability factors in the nephrotic syndrome: A fresh look at an old problem. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2003, 14, 541.
- Goode N.P., Shires M., Davison A.: The glomerular basement charge selectivity: an oversimplified concept. *Nephrol. Dial. Transpl.* 1996, 11, 1714.
- Grenda R.: Steroidooporne i steroidozależne submikroskopowe kłębuszkowe zapalenie nerek. *Nefrol. Dial. Pol.* 2006, 10, 62.
- Grimbert P., Audard V., Remy P. et al.: Recent approaches to the pathogenesis of minimal-change nephrotic syndrome. *Nephrol. Dial. Transpl.* 2003, 18, 245.
- Groffen J. A., Veerkamp J.H., Monnens L.A. et al.: Recent insights into the structure and functions of heparan sulfate proteoglycans in the human glomerular basement membrane. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1999, 14, 2119.
- Habit R.: A story of glomerulopathies: a pathologist's experience. *Pediatr. Nephrol.* 1993, 7, 336.
- Hoyer J.R., Vernier R.L., Najarian J.S. et al.: Recurrence of idiopathic nephrotic syndrome after renal transplantation. *Lancet* 1972, 2, 343.
- Ikeuchi Y., Kobayashi Y., Arakawa H. et al.: Polymorphisms in interleukin-4-related genes in patients with minimal change nephrotic syndrome. *Pediatr. Nephrol.* 2009, 3, 489.
- Jalanko H.: Pathogenesis of proteinuria: lessons learned from nephrin and podocin. *Pediatr. Nephrol.* 2003, 8, 487.
- Kaplan J.M., Kim S.H., North K.M. et al.: Mutations in ACTN4, encoding alpha-actin-4, cause familial focal segmental glomerulosclerosis. *Nat. Genet.* 2000, 24, 251.
- Kemper M., Zepf K., Klaassen I. et al.: Changes of lymphocyte populations in pediatric steroid-sensitive nephrotic syndrome are more pronounced in remission than in relapse. *Am. J. Nephrol.* 2005, 25, 132.
- Kim Y.G., Suga S., Kang D.H. et al.: Vascular endothelial growth factor accelerates renal recovery in experimental thrombotic microangiopathy. *Kidney Int.* 2000, 58, 2390.
- Klinger M., Krajewska M.: Niezapalne choroby kłębuszków nerkowych. W: Książek A., Rutkowski B. (Red.) *Nefrologia*, Wyd. Czelej Lublin 2004, 270.
- Kojima K., Davidovits A., Poczewski H. et al.: Podocyte flattening and disorder of glomerular basement membrane are associated with splitting of dystroglycan-matrix interaction. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2004, 15, 2079.
- Kokot F., Ficek R.: Białkomoczn kłębuszkowy - nowe aspekty patogenetyczne. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2003, 5, 1379.
- Książek J.: Nowe strategie leczenia idiopatycznego, steroidozależnego i steroidoopornego zespołu nerczycowego u dzieci. *Klin. Ped.* 2008, 3, 328.
- Liu X.L., Kilpelainen P., Hellman U. et al.: Characterization of the interactions of the nephrin intracellular domain. Evidence that the scaffolding protein IQGAP1 associates with nephrin. *FEBS J.* 2005, 272, 228.
- Makowiecka M., Zwolińska D., Kiliś-Pstrusińska K.: Rola naczyniowo-śródłonkowego czynnika wzrostu w patogenezie kłębuszkowych zapaleń nerek. *Adv. Clin. Exp. Med.* 2006, 15, 5, 889.
- Mathieson P.: Immune dysregulation in minimal change nephropathy. *Nephrol. Dial. Transpl.* 2003, 18, 26.
- Matsumoto K., Kanmatsuse K.: Elevated VEGF levels in urine of patients with minimal-change nephrotic syndrome. *Clin. Nephrol.* 2001, 55, 269.
- Müller-Berghaus J., Kemper M.J., Hoppe B. et al.: The clinical course of steroid-sensitive childhood nephrotic syndrome is associated with a functional IL12B promoter polymorphism. *Nephrol. Dial. Transpl.* 2008, 23, 3841.
- Niemir Z., Salwa-Zurawska W., Woźniak A., Miller-Kasprzak E.: Klasyfikacja patomorfologiczna kłębuszkowych zapaleń nerek z elementami patogenezy. W: *Kłębuszkowe choroby nerek*. Red: Rutkowski B., Klinger M., MAKmed, Gdańsk, 2003, 113.
- Nozu K., Iijima K., Fujisawa M. et al.: Rituximab treatment for posttransplant lymphoproliferative disorder induces complete remission of recurrent nephrotic syndrome. *Ped. Nephrol.* 2005, 20, 1660.
- Ostalska-Nowicka D., Zachwieja J., Nowicki M. i wsp.: Prawdopodobne parakrynowe oddziaływanie śródbłonkowego czynnika wzrostu naczyń krwionośnych C na wzrost przepuszczalności bariery filtracyjnej kłębuszków nerkowych w zespole nerczycowym u dzieci. *Przegl. Pediatr.* 2006, 36, 210.
- Ostendorf T., Kunter U., Eitner F. et al.: VEGF 165 mediates glomerular endothelial repair. *J. Clin. Invest.* 1999, 104, 913.
- Pavenstadt H.: Roles of the podocyte in glomerular function. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2000, 278, 73.
- Regele H.M., Filipovic E., Langer B. et al.: Glomerular expression of dystroglycans is reduced in minimal change nephrosis but not in focal segmental glomerulosclerosis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2000, 11, 403.
- Reiser J., von Gersdorff G., Loos M. et al.: Induction of B7-1 in podocytes is associated with nephrotic syndrome. *J. Clin. Invest.* 2004, 113, 1390.
- Rodewald R., Karnovsky M.J.: Porous substructure of the glomerular slit diaphragm in the rat and the mouse. *J. Cell. Biol.* 1974, 60, 423.
- Sahali D., Pawlak A., Le Gouvello S. et al.: Transcriptional and posttranscriptional alterations of I kappa B alpha in active minimal-change nephrotic syndrome. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2001, 12, 1648.
- Salmon A.H., 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.
- Salsano G., Esposito M., Graziano L. et al.: Atopy in childhood idiopathic nephrotic syndrome. *Ac. Paed.* 2007, 4, 561.
- Schwarz K., Simons M., Reiser J. et al.: Podocin a raft associated component of the glomerular slit diaphragm interacts with CD2AP and nephrin. *J. Clin. Invest.* 2001, 108, 1621.
- Sewell R.F., Short C.D.: Minimal-change nephropathy: how does the immune system affect the glomerulus? *Nephrol. Dial. Transplant.* 1993, 8, 108.
- Shalhoub R.J.: Pathogenesis of lipid nephrosis: a disorder of T-cell function. *Lancet* 1974, 7, 556.
- Singh A., Satchell S.C., Neal C.R. et al.: Glomerular endothelial glycocalyx constitutes barrier to protein permeability. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007, 18, 2885.
- Smoyer W.E., Mundel P.: Regulation of podocyte structure during the development of nephrotic syndrome. *J. Mol. Med.* 1998, 76, 172.
- Srivastava T., Garola R., Whiting J. Alon U.: Synaptodin expression in idiopathic nephrotic syndrome of childhood. *Kidney Int.* 2001, 59, 118.
- Stachowski J., Barth C., Michalkiewicz J. et al.: Th1/Th2 balance and CD45-positive T cell subsets in primary nephrotic syndrome. *Pediatr. Nephrol.* 2000, 14, 779.
- Sugimoto H., Hamano Y., Charytan D. et al.: Neutralization of circulating vascular endothelial growth factor (VEGF) by anti-VEGF antibodies and soluble VEGF receptor 1 (sFlt-1) induces proteinuria. *J. Biol. Chem.* 2003, 278, 12605.

60. **Sümeği V., Haszom I., Iványi B. et al.**: Long-term effects of levamisole treatment in childhood nephrotic syndrome. *Pediatr. Nephrol.* 2004, 19, 1354.
61. **Takei T., Koike M., Suzuki K. et al.**: The characteristics of relapse in adult-onset minimal-change nephrotic syndrome. *Clin. Exp. Nephrol.* 2007, 3, 214.
62. **Tejani A.**: Morphological transition in minimal change nephrotic syndrome. *Nephron* 1985, 39, 157.
63. **Valanciule A., le Gouvello S., Solhone B. et al.**: NF-kappa B p65 antagonizes IL-4 induction by c-maf in minimal change nephrotic syndrome. *J. Immunol.* 2004, 172, 688.
64. **Webb N.J., Watson C.J., Roberts I.S. et al.**: Circulating VEGF is not increased during relapses of steroid-sensitive nephrotic syndrome. *Kidney Int.* 1999, 55, 1063.
65. **Wei Ch., Cheung W., Heng Ch. et al.**: Interleukin-13 genetic polymorphisms in Singapore Chinese children correlate with long-term outcome of minimal-change disease. *Nephrol. Dial. Transpl.* 2005, 20, 728.
66. **Wernerson A., Duner F., Petterson E. et al.**: Altered ultrastructural distribution of nephrin in minimal change nephritic syndrome. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2003, 18, 70.
67. **Wijnhoven T., Geelen J., Bakker M. et al.**: Adult and pediatric patients with minimal change nephrotic syndrome show no major alterations in glomerular expression of sulphated heparan sulphate domains. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2007, 22, 2886.
68. **Wyszyńska T.**: Hipotetyczna rola zaburzeń czynności limfocytów grasiczozależnych w etiopatogenezie nerczycy lipidowej. *Ped. Pol.* 1979, 54, 427.
69. **Wyszyńska T.**: Idiopatyczny zespół nerczycowy. *Medipress Ped.* 1996, 2, 10.
70. **Yoshizawa N., Kusumi Y., Matsumoto K. et al.**: Studies of a glomerular permeability factor in patients with minimal-change nephrotic syndrome. *Nephron* 1989, 51, 370.
71. **Zachwieja J., Bobkowski W., Zaniew M. i wsp.**: Wewnątrzkomórkowa synteza cytokin jako wykładnik funkcji limfocytów i monocytów u dzieci z I rzutem zespołu nerczycowego. *Pol. Merk. Lek.* 2003, 14, 289.