

Nejen fokálně segmentální glomeruloskleróza, ale i glomeruloskleróza u jiných glomerulopatií je důsledkem kritického úbytku podocytů

Wharram BL, Goyal M, Wiggins JE, et al. Podocyte depletion causes glomerulosclerosis: diphtheria toxin-induced podocyte depletion in rats expressing human diphtheria toxin receptor transgene. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:2941–2952.

Skleróza glomerulů (glomeruloskleróza) se vyskytuje v pokročilých fázích všech glomerulopatií progredujících do terminálního selhání ledvin (tedy nejen fokálně segmentální glomerulosklerózy, ale i diabetické a hypertenzní nefropatie či IgA nefropatie). Podocyty jsou vysoce diferencované buňky podobné neuronům s velmi omezenou schopností replikace a náhrady ireverzibilně poškozených buněk. Podocyty pokrývají zevní povrch glomerulární bazální membrány, kde jsou kromě mechanické podpory také nejvýznamnější součástí bariéry bránící průniku makromolekul do primární moči. Snížení počtu podocytů korelující se stupněm glomerulosklerózy bylo již v minulosti popsáno např. u diabetické nefropatie (Pagtalunan et al., 1997) či IgA nefropatie (Lemley et al., 2002). Podocyty lze také nalézt v moči u pacientů s glomerulosklerózou na podkladě různých primárních nefropatií (Hara et al., 2001). Doklady pro přímý kauzální vztah mezi úbytkem (poklesem počtu) podocytů (podocytopenií) a glomerulosklerózou však dosud chyběly.

V komentované studii využili autoři model transgenických potkanů, kterým byl pod kontrolou pro podocyty specifického promotoru pro podocin vložen gen pro lidský receptor pro toxin záškrtu (difterie). Tento receptor zprostředkující vstup difterického toxinu do buňky je totožný s HB-EGF (heparin vázícím faktorem podobným epidermálnímu růstovému faktoru). Potkani jsou normálně vůči difterickému toxinu rezistentní. Transgeničtí potkani exprimují lidský receptor pro difterický toxin pouze na podocytech, takže difterický toxin vstupuje pouze do podocytů. Vstup i jediné molekuly difterického toxinu do jakékoli buňky (včetně podocytu) vede k ADP ribosylaci elongačního faktoru 2, zástavě proteosyntézy a apoptóze buňky. Autoři ověřili, že podáním různě velké dávky difterického toxinu (0,5–50 µg/kg) intraperitoneálně lze navodit stupňovanou redukci počtu podocytů. Počet podocytů byl určován jednak počítáním buněk s jádry

pozitivními pro protein WT1 specifický pro podocyty, jednak značením buněk protilátkami proti bílkovině GLEPP-1 opět specifické pro podocyty. Ledviny potkanů byly měsíc po podání difterického toxinu vyšetřeny histologicky, histomorfometricky a pomocí imunofluorescenčních a imunoenzymatických metod.

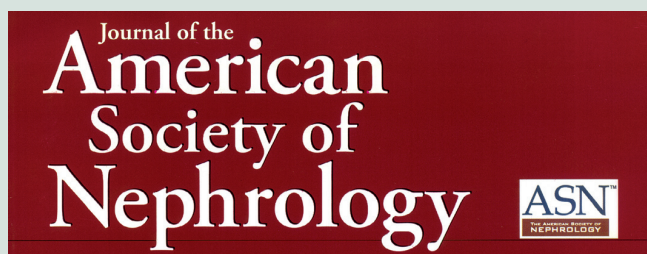
Pomocí protilátek proti HB-EGF bylo možno prokázat distribuci receptoru pro difterický toxin podél zevního povrchu glomerulární bazální membrány ve stejné lokalizaci jako podocytární protein GLEPP-1. Transgeničtí potkani, kteří nedostali difterický toxin, nevykazovali žádné známky morfologického poškození ledvin. V závislosti na dávce podaného difterického toxinu bylo možno prokázat různý stupeň podocytopenie (úbytku WT-1 a GLEPP-1 pozitivních buněk). Paralelní se stupněm podocytopenie byla i velikost proteinurie. Potkany bylo možno na základě stupně podocytopenie, histologických změn, proteinurie a renální funkce rozdělit do tří skupin. Deplece podocytů v rozmezí 0–20 % byla prováděna jen rozšířením mesangia a přechodnou malou proteinurií. Renální funkce zůstávala trvale normální. Deplece podocytů v rozmezí 21–40 % byla histologicky charakterizována kromě rozšíření mesangia také adhezemi mezi obnaženou glomerulární bazální membránou a Bowmanovým pouzdem a segmentální sklerózou v některých glomerulech (tedy FSGS). Potkani s tímto stupněm podocytární deplece měli stále jen malou – ale již trvalou – proteinurii a normální renální funkci. Kritický byl pokles počtu podocytů pod 60 % (deplece podocytů vyšší než 40 %). U těchto potkanů byla kromě histologických změn zmíněných u předchozího stadia přítomna již i globální skleróza glomerulů, proteinurie byla trvalá a nefrotická a renální funkce již byla snížena.

V tomto experimentálním modelu tedy bylo možno jednoznačně prokázat kauzální vztah mezi navozenou deplecí podocytů (podocytopenií) a závažností glomerulární léze, tj. její reverzibilitou či ireverzibilitou a rizikem progresu do terminálního selhání ledvin.

KOMENTÁŘ Prof. MUDr. Vladimír Tesař, DrSc.

Podocytopenie různého stupně je zřejmě přítomna i u všech progresivních glomerulopatií u lidí a stupeň podocytopenie může být i u lidských glomerulopatií nejdůležitějším prognostickým faktorem vzhledem k riziku vývoje terminálního selhání ledvin.

Podocytopenie může i u lidí vznikat primárním poškozením podocytů, a to jak v důsledku geneticky podmíněných změn (mutace některých podocytárních proteinů, např. nefrinu, podocinu či α -aktininu 4), tak virového (HIV, parvoviry) či toxického (heroin) poškození podocytů, častěji je ale asi sekundární poškození podocytů v důsledku glomerulární hypertenze a hypertrofie glomerulů. Zatímco primární ztrátu podocytů v důsledku genetického, toxického či virového



poškození v současné době nelze ovlivnit, mohli bychom ovlivnit ztrátu podocytů vznikající sekundárně v důsledku glomerulární hypertenze, např. dosažením nízkého cílového krevního tlaku, podáváním inhibitorů angiotensin konvertujícího enzymu či antagonistů angiotensinu, event. i nízkoproteinovou dietou.

Více informací o biologii podocytů by mohlo pomoci zasáhnout i přímo do procesu apoptózy podocytů. V modelu 5/6 nefrektomie byla prokázána v sklerotických (a méně i dosud nesklerotických) glomerulech zvýšená tvorba thymosinu $\beta 4$, který hraje důležitou roli v indukci fibrózy, angiogenezi a bojení (Xu et al., 2005). Další informace o genech exprimovaných a proteinech produkovaných sklerotickými glomeruly nebo ještě lépe primárně či sekundárně poškozenými podocyty by mohly být potenciálně využitelné terapeuticky.

Nedávno bylo prokázáno, že kortikosteroidy (dexamethason) působí v experimentu přímo na kultivované myši podocyty a indukují v nich tvorbu některých proteinů, které mohou podocyty před apoptózou chránit (např. ciliary neurotrophic factor, αB -krystalin, nebo heat shock protein 27) (Ransom et al., 2005). Podobně bylo prokázáno u potkanů v modelu nefrotického syndromu navozeného aminonukleosidem puromycinu, že cyklosporin snižuje patologicky zvýšenou expresi proteinu ZO-1 (Kim et al., 2005), který se podílí na vytváření struktury přepážky mezi výběžky podocytů (slit diaphragm). Je možné, že kortikoidy a cyklosporin nenavozují remisi nefrotického syndromu s minimálními změnami glomerulů či fokálně segmentální glomerulosklerózy působením na stále marně hledaný cirkulující permeabilitní faktor tvořený snad lymfocyty T, ale že jejich antiproteinurický účinek souvisí s jejich přímým působením na podocyty.

Nelze tedy pochybovat o tom, že pozornost molekulárních biologů i nefrologů se bude v nejbližší budoucnosti zaměřovat stále více na podocyty. Doufejme, že tento „podocentrický“ posun v pohledu na glomerulární onemocnění přinese v dohledné době prospěch i našim pacientům.

Literatura

- Hara M, Yanagihara T, Kihara I. Urinary podocytes in primary focal segmental glomerulosclerosis. *Nephron* 2001;89:342–347.
- Kim BS, Park HC, Kang SW, et al. Impact of cyclosporin on podocyte ZO-1 expression in puromycin aminonucleoside nephrosis rats. *Yonsei Med J* 2005;46:141–148.
- Lemley KV, Lafayette RA, Safai M, et al. Podocytopenia and disease severity in IgA nephropathy. *Kidney Int* 2002;61:1475–1485.
- Pagtalunan ME, Miller PL, Jumping-Eagle S, et al. Podocyte loss and progressive glomerular injury in type II diabetes. *J Clin Invest* 1997;99:342–348.
- Ransom RF, Vega-Warner V, Smoyer WE, et al. Differential proteomic analysis of proteins induced by glucocorticoids in cultured murine podocytes. *Kidney Int* 2005;67:1275–1285.
- Xu BJ, Shyr Y, Liang X, et al. Proteomic patterns and prediction of glomerulosclerosis and its mechanisms. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:2967–2975.

Cirkulující zánětlivé endotelové buňky mohou přispívat u pacientů s renální vaskulitidou k dysfunkci endotelových progenitorů a progresi onemocnění

Holmen C, Elsbeikh E, Stenwinkel P, et al. Circulating inflammatory endothelial cells contribute to endothelial progenitor cell dysfunction in patients with vasculitis and kidney involvement. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:3110–3120.

U pacientů s různými typy cévního poškození včetně pacientů s vaskulitidou byly již v minulosti prokázány cirkulující endotelové buňky (Woywodt et al., 2003). Tyto cirkulující endotelové buňky lze rozdělit podle povrchových znaků do dvou skupin: a) endotelové progenitorové buňky (EPC), které pocházejí z kostní dřeně a lze je charakterizovat např. membránovou expresí receptoru pro vaskulární endotelový růstový faktor (VEGFR-2) a schopností reendotelizovat poškozené úseky cév; b) zánětlivé endotelové buňky (IEC), které se pravděpodobně uvolňují z poškozených cév a jejich přítomnost v cirkulaci je známkou poškození cévní stěny.

Wegenerova granulomatóza je stejně jako jiné ANCA-asociované vaskulitidy charakterizována přítomností protilátek proti cytoplazmě neutrofilů (ANCA), které zprostředkovávají poškození endotelu aktivovanými neutrofily a také přítomností protilátek proti membráně endotelových buněk (Holmen et al., 2004). Množství cirkulujících zánětlivých endotelových buněk by mohlo být u ANCA-asociované vaskulitidy markerem aktivity cévního zánětu.

Autoři v komentované práci testovali hypotézu, že cirkulující zánětlivé endotelové buňky: 1) jsou fenotypově odlišné od endotelových progenitorových buněk; 2) mohou být markerem aktivity onemocnění; 3) přispívají k progresi onemocnění tím, že navozují dysfunkci endotelových progenitorových buněk.

Byla studována skupina 36 anti-PR3-ANCA pozitivních pacientů (16 s nově diagnostikovaným aktivním onemocněním, 20 v remisi onemocnění) a skupina 20 věkově srovnatelných zdravých dobrovolníků.

Cirkulující zánětlivé endotelové buňky byly charakterizovány jako endotelové buňky exprimující VAP-1 (vaskulární adhezní protein-1) a MICA (MHC class I-related chain A), endotelové progenitorové buňky byly izolovány a kultivovány a charakterizovány mj. pomocí protilátek proti VEGFR-2 a endotelové NO syntáze (eNOS). Byla také testována schopnost VAP-1

Journal of the
**American
Society of
Nephrology**

