

АУТОЗОМНО РЕЦЕСИВНА ПОЛИЦИСТИЧНА БОЛЕСТ БУБРЕГА И КОМПЛЕКС НЕФРОНОФТИЗЕ И МЕДУЛАРНЕ ЦИСТИЧНЕ БОЛЕСТИ БУБРЕГА

Емилија ГОЛУБОВИЋ

Дечја клиника, Клинички центар, Ниш

КРАТАК САДРЖАЈ

Многа истраживања обављена у последњој деценији открила су молекуларну и генетску основу поремећене синтезе протеина, тзв. цистопротеина, локализованих у примарној цилији или базалном телу, као основне поремећаје у настанку цистичних болести бубрега. Аутозомно рецесивна полицистична болест бубрега и комплекс нефронофтизе и медуларне цистичне болести назване су цилиопатијама. Цилија је микротубуларна органела локализована на свим људским ћелијама као механохемосензор. „Цилијарна“ хипотеза у настанку цистичних болести истиче значај протока урина и инфлука калцијума који стимулацијом примарне цилије спречавају цистогенезу. Цилија преносом импулса из околине контролише поларитет и циклус деобе ћелије. Боље разумевање патогенезе настанка болести даће могућност циљане етиолошке терапије, мењањем нивоа калцијума унутар ћелије, инхибицијом синтезе *cAMP* и канонског *WNT* катенинског сигнала.

Кључне речи: цистична болест бубрега; примарна цилија; централозом

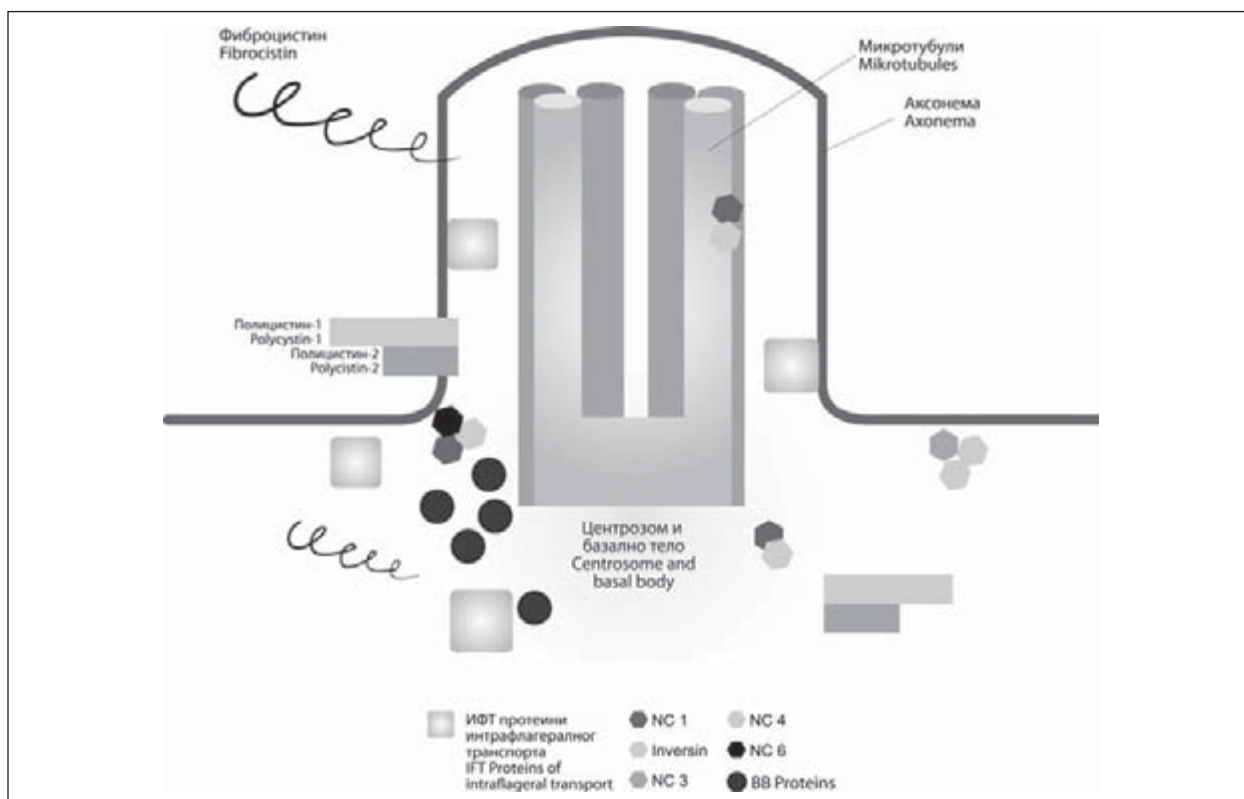
УВОД

Цистичне болести бубрега су клинички и генетски хетерогене болести које се одликују измењеним изгледом тубула и стварањем циста у разним деловима нефрона. Оне могу настати из свих делова нефрона и растом се од њега одвојити, као што је то у аутозомно доминантној полицистичној болести бубрега (АДПББ). У аутозомно рецесивној полицистичној болести бубрега (АРПББ) цисте настају ектазијом сабирних канала, који се умерено дилатирају, али задржавају везу с тубулом од којег настају, док су код нефронофтизе и медуларне цистичне болести цисте локализоване углавном кортикомедуларно. Мутација разних цистопротеина је у основи настанка скоро свих наследних цистичких болести [1-3]. Број откривених цистопротеина се повећава, а њихова улога се прецизира развојем молекуларне биологије. Тренутно је описано више од 30 мутираних цистопротеина, чије познавање открива нове ћелијске механизме настанка цистичне болести бубрега. Најпознатији су полицистин 1 и 2, који су одговорни за развој АДПББ, фиброцистин, који у мутираном облику доводи до развоја АРПББ, нефроцистински комплекс од шестедам нефроцистина мутираних код нефронофтизе и многи други (Слика 1).

Цистопротеини су локализовани у самој цитоплазми, у међућелијским зонама, везама ћелије с матриксом и у примарној цилији. То су механосензорцептори који омогућавају комуникацију ћелија међусобно или с околином [1-4]. Они чине део регулаторних механизма у ћелијској апоптози, пролиферацији, секрецији и успостављању коначног поларитета. Поларизацију ћелије одређује специфични апико-базо-латерални распоред разних мембранских протеина, рецептора, транспортера и фактора раста. Неки од њих

имају исту експресију у феталним и зрелим тубулама (нпр. аквапорини – *AQ2*), али бројни мембрански протеини мењају фетални образац локализације током развоја адултним. Задржавање феталног распореда мембранских рецептора после феталног периода сматра се ћелијском дедиференцијацијом. Процеси дедиференцијације доминирају код цистичне болести бубрега. У феталном тубулу *Na/K* АТП-аза (у облику $\alpha_1\beta_2$ хетеродимера) и рецептор за епителни фактор раста (*EGFR*) локализовани су апикално, са улогом формирања и отварања новог лумена тубула. У створеном тубулу коначна позиција *Na/K* АТП-азе (у адултном облику $\alpha_1\beta_1$) и *EGFR* је на базолатералној мембрани. Њихова базолатерална локализација, уз нормални ниво ћелијског *cAMP*, даје нормалну поларизацију ћелије, с ресорптивним фенотипом тубула, без апикалног пролиферативног одговора, и дозвољава стабилну везу тубулских ћелија с ванћелијским матриксом [1-5]. У рецесивном и доминантном полицистизму тубули неадекватно задржавају феталну локализацију *Na/K* АТП-азе и *EGFR* на апикалној мембрани (Слика 2). Истовремено постоји и аберантна и прекомерна експресија хуманог рецептора за епителни фактор раста (*Her2/neu ErbB2*), са додатним стимулативним ефектима пролиферације. У нормалним условима *cAMP* у тубулској ћелији инхибира пролиферацију, али у АРПББ, уместо антимиогеног, има митогени стимулус, који блиско корелира са смањењем нивоа калцијума у ћелији и повећаном активношћу *Src* фамилије тирозин-киназе [2].

Мутација полицистина 1 или 2 код АДПББ или фиброцистина код АРПББ утиче на смањење нивоа калцијума у ћелији и активира митогене ефекте *cAMP* преко *MEK/ERK* (митогенима активирани протеинкиназе/ванћелијским сигнаlima регулисане киназе) система. Апикална локализација *Na/K* АТП-азе

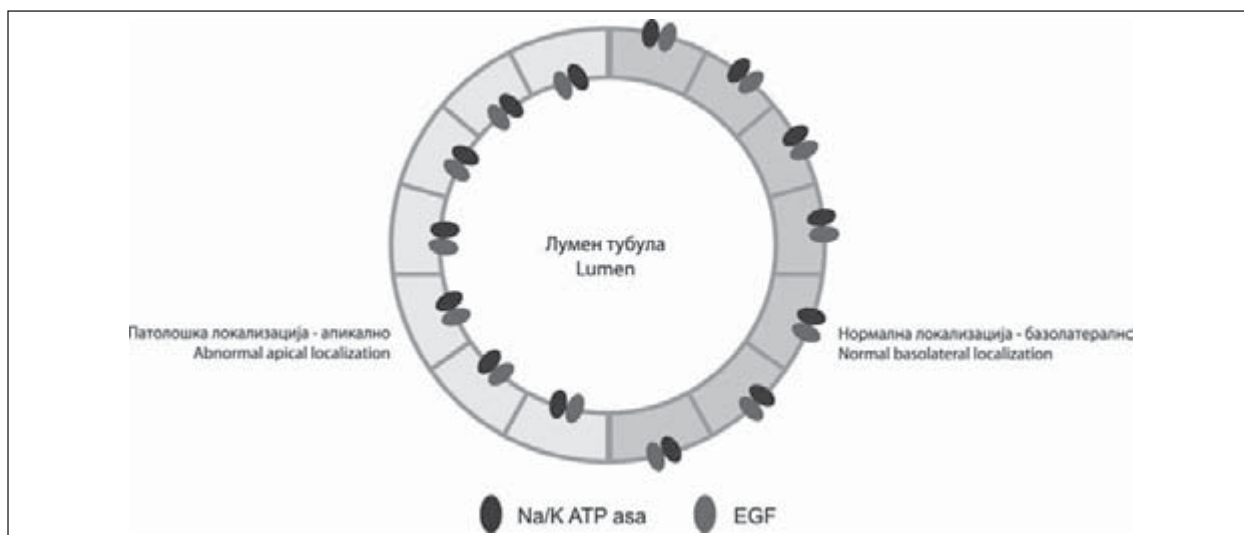


СЛИКА 1. Примарна цилија и цистопротеински комплекс
 FIGURE 1. Primary cilia and cistoprotein complex

и *EGFR* и пролиферативни ефекти *cAMP* повећавају адхезионе везе тубулске ћелије с ванћелијским матриксом и даје ћелији секреторни фенотип уместо ресорптивног [2-4].

Међућелијска интерреакција се углавном одвија преко *E*-кадхерина. У цистично измењеном тубулу доминира фетална изоформа *N*-кадхерина, који с различитим афинитетом везује β -катенин и остале протеине актинског циклуса. Повећана експресија β -катенина изазива цистичну болест бубрега код експерименталних животиња.

Цистопротеини мутирани у АРПББ и комплексу нефронофтизе и медуларне цистичне болести бубрега су углавном локализовани у примарној цилији, што овим болестима даје збирни назив цилиопатије [6, 7]. Примарне, непокретне цилије, конзервиране и доскора заборављене структуре, налазе се на свим хуманим ћелијама осим у ћелијама костне сржи и уметнутим ћелијама сабирних тубула. Спољашња мембрана непокретне, примарне цилије, аксонема, покрива девет пари микротубула распоређених периферно, без централног пара који се налази код покретних цили-



СЛИКА 2. Нормална и патолошка локализација *Na/K* АТП-азе и *EGF*.
 FIGURE 2. Normal and abnormal tubular localization of *Na/K* ATPase and *EGF*.

ја. Примарна цилија расте из базалног тела крај центриоле и центрозома. Њено присуство на површини ћелије указује на то да ћелија није у фази деобе. Пре митозног циклуса примарна цилија се увуче у базално тело из којег потиче. Пренос ванћелијских информација кроз цилију ка центрозома назива се интрафлагеларни транспорт [8]. Цилија која преноси импулсе ка самој ћелији је део њеног механохемосензорног механизма, попут информативних антена које ћелије обавештавају о променама у околини.

АУТОЗОМНО РЕЦЕСИВНА ПОЛИЦИСТИЧНА БОЛЕСТ БУБРЕГА

АРПББ се јавља с преваленцијом од 1 на 20.000 новорођене деце и одликује се комбинацијом билатералних цисти бубрега и фиброзом јетре. Највећи број оболелих особа открива се у раном неонаталном периоду. Доминирају велики ехогени бубрези испуњени микроцистама, који својом масом могу да ометају порођај [9]. Код 45% ових болесника по рођењу се дијагностикују и хепатомегалија и хипоплазија плућа, која настаје услед олигоамниона, који прати АРПББ. Амниоинфузија се описује као део пренаталне терапије. У неонаталном периоду смртност је већа од 30%, до узраста од 10 година код 75% болесника се развије хронична инсуфицијенција бубрега (ХИБ), а код само 18% болесника функција бубрега се очува до 18. године [9, 10].

Променљивост у клиничкој слици болести у виду перинаталног, неонаталног, инфантилног или јуvenilног облика раније је упућивала на генетску хетерогеност. Данас је ова клиничка подела застарела. Мутације гена *PKHD1* на хромозому *br21.1*, који кодира синтезу полидуктина и фиброцистина, одговорне су за настанак свих клиничких облика АРПББ [9-12] с алелском, а не генском хетерогеношћу.

Током периода фетуса и раном дечјем узрасту бубрези су велики, ехогени, без уобичајене кортикомедуларне диференцијације. С растом детета величина бубрега није више тако доминантна. Код адолесцената се налазе већи, али не и превелики бубрези, са микроцистама. Јетра је захваћена код свих болесника, а честа је инверзија у степену оштећења јетре и бубрега. Портна хипертензија у неонаталном периоду се јавља и до 50% [13, 14]. Конгенитална хепатична фиброза, билијарна дизгенезија, цистични и тортуозни портни простори са фиброзом компликују се временом портном хипертензијом, асцедентним холангитисом, вариксима једњака и хиперспленизмом. У клиничкој слици истичу се неспецифични симптоми анемије, полиурије, слабог напредовања, честе уринарне инфекције, електролитни поремећаји, знаци портне хипертензије.

Ген *PKHD1* има 469 *kb*, 86 ексона и кодира синтезу протеина полидуктина и фиброцистина од око 4.000 аминокиселина. Потпуна инактивација оба алела до-

води до смрти фетуса, док велики број разних мутација даје алелску хетерогеност у каснијој клиничкој експресији. Комплекс полидуктина и фиброцистина је експримиран доминантно у примарној цилији, базалном телу, делом и у адхерентним везама међу ћелијама [2, 9, 10]. Сматра се делом сензорног система примарне цилије и учествује у интрафлагеларном транспорту [8]. Коекспресија уз *SAML* (енгл. *calcium modulating cyclophilin ligand*) потенцира његову улогу у модулацији преноса калцијума у ћелији [15]. Заједно с полицистинима утиче на инфлукс калцијума, понашајући се као хемомеханорецептор. Проток урина, механичким стресом активира калцијумске канале и доводи до инфлука калцијума. Висок ниво калцијума у ћелији активира бројне транскрипционе факторе у језгру. Мутација фиброцистина ремети инфлукс калцијума, смањује активност фосфодиестеразе, а стимулише аденил-циклазу 6 и знатно повећава ниво *sAMP* у ћелији. Смањен ниво калцијума у ћелији, повишен ниво *sAMP* и рецептора за вазопресин могу стимулирати цистогенезу. Код особа оболелих од АРПББ постоји неадекватна, апикална локализација како *EGFR*, тако и *Na/K* АТП-азе. Апикални положај *EGFR* и појачан одговор на *EGF* даје тубулској ћелији склоност ка пролиферацији, а нетипична локализација *Na/K* АТП-азе секреторни фенотип уместо ресорптивног [3]. Фиброцистин се сматра транскрипционим фактором за хепатички нуклеарни фактор бета.

У пренаталном периоду сумњу на АРПББ ствара типична ехосонографска структура и величина бубрега фетуса, са микроцистама пречника до 4 *mm*, које нису обавезан налаз. Генетска потврда је доступна у неколико центара у Европи.

У неонаталном периоду основ лечења су респираторна потпора и корекција поремећаја електролита. Некада су неопходне једнострана или обострана нефректомија и следствена дијализа уколико бубрези својом величином угрожавају новорођенче. Касније су потребни корекција анемије, адекватна нутритивна потпора, примена *ACE*-инхибитора у лечењу хипертензије, односно антибиотика код холангиолитиса. Портокавални шант и склерозантна терапија варикса једњака су неопходни код портне хипертензије.

Описани су покушаји лечења инхибиторима *EGFR* или *EGF* тирозин-киназе, антагонистима рецептора тип 2 за вазопресин и *sAMP*, али још нису завршена клиничка истраживања која би одобрила њихову примену код деце [9].

НЕФРОНОФТИЗА И МЕДУЛАРНА ЦИСТИЧНА БОЛЕСТ БУБРЕГА

Комплекс нефронофтизе и медуларне цистичне болести бубрега се јавља с преваленцијом од 1:50.000. Иако је реч о ретком обољењу, нефронофтиза је најчешћа генетска болест у настанку ХИБ. Одликује се тубулским и гломеруларним цистама, које су превасход-

но локализоване кортикомедуларно, оштећењем базалне мембране тубула, тубулоинтерстицијским инфилтратима и фиброзом [16, 17].

Нефронофтиза је аутозомно рецесивна наследна болест, са широким спектром клиничке експресије. Према времену развоја ХИБ, описују се инфантилни, јувенилни и адолесцентни облик ове болести. Код инфантилног облика веома рано се, већ у прве три године, развија ХИБ, а у бубрезима који су нормалне величине постоји велики број циста паренхима. Код јувенилног и адолесцентног облика циста паренхима има мало, а ХИБ се развија око 10, односно 20. године.

Анемија, полиурија, застој у расту, одсуство хипертензије или едема често не упућују на обољење бубрега. Секундарна енуреза се јавља код 80% болесника, обично у предшколском узрасту. Бројне екстра-реналне манифестације доминирају клиничком сликом (*situs inversus*, пигментни ретинитис, фиброза јетре и др).

Нефронофтиза настаје мутацијом гена који кодирају синтезу нефроцистина 1-7 (*NC1-7*). Мутација у синтези *NC2*/инверсина даје инфантилни тип болести. Јувенилни облик нефронофтизе настаје мутацијом *NC1*, *NC4* и *NC5*, а адолесцентни мутацијом *NC3* [16-18]. Први опис генске мутације дао је Хилдебрант (*Hildebrandt*) са сарадницима 1993. године, на хромозому *2q12-13*, за *NC1*, који се јавља код око 60% нефронофтиза. Генски локуси за нефронофтизу 2 и 3 су касније откривени на хромозомима *9q22-31* и *3q21-222*, а за нефронофтизу 4 и *SLS4* (нефроцистин-нефроретинин) на *11p36*.

Нефроцистини су ћелијски и цилијарни модулатори, локализовани углавном у примарној цилији и центрозоном комплексом, нешто мање на међућелијским адхерентним везама (Слика 1). *NC2* и *NC4* чине конститутивни део аксонеме примарних цилија и учествују у интрафлагеларном преносу, *NC2*, *NC4* и *NC6* локализовани у центрозоми чине део регулаторног механизма деобног циклуса ћелије [19, 20]. Најјача експресија настаје током ране профазе, док је у метафазе и анафазе експресија поларна на деобном вретену. Истиче се улога *NC2*/инверсина у регулацији поларизације и сазревања ћелије, а као поремећај поларизације и оријентације ћелије описује се *situs inversus*. *NC 1*, 3 и 4, локализовани заједно с осталим фокалним адхезионим молекулима на међућелијском споју (уз тензин, фокалну адхезиону киназу, катенин и многе друге), регулишу везе међу ћелијама.

Током нефрогенезе први створени урин протоком кроз тек формиран тубул снажно стимулише синтезу *NC2*/инверсина. Он блокира дотад доминантну везу *WNT* и катенина, у којој је катенин заштићен од разградње ензима, стабилан и слободно се транслоцира у језгро. Стабилна катенинска веза је неопходна у раној тубулогенези, док касније већи ниво катенина у ћелији може бити одговоран за формирање цистичне ектазије. *NC2*/инверсин и инфлукс калцијума прекидају везу *WNT* и катенина, а ослобођени кате-

нин се лако денатурише калпаинским путем [21]. Пред протока урина и повећања нивоа калцијума у ћелији, смањује се β -катенински сигнал, а катенин враћа из језгра у цитоплазму, где ће се лакше разградити. С друге стране, *cAMP* стабилизује везу *WNT* и катенина. Протеин-киназе А и Б, чији су нивои повећани услед утицаја *cAMP*, ометају сазревање и поларизацију ћелије. У многим експерименталним терапијским студијама покушава се да се смањењем нивоа *cAMP* у ћелији или повећањем нивоа калцијума утиче на стварање цисти.

Манифестације нефронофтизе ван бубрега јављају се на очима, јетри и централном нервном систему (ЦНС) [16, 18, 21]. Пигментни ретинитис уз нефронофтизу – Сениор-Локен (*Senior-Løken*) синдром – код свих болесника прати мутацију *NC 5* и 6, а само у 10% мутацију *NC 1*, 2, 3 и 4. Аплазија вермикса церебелума – Жобер (*Joubert*) синдром – даје у клиничкој слици атаксију, очни колобом, психомоторну ретардацију, док се на *СТ* снимку уочавају проминенција горњих церебеларних педункулуса типа знака молара (енгл. *molar tooth sign*), затим Коганову (*Cogan*) окуломоторну апраксију и фиброзу јетре, која углавном прати мутацију *NC3*, док мутација *NC2* некада може изазвати само повећање вредности трансминаза у серуму [22].

NC5 и *NC6* су експримирани у цилијама фоторецептора, олфакторних рецептора у холангиоцитима, а *NC6* је одговоран за развој ЦНС и ретине. Експресија у разним органима даје слику фенотипске плеотиције која прати нефронофтизу [16, 18].

Клинички препознатљив синдром Барде-Бидл (*Bardet-Biedl*), који одликују гојазност, полидактилија, хипогонадизам, низак *IQ*, некада пигментни ретинитис и дијабетес, има у 70% случајева патохистолошке промене бубрега типичне за нефронофтизу. Наслеђује се аутозомно рецесивно, а досад је откривено 10 *BB* гена на разним хромозомима. За клиничко испољавање болести потребна је мутација бар два *BB* гена. Сви мутирани *BB* протеини налазе се у базалном телу, центрозоми и примарној цилији. Постоји коекспресија генских производа у *BB* синдрому и нефронофтизи.

Медуларна цистична болест бубрега (МЦББ) се клиничком и патохистолошком сликом не разликује од нефронофтизе, али се наслеђује доминантно. ХИБ се развија касније, после треће деценије живота, а од екстра-реналних симптома испољавају се само гихт и хиперурикемија. Тиме наличи на фамилијарну јувенилну хиперурикемијску нефропатију (ФЈХН), која нешто раније води у инсуфицијенцију бубрега и најчешће нема медуларне цисте. Има описа МЦББ с раним обликом ХИБ и без медуларних цисти. Мутација на хромозому *1q21* изазива тип 1 ове болести, а мутација на хромозому *16p12* тип 2. Генетска подлога развоја ФЈХН је такође на хромозому *16p* и кодира синтезу уромодулина. Генска мутација у синтези уромодулина откривена је код МЦББ тип 2 и ФЈХН,

што потврђује да су ове две болести алелске варијације у мутацији истог гена – *UMOD*.

ЗАКЉУЧАК

Иако се сматрају ретким болестима, цистичне болести бубрега које настају мутацијом гена за цистопротеине локализоване у примарној цилији, базалном телу и центрозоми су, захваљујући развоју молекуларне биологије и генетике, приближиле нефролозима патогенетске механизме њиховог настанка и олакшале разумевање како клиничких манифестација, тако и могућности лечења у будућности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Wilson P, Goilav B. Cystic disease of the kidney. *Annu Rev Pathol Mech Dis* 2007; 2:341-68.
2. Avner E, Sweeney W. Renal cystic disease, new insights for the clinician. *Pediatr Clin N Am* 2006; 53:889-09.
3. Wilson P. Polycystic kidney disease. *N Engl J Med* 2004; 350:151-64.
4. Guay-Woodford L. Renal cystic disease: diverse phenotypes converge on the cilium/centrosome complex. *Pediatr Nephrol* 2006; 21:1369-76.
5. Simons M, Walz G. Polycystic kidney disease: cell division without a c(l)ue. *Kidney Int* 2006; 70:854-64.
6. Yoder B. Role of primary cilia in the pathogenesis of polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18:1381-8.
7. Ong AM, Wheatley DN. Polycystic kidney disease, the ciliary connection. *Lancet* 2003; 361:774-6.
8. Pazour G. Intraflagellar transport and cilia dependent renal disease, the ciliary hypothesis of polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:2528-36.
9. Torres W, Harris P. Mechanisms of disease: autosomal dominant and recessive polycystic kidney diseases. *Nat Clin Pract Nephrol* 2006; 2:40-55.
10. Torres W, Harris P. Polycystic kidney disease, genes, proteins, animal models, disease mechanisms and therapeutic opportunities. *J Intern Med* 2007; 261:17-31.
11. Menezes LF, Onuchic LF. Molecular and cellular pathogenesis of autosomal recessive polycystic kidney disease. *Bras J Med Biol Res* 2006; 39:1537-48.
12. Zerres K, Schoneborn R, Senderek J, Eggermann T, Bergmann C. Autosomal recessive polycystic kidney disease (ARPKD). *J Nephrol* 2003; 16:453-8.
13. Schneider BL, Magid MS. Liver disease in autosomal recessive polycystic kidney disease. *Pediatr Transplant* 2005; 9:634-9.
14. Bergmann C, Senderek J, Windelen E, et al. Clinical consequences of PKHD1 mutation in 164 patients with autosomal recessive polycystic kidney disease. *Kidney Int* 2005; 67(3):829-48.
15. Nagano J, Kitamura K, Hujer KM. Fibrocystin interacts with CAML, a protein involved in Ca(2+) signaling. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 338(2):880-9.
16. Hildebrandt F, Zhou W. Nephronophthisis associated ciliopathies. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18:1855-71.
17. Guay-Woodford LM. Renal cystic disease; diverse phenotypes converge on the cilium/centrosome complex. *Pediatr Nephrol* 2006; 21:1369-77.
18. Sculari F, Ghiggeri GM. Nephronophthisis – medullary cystic kidney disease: from bedside to bench and back again. *Saudi J Kidney Dis Transplant* 2003; 14:316-27.
19. Yoder BK. Role of primary cilia in the pathogenesis of polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18:1381-8.
20. Mollet G, Silberman F, Delous M, Salomon R, Antignac G, Saunier S. Characterization of the nephrocystin/nephrocystin 4 complex and subcellular localisation of nephrocystin 4 to the primary cilia and centrosomes. *Hum Mol Genet* 2005; 14:645-56.
21. Benzing T, Simons M, Walz G. Wnt signaling in polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18:1389-98.
22. Louie C, Gleeson J. Genetic basis of Joubert syndrome and related disorders of cerebellar development. *Hum Mol Genet* 2005; 14:R235-R242.

AUTOSOMAL RECESSIVE POLYCYSTIC KIDNEY DISEASE AND COMPLEX NEPHRONOPHTHISIS MEDULLARY CYSTIC DISEASE

Emilija GOLUBOVIĆ
Children's Hospital, Niš

ABSTRACT

Research during the past decade has led to the discovery that defects in some proteins that localize to primary cilia or the basal body are the main contributors to renal cyst development. Autosomal recessive polycystic disease and nephronophthisis- medullary cystic kidney disease are named ciliopathies. The cilium is a microtubule-based organelle that is found on most mammalian cells. Cilia-mediated hypothesis has evolved into the concept of cystogenesis, cilia bend by fluid initiate a calcium influx that prevents cyst formation. Cilia might sense stimuli in the cell environment and

control cell polarity and mitosis. A new set of pathogenic mechanisms in renal cystic disease defined new therapeutic targets, control of intracellular calcium, inhibition of cAMP and down regulation canonical Wnt signaling.

Key words: renal cystic disease; primary cilia; centrosome

Emilija GOLUBOVIĆ
Majakovskog 19, 18000 Niš
E-mail: golubovic@bankerinter.net