

© А.В.Смирнов, 2010
УДК 616.611-002-08.332

А.В. Смирнов^{1,2}

ЛЕЧЕНИЕ ГЛОМЕРУЛОПАТИЙ ЦИКЛОСПОРИНОМ: ПРАВИЛЬНЫЙ ПОДХОД С НЕВЕРНЫМ ОБОСНОВАНИЕМ

A. V. Smirnov

GLOMERULOPATHY TREATMENT BY CYCLOSPORINE: THE RIGHT APPROACH WITH THE WRONG RATIONALE

¹Кафедра пропедевтики внутренних болезней, ²Научно-исследовательский институт нефрологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

В настоящее время мы являемся свидетелями процесса выхода практической медицины на новый виток своего развития. В мировой медицинской науке создана и набирает силу новая концепция «персонализированной медицины». Основу такой медицины XXI века составляют успехи генетики (фармакогенетики), молекулярной биологии, биохимии, физиологии (экспериментальные исследования). Ярким примером этому может служить почти 30-летняя история изучения вопроса об эффективности применения циклоспорина в лечении нефропатий. Сейчас можно считать доказанным, что циклоспорин действует не только на иммунокомпетентные клетки, но способен восстанавливать сложную структурно-функциональную организацию подоцитов, существенно повреждающуюся при гломерулопатиях разного генеза. В настоящее время все большее число исследователей склоняются к мысли о том, что при ряде нефропатий (стероидрезистентная болезнь минимальных изменений, мембранозная нефропатия, фокально-сегментарный гломерулосклероз) комбинация циклоспорина с низкими дозами глюкокортикоидов может и должна рассматриваться в качестве терапии первой линии.

Ключевые слова: циклоспорин, подоциты, гломерулопатии, лечение.

ABSTRACT

Currently, we are witnessing the process practical medicine growing to a new stage in its development. In the world of medical science is created and gaining its strength a new concept of «personalized medicine». On the basis of such medicine lie the 21st century advances in genetics (pharmacogenetics), molecular biology, biochemistry, physiology (experimental studies). A striking example is the nearly 30-year history of research on the effectiveness of cyclosporine in the treatment of nephropathy. It can now be considered proven that cyclosporine acts not only on immunocompetent cells, but is able to restore the complex structural and functional organization of podocytes significantly damaged during glomerulopathies of different genesis. Currently, an increasing number of researchers are inclined to think that in a number of nephropathies (steroid resistant minimal changes disease, membranous nephropathy, focal segmental glomerulosclerosis) a combination of cyclosporine with low-dose glucocorticoids can and should be treated as first-line therapy.

Key words: cyclosporine, podocytes, glomerulopathy, treatment.

ВВЕДЕНИЕ

Цель данной статьи состоит не в том, чтобы еще раз проанализировать данные клинических исследований, которых, кстати, накопилось немало в литературе, свидетельствующих о высокой эффективности применения циклоспорина при различных гломерулопатиях. К этой теме обращались не раз самые маститые ученые. На основе международного консенсуса были разработаны клинические алгоритмы и рекомендации по применению циклоспорина при нефропатиях [1]. В отечествен-

ной литературе только в текущем году были опубликованы обзоры Л.В. Козловской [2] и Е.В. Захаровой, Л.С. Бирюковой [3]. Авторы последних двух работ настолько подробно, в том числе и в историческом аспекте [2], обрисовали проблему, что практически полностью исчерпали тему, касающуюся оценки эффективности применения циклоспорина при первичных и вторичных гломерулярных болезнях. Автор данных строк, при всем своем желании, ничего не смог бы добавить нового к уже сказанному.

Причинами возврата к «старой» теме в данной статье послужили: во-первых, новые сведения о роли подоцита в происхождении гломерулярной протеинурии. Во-вторых, современные представления

Смирнов А.В. 197022, Санкт-Петербург, ул. Л.Толстого, д. 17, СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова, корп. 54, кафедра пропедевтики внутренних болезней. Тел.: (812) 234-01-65; Факс: (812) 234-65-30; E-mail: smirnov@nephrolog.ru

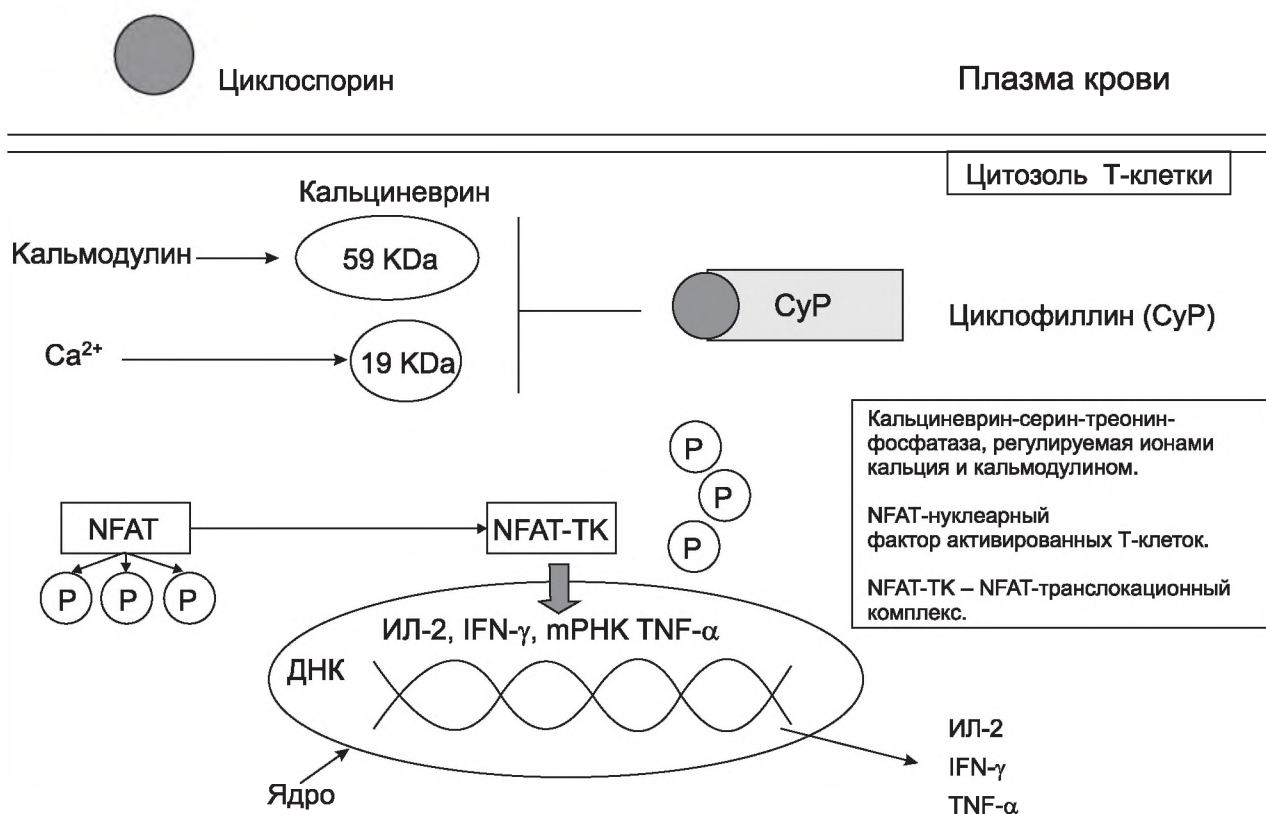


Рис. 1. Механизм действия циклоспорина – ингибитора кальциневрина.

об участии подоцитов в патогенезе иммунных и неиммунных нефропатий. В-третьих, успехи молекулярной биологии, позволившие вскрыть механизмы действия циклоспорина (а также глюкокортикоидов) на уровне *соматических, а не только иммунных клеток*, как это было принято считать раньше.

Механизм действия циклоспорина на уровне иммунных клеток.

Циклоспорин начали использовать в нефрологии с середины 80-х годов прошлого столетия [2], т.е. примерно через 5–6 лет после первого его применения в органной трансплантологии [4]. В основу объяснений патогенетической терапии циклоспорином были положены представления о его иммуносупрессивном действии на уровне не только Т-, но и В-клеток. Главной мишенью действия циклоспорина являются $CD4^+$ Т-клетки (Т-хелперы), в которых он блокирует синтез интерлейкина-2 (ИЛ-2), необходимый для генерации и пролиферации Т-цитотоксических клеток из их предшественников. Активация транскрипции гена ИЛ-2 в ядре Т-хелпера зависит от действия транскрипционного фактора, носящего название NFAT (нуклеарный фактор активированных Т-клеток). NFAT в покое Т-лимфоците располагается в цитозоле и может переместиться в ядро клетки (к месту транскрипции гена ИЛ-2) только в случае своей дефосфорили-

зации (потери 3 остатков фосфорной кислоты). Дефосфорилизация NFAT осуществляется под действием внутриклеточного энзима – кальциневрина. Кальциневрин, с биохимической точки зрения, представляет собой серин-треонин-фосфатазу и состоит из двух субъединиц кальмодулина (59 KDa) и регуляторной субъединицы (19 KDa), активируемой ионами Ca^{++} (запускающими процесс активации NFAT). Циклоспорин, проникая через клеточную мембрану лимфоцита, попадает в цитозоль клетки, где соединяется с циклофилином (рис.1). Внутриклеточный белок циклофиллин (18 KDa) отвечает за процесс β -складывания протеинов и приобретение ими третичной структуры. Он также способствует их транспорту внутри клетки. В настоящее время установлено, что циклофиллины участвуют в процессах репликации РНК и протеинов вируса гепатита С (важный механизм плейотропного эффекта циклоспорина при вирусном гепатите С) [5]. Нативный циклофиллин и свободный циклоспорин не оказывают какого-либо действия на кальциневрин. Однако комплекс циклоспорина с циклофилином обладает выраженным ингибирующим эффектом на серин-треонин-фосфатазу, в результате чего нарушается процесс дефосфорилизации NFAT, а следовательно, его транслокация в ядро. Кроме транскрипции гена ИЛ-2, NFAT также отвечает за транскрипцию генов интерферона

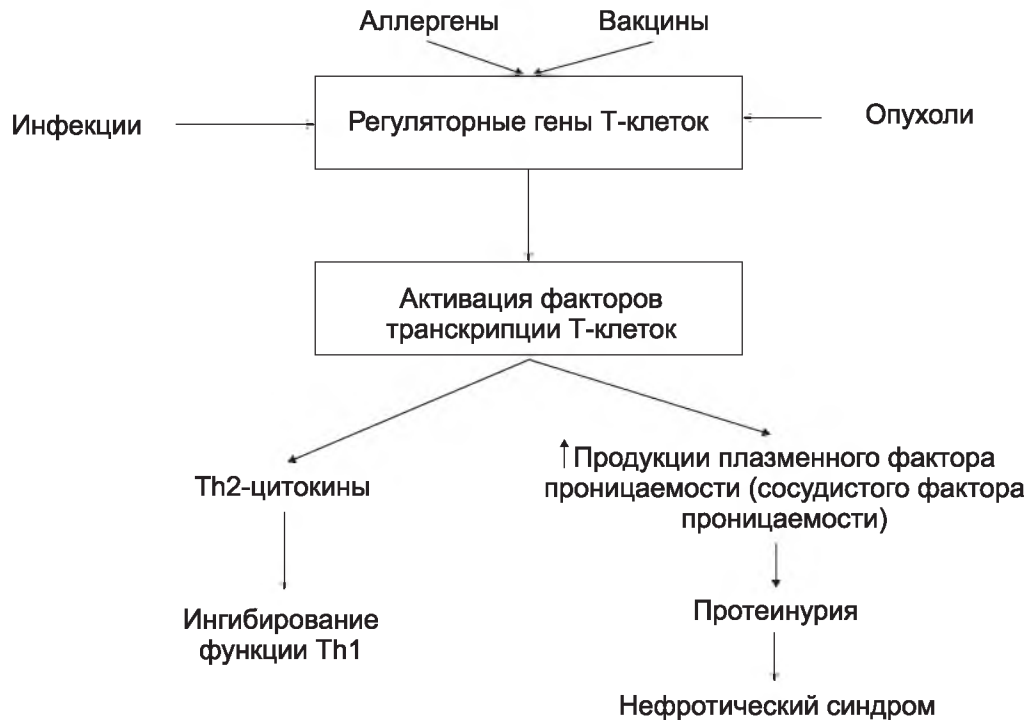


Рис. 2. Предполагаемый патогенез БМИ и идиопатического ФСГС.

γ (IFN- γ) и тумор-некротизирующего фактора α (TNF- α) (см. рис.1). Для обоснования использования циклоспорина при иммунокомплексных и аутоиммунных нефропатиях важно оценивать его действие не только на уровне Т-хелперов, но и учитывать супрессию антигенпрезентирующих клеток (дендритных макрофагов) и антителпродуцирующих В-лимфоцитов [6–13]. Как известно, обработка антигена иммунокомпетентными клетками при иммунокомплексных и аутоиммунных заболеваниях (например, при системной красной волчанке – СКВ) может протекать двумя путями. В первом случае антиген может поглощаться антиген-презентирующими клетками (АПК), которые затем представляют его в высокоиммуногенные (в комплексе с молекулами главного комплекса гистосовместимости класса II) Th1-клетки (Т-хелперы 1). Функцию презентации антигена могут выполнять не только дендритные клетки и макрофаги, но также и В-лимфоциты, которые взаимодействуют с антигеном посредством иммуноглобулинового рецептора. В ответ на представленный антиген Th1-клетки синтезируют цитокины, в том числе ИЛ-2, который стимулирует В-лимфоциты к синтезу специфических антител. При аутоиммунных заболеваниях (например при СКВ) АПК поглощают комплекс аутоантиген–аутоантитело, процессируют его (обрабатывают, расщепляют), и далее пептиды, являющиеся продуктами процессинга идиотипического сегмента аутоантитела, в составе с молекулами главного комплекса гистосовместимо-

сти класса II представляются Th1-лимфоцитам. Далее процесс протекает в соответствии с вышеописанной схемой [14].

Классические представления о механизмах действия циклоспорина при гломерулопатиях

Исходя из классических представлений об иммуносупрессирующем действии циклоспорина преимущественно на уровне Т-клеточного звена иммунитета, многие клиницисты-исследователи посчитали наиболее обоснованным его применение при гломерулопатиях двух типов: при болезни минимальных изменений (БМИ) и при идиопатическом фокально-сегментарном гломерулосклерозе (ФСГС). Причиной такого суждения послужила гипотеза, согласно которой протеинурия при БМИ и ФСГС обусловлена наличием в крови «фактора гломерулярной проницаемости», который продуцируется в избытке дисфункциональными Т-клетками, в результате их повреждения различными экзогенными факторами (рис. 2). Впервые эту гипотезу в 1974 г. выдвинул R.J. Shalhoub [15], который имел в виду только липоидный нефроз. В основу своих предположений R.J. Shalhoub положил следующие факты. Во-первых, отсутствие при липоидном нефрозе в крови антител; во-вторых, случаи его ремиссии при коревой инфекции; в-третьих, частое сочетание липоидного нефроза с лимфомой Ходжкина и, наконец, эффективность при этом заболевании глюкокортикоидов (ГК). В последующем, без должных на то доказательств, эта

гипотеза была распространена и на случаи ФСГС. «Фактор гломерулярной проницаемости» стали ассоциировать с цитокинами (лимфокинами), которые обладают нейтрализующим действием на отрицательно заряженные (за счет гликокаликса) структуры гломерулярно-фильтрационного барьера (ГФБ) и, главным образом, на гломерулярно-базальную мембрану (ГБМ). Следует заметить, что до настоящего времени природа гипотетического «фактора гломерулярной проницаемости» так и не установлена [16]. В 1992 г. V.J. Savin и соавт. [17] предложили косвенный метод определения «фактора гломерулярной проницаемости» в плазме крови больных с БМИ и ФСГС. Принцип метода заключался в регистрации изменений диаметра капилляров клубочков крысы, помещенных в среду, содержащую альбумин, куда добавлялась испытуемая плазма больного. Авторы полагали, что «фактор гломерулярной проницаемости», содержащийся в плазме больного, повышал проницаемость ГФБ к альбумину капилляров клубочков крысы, изменял онкотическое давление внутри них, вследствие чего капилляры увеличивались в диаметре («набухали»). На основании регистрации градиента онкотического давления и степени растяжения (набухания) капилляров, рассчитывали показатель проницаемости по отношению к альбумину (Palb). Сами создатели этого метода нашли его очень удобным в доказательстве наличия «фактора гломерулярной проницаемости» при БМИ и ФСГС [18]. К настоящему времени в литературе накопилось немало работ, как доказывающих, так и опровергающих наличие «фактора гломерулярной проницаемости» по Palb в крови больных и его роль в происхождении протеинурии при БМИ и ФСГС. В 2003 г. группа исследователей под руководством D.C. Cattran [19], куда входил и сам изобретатель метода определения «фактора гломерулярной проницаемости» по Palb, провели следующее клиническое исследование. Были обследованы две группы больных с ФСГС, одна из которых служила контролем, а пациенты другой – получали лечение циклоспорином. Концентрация «фактора гломерулярной проницаемости» по Palb в двух группах была одинаковой до начала лечения и не изменилась после окончания курса терапии циклоспорином больных в опытной группе. Между тем, полная ремиссия нефротического синдрома наступила в 72% случаев в опытной группе и только в 11% – в контроле. Сами авторы заключили, что антипротеинурический эффект циклоспорина, по-видимому, не был связан с подавлением синтеза Т-лимфоцитами «фактора гломерулярной проницаемости». Кроме того, в некоторых работах было

показано, что «фактор гломерулярной проницаемости», оцененный по Palb, повышен при аутосомно-рецессивном нефротическом синдроме (НС), обусловленным мутацией гена подоцина (NPHS2), т.е. при заболевании с заведомо неиммунным генезом [20]. Таким образом, положительный эффект циклоспорина в отношении ремиссии НС при БМИ и ФСГС нельзя было связать с его супрессивным действием на уровне Т-клеточного звена иммунитета.

Высокая терапевтическая эффективность циклоспорина была отмечена во многих клинических исследованиях не только при БМИ и ФСГС, но также при иммунокомплексных и аутоиммунных гломерулопатиях. Высокий процент ремиссий НС (от 40 до 80%) был отмечен при мембранозной нефропатии (МН), IgA-нефропатии, мембранопротрофическом гломерулонефрите, вторичном гломерулонефрите при болезни Шенлейна–Геноха, МН при СКВ [21–32].

Вполне естественно, что большинство клиницистов, применяя циклоспорин при иммунокомплексных и аутоиммунных процессах, априори полагали, что подавление системного иммунного ответа приводит к регрессии местной иммунной реакции в клубочке, что способствует восстановлению структуры ГБМ и обуславливает регресс протеинурии. В основу такой точки зрения были положены физиологические представления о том, что главной преградой на пути прохождения белка из крови в мочевое пространство капсулы Боумена–Шумлянского является трехслойная ГБМ, нарушение структуры которой (при иммунокомплексных гломерулонефритах) и приводит к развитию протеинурии. Вместе с тем, из клинической практики известно, что грубые структурные изменения ГБМ могут не сопровождаться развитием высокой гломерулярной протеинурии. Примером может служить генетический дефект $\alpha 3$ цепи коллагена IV типа (синдром Альпорта), при котором находят грубые изменения ГБМ, отмечается клубочковая микрогематурия и лишь незначительная протеинурия. Деструкция ГБМ с замещением основного вещества коллагеном III, а не IV типа (ГБМ в виде ткани, изъеденной молью) при наследственном синдроме ногтя-надколенника (Nail-patella syndrome) является причиной лишь незначительной протеинурии [33]. Манифестация гломерулонефрита даже макрогематурией (IgA-нефропатия) может сопровождаться лишь минимальной потерей белка с мочой. В ходе клинических исследований врачи приобрели большой опыт в практическом использовании циклоспорина. Так, было установлено, что, несмотря на высокую частоту

ремиссий НС при лечении циклоспорином, при его отмене очень часто возникали рецидивы. Отчасти это удалось преодолеть с помощью пролонгирования срока приема препарата или путем его постепенной (медленной) отмены. Однако в массе врачей прочно утвердилось мнение о существовании феномена «циклоспориновой зависимости».

В начале 90-х годов XX столетия впервые было высказано мнение о том, что антипротеинурический эффект циклоспорина может быть обусловлен его местным действием на почечную паренхиму [34]. Высказывались предположения о вазоконстрикторном действии циклоспорина на приносящую артериолу клубочка с последующим падением скорости клубочковой фильтрации (СКФ) и уменьшением протеинурии. Однако в детальных экспериментальных [35] и клинических исследованиях [36] данный факт не подтвердился. Возникла гипотеза о влиянии циклоспорина или «фактора гломерулярной проницаемости» на отрицательный электрический заряд структурных элементов ГФБ. Основанием для данной гипотезы послужили данные экспериментальных исследований начала 80-х годов, показавших, что внутривенное введение гепараназ (энзимов, разрушающих гепаран-сульфат) увеличивает гломерулярную проницаемость для ферритина [37]. Вплоть до настоящего времени эта точка зрения была доминирующей среди физиологов и клиницистов, считавших отрицательный заряд ГФБ главной преградой на пути фильтрации белка в клубочке. Однако современные исследования с использованием трансгенных (нокаутных) животных, у которых отсутствовали гены, ответственные за синтез гепаран-сульфат протеогликанов, показали, что протеинурия в этих случаях, как правило, незначительная или не развивается вовсе [38, 39]. Физиологическое предназначение отрицательного электрического заряда на всех элементах ГФБ скорее заключается в предотвращении накопления (скопления) белка в местах фильтрации (эндотелий, ГБМ, субподоцитарное пространство). Иначе говоря, отрицательный электрический заряд предотвращает «засорение» белком ГФБ. Возвращаясь к объяснению местного антипротеинурического действия циклоспорина с позиций физиологических воззрений 80-х годов прошлого века [3] в наши дни, очевидно, не следует [16, 40]. Исторический анализ результатов клинических исследований по применению циклоспорина при различных морфологических вариантах первичных и вторичных гломерулопатий обнаруживает факт, что основанием для его назначения, как правило, служило наличие НС, резистентного к действию ГК (ГК-резистентный НС в педиатрической практике) или

к их сочетанию с алкилирующими цитостатиками (циклофосфан, хлорамбуцил). Добавим к этому, что антипротеинурический эффект циклоспорина был отмечен у пациентов с синдромом Альпорта [41, 42], у больных с аутосомно-рецессивным наследственным НС, обусловленным мутацией гена подоцина (NPHS2) [43, 44], а также при НС, связанным с мутацией гена-супрессора транскрипционного фактора WT-1 (Wilms tumor 1) [45], т.е. при заболеваниях неиммунного генеза. Если антипротеинурический эффект циклоспорина никак не связан с его иммуносупрессивными свойствами, то что является точкой приложения его действия в ГФБ при гломерулопатиях различного генеза (иммунного и неиммунного)? С позиции современных данных физиологии, единственной мишенью для действия циклоспорина в клубочке может быть подоцит. Именно эта клетка играет главную роль в патогенезе как иммунных, так и неиммунных гломерулопатий.

Подоцит: структура и функции. Подоцитопатии

Подоцит – это высокоорганизованная, с уникальной структурой (внешней и внутренней), кончнотифференцированная, т.е. не способная в физиологических условиях к делению, эпителиальная клетка. Подоцит имеет тело и несколько ножек (major process), каждая из которых дает множество мелких отростков, называемых ножковыми отростками подоцитов (foot process), которые оплетают капилляр с внешней стороны, придавая клетке «паукообразную форму». Ножковые отростки подоцитов входят в тесный контакт друг с другом, наподобие скрещенных пальцев обеих рук (interdigitating pattern). Узкое пространство между контактирующими ножковыми отростками подоцитов носит название щелевидной диафрагмы (slit diaphragm) [46, 47].

Клеточная мембрана подоцита, включая его ножковые отростки в области щелевидной диафрагмы, имеет отрицательный заряд, поскольку как и другие составляющие ГФБ покрыта гликокаликсом.

Подоцит выполняет следующие функции:

- поддерживает капилляры и противостоит их растяжению под действием гидростатического давления крови [48];
- в кооперации с мезангиальными и эндотелиальными клетками участвует в синтезе компонентов ГБМ [49];
- осуществляет эндоцитоз фильтрующихся белков [50];
- выполняет основную и решающую, по сравнению с другими элементами ГФБ, функцию по

Таблица 1

Основные подоцитарные протеины

Локализация	Протеины
Щелевидная диафрагма	Нефрин (NPHS1) Пододин (NPHS2) FAT-1 Кадгерин (P – cadherin, VE – cadherin) TRPC-6 (потенциал-зависимый временный рецептор катионов Ca^{2+}) NEPH 1-3
Цитозоль Регуляторные белки	CD2-ассоциированный протеин NCK-2 ZO-1 CD-151
Белки цитоскелета	α -актин-4 Синаптоподин F-актин
Транскрипционные факторы	WT-1 (Williams tumor-1)
Базальная мембрана	$\alpha_3\beta_1$ -интегрины

ограничению фильтрации белка в клубочке [51].

Долгое время полагали, что щелевидная диафрагма играет роль молекулярного сита, т.е. фильтрации белка по размеру, а выполнению этой функции способствует отрицательный заряд гликокалик-

са. Представления кардинальным образом изменились после открытия одного из белков щелевидной диафрагмы – нефрина. Аутосомно-рецессивная мутация гена этого белка, как известно, является причиной врожденного НС финского типа [52].

Вслед за нефрином было открыто множество других белков как щелевидной диафрагмы, так и внутриклеточных, составляющих и регулирующих цитоскелет подоцита (табл. 1). В настоящее время установлено, что все белки подоцита организованы в сложную структурно-функциональную систему. В ней можно выделить три основных домена (части). Во-первых, белки щелевидной диафрагмы, пространственно организованные в форме застежки-молнии (zipper-like); во-вторых, внутриклеточный домен, включающий как непосредственно структурные белки актинового скелета, например, α -актин, так и белки, обеспечивающие передачу сигнала, например, CD2-ассоциированный протеин, а также белки, регулирующие цитоскелет (синаптоподин, подокальцин, Nck и др.); в-третьих, домен базального полюса подоцита (ножковых отростков), представленный $\alpha_3\beta_1$ -интегринами (см. табл. 1; рис. 3) [46, 53, 54]. Все три домена функционально и структурно тесно связаны друг с другом таким образом, что изменения (внешние воздействия) в каком-нибудь одном до-

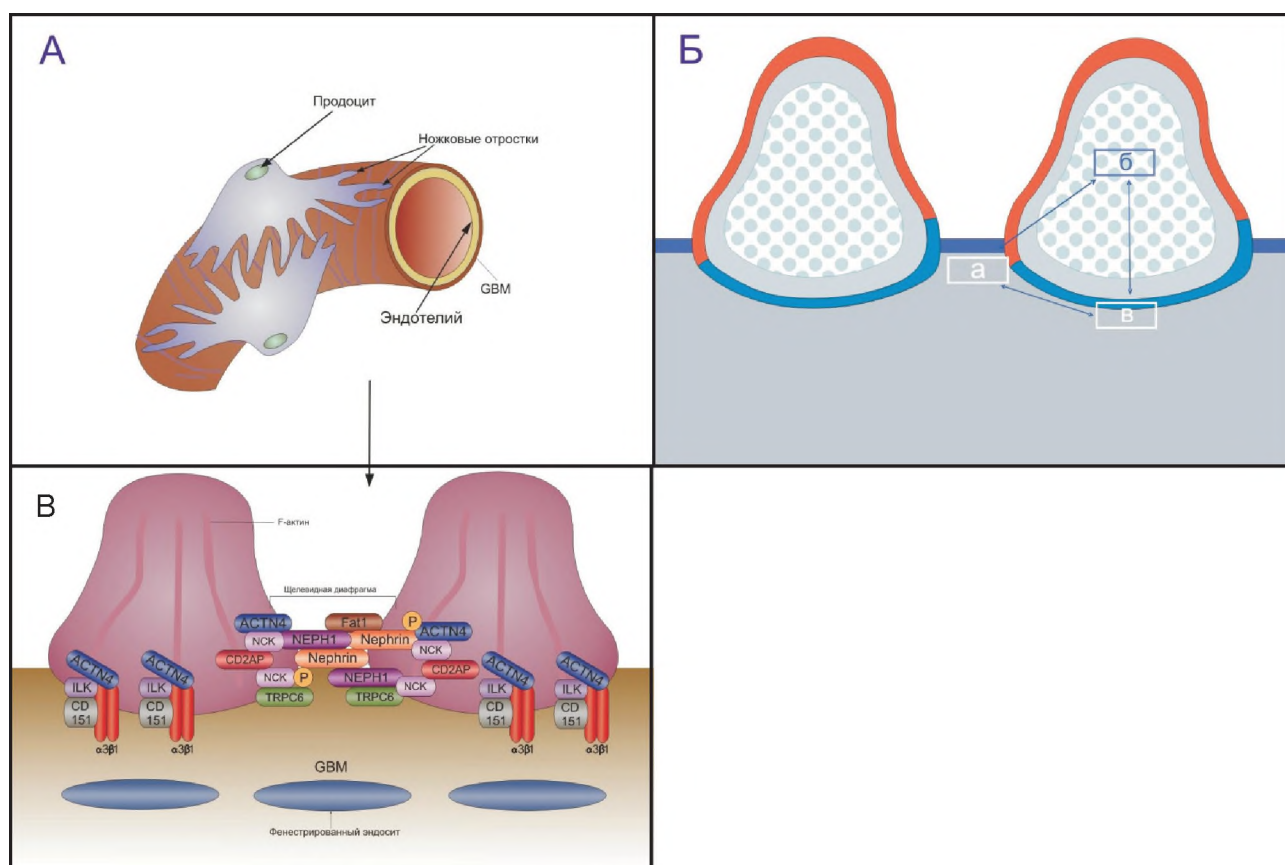


Рис. 3. Подоцит (А), щелевидная диафрагма (Б) и функциональная организация протеиновых доменов (В).

Таблица 2

Потенциальные патогенные факторы, оказывающие воздействие на подоциты

Иммунные факторы

- Продукты клеток иммунной системы
 - цитокины (лимфокины)
 - «фактор гломерулярной проницаемости»
 - ИФН-γ; ИФН-β
 - иммуноглобулины
 - иммунные комплексы
 - фракции комплемента

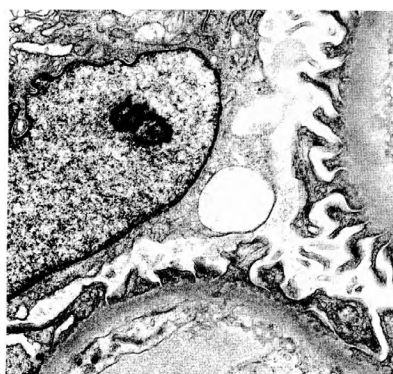
Неиммунные факторы

- Инфекционные
 - вирусы (СПИД, гепатит В и С, парвовирус 19, цитомегаловирус и др.)
- Метаболические
 - сахарный диабет (конечные продукты гликозилирования, свободные окисленные радикалы, ангиотензин-II, инсулин и др.)
- Токсические
 - свободные окисленные радикалы
 - гомоцистеин
 - свободные жирные кислоты
 - тяжелые металлы
 - медикаменты (памидронат, интерферон)
- Гемодинамические
 - внутригломерулярная гипертензия
 - гиперфильтрация
 - острая ишемия (тромботическая микроангиопатия)

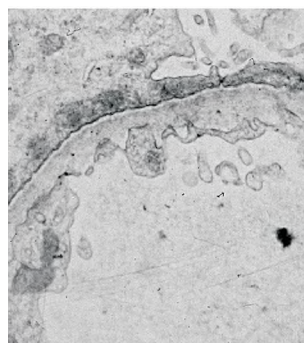
мене (например в щелевидной диафрагме), сразу приводят к изменению двух других. За счет такого взаимодействия подоцит способен менять свою форму, регулировать размеры щелевидной диафрагмы, «подтягивая» или «расслабляя» и «вытягивая» свои ножки.

В настоящее время стало понятным, что подоцит и его щелевидная диафрагма выполняют не просто роль механической преграды на пути фильтрации протеинов, а активно регулируют этот процесс, причем не только в патологии, но так же и в физиологических условиях. По-видимому, этот механизм определяет колебания физиологической протеинурии, которая при максимальных физических нагрузках (например марафон) у здорового человека может достигать 7 г/сут (расчет по отношению альбумин/креатинин) в первые 30 мин после нагрузки, но приходит в норму в течение 24–48 ч [47]. Как это не парадоксально, но только сегодня мы в состоянии удовлетворительно объяснить наблюдения «старых» клиницистов о «маршевой протеинурии».

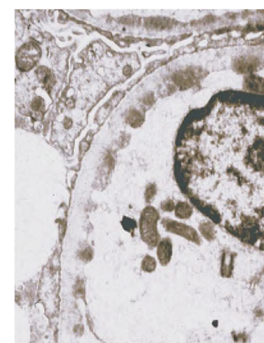
Сложное структурно-функциональное устройство подоцита, выражающееся в кооперативном взаимодействии трех доменов, обеспечивает клетке широкий набор приспособительных реакций, что,



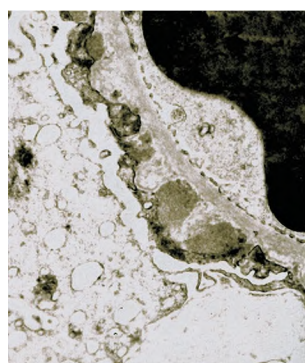
Норма



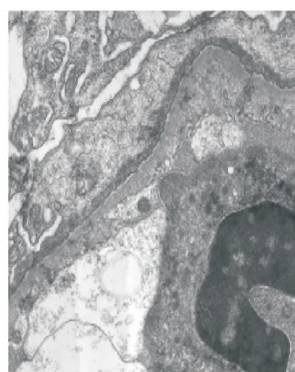
ФСГС



МППГН



МГН



IgA

Рис. 4. Феномен слияния ножковых отростков подоцитов при различных морфологических формах гломерулопатий с нефротическим синдромом (НИИ нефрологии, 2009). ФСГС – фокально-сегментарный гломерулосклероз; МППГН – мембранопролиферативный гломерулонефрит; МГН – мембрanoзный гломерулонефрит; IgA – IgA-нефропатия.

с физиологической точки зрения, бесспорно, является выгодным. Однако одновременно это делает подоцит очень ранимым по отношению к различным патогенам (табл. 2). При действии повреждающего агента на подоцит последний может формировать три типа патологических изменений: слияние ножковых отростков, апоптоз и пролиферация.

Феномен слияния ножковых отростков подоцитов (рис. 4) был обнаружен почти одновременно с внедрением электронной микроскопии в морфологическое исследование биоптатов. Этот признак, являющийся по сути единственным морфологическим критерием БМИ (откуда происходит само название болезни), выявляется так же и при других морфологических формах гломерулонефрита, клинически протекающих с НС. На основании данных электронно-микроскопических исследований о наличии в подоцитах протеиновых вакуолей при гломерулопатиях с высокой протеинурией [55], а также с учетом результатов экспериментальных исследований с мечеными белками [56, 57], был сделан вывод о том, что феномен слияния ножковых отростков подоцитов, регистрируемый у больных с НС, есть ни что иное как реакция клетки на протеинурию (эндоцитоз белков). Иначе говоря, феномен слияния ножковых отростков подоцитов *вторичен по отношению к протеинурии* и не имеет какого-либо патогенетического смысла. Такая точка зрения была доминирующей вплоть до наших дней и остается, к сожалению, таковой у большинства российских нефрологов (морфологов). Тем не менее, при исследовании биоптатов почки, полученных от больных с различными морфологическими формами первичного гломерулонефрита, не было выявлено корреляции протеинурии с феноменом слияния ножковых отростков подоцитов [58]. В настоящее время установлено, что этот феномен обусловлен нарушениями актинового цитоскелета подоцита и представляет собой неспецифическую реакцию эпителиальной клетки на действие патогенного фактора [46, 59]. Следует учитывать, что подоцит, хотя и обладает способностью к эндоцитозу протеинов, не уступающему по эффективности эндоцитозу белков в эпителиальных клетках проксимальных канальцев [60], имеет мощную внутриклеточную систему деградации сложных протеинов в виде аутофагосом [61]. Однако здесь нужно оговориться, так как в отдельных случаях, например, когда альбумин (или другие белки) связан с некоторыми реактивными субстанциями (жирные кислоты, гомоцистеин), его эндоцитоз может приводить к повреждению подоцитов этими реагентами [62–64].

При различных морфологических формах пер-

вичных или вторичных гломерулопатий подоцит могут повреждать: комплемент и его фракции, многочисленные цитокины и факторы роста, свободные окисленные радикалы, ангиотензин-II и другие субстанции, фильтрующиеся из крови (например гомоцистеин) или образующиеся (при воспалении) в клубочке [63–65]. Например, подоцит способен увеличивать экспрессию на своей поверхности рецептора фракции комплемента C_{5a} и таким образом становится мишенью для повреждающего действия мембраноатакующего комплекса комплемента при МН [66–68]. Мембраноатакующий комплекс (C_{5b-9}) вызывает деструкцию цитоскелета подоцита [69] с последующей диссоциацией нефрина, приводящей к нарушению его связи с внутриклеточным протеиновым доменом [70, 71], что является причиной протеинурии. Реорганизации цитоскелета подоцита при МН способствуют антитела IgG4-класса к антигену базальной мембраны эпителиальной клетки [72]. Сегодня есть все основания полагать, что таким антигеном служит рецептор клеточной мембраны подоцита PLA_2 (фосфолипаза A_2), т.е. МН является *аутоиммунной, а не иммунокомплексной болезнью (!)* [73–75]. При культивировании подоцитов в среде мезангиальных клеток с поликлональным IgA, выделенным из плазмы крови больных с IgA-нефропатией, отмечалось снижение экспрессии подоцитом протеина щелевидной диафрагмы – подоцина и одного из главных регуляторных белков актинового цитоскелета – синаптоподина [76]. Под действием трансформирующего фактора роста $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) подоциты, подобно эпителиальным клеткам проксимальных канальцев, могут подвергаться эпителиально-мезенхимальной трансдифференциации. При развитии этого процесса подоциты теряют способность к экспрессии нефрина и протеина ZO-1, вследствие чего утрачивают нормальную структуру актинового цитоскелета [77], со всеми вытекающими из этого последствиями (см. далее). Установлено, что подоциты обладают способностью экспрессировать на своей клеточной поверхности так называемые Toll-like-рецепторы (TLR-4). Обычно этим рецептором обладают клетки иммунной системы, с его помощью они распознают молекулы клеточной стенки микробов, нуклеиновые кислоты и продукты деградации эндогенных протеинов. При активации TLR-4 подоциты принимают провоспалительный фенотип, теряют цитоскелет и сами становятся источником провоспалительных цитокинов. Подобный сценарий патологического процесса был установлен в экспериментальной модели криоглобулинемии и мембранопролиферативного гломерулонефрита, а также при

воздействии на подоцит пуромидина аминогликозида или липополисахарида [78, 79].

Можно заключить, что феномен слияния ножковых отростков подоцитов, регистрируемый при электронно-микроскопическом исследовании биоптатов почки больных с НС, является морфологическим отображением повреждения клетки, в основе которого лежит нарушение нормальной структуры актинового цитоскелета. Очевидно, что при таком повреждении в процесс вовлекаются и другие протеиновые домены подоцита и, в частности, белки щелевидной диафрагмы. Протеинурия, даже если первопричиной ее было повреждение ГБМ (например при МН), при вышеописанных изменениях подоцита (слияние ножковых отростков) нарастает и достигает нефротических значений. Говоря иными словами, феномен слияния ножковых отростков подоцитов *первичен по отношению к нефротической протеинурии в подавляющем большинстве случаев иммунных и неиммунных гломерулопатий* [80, 81]. Повреждение подоцита с последующим нарушением цитоскелета, помимо слияния ножковых отростков, может вызвать нарушение его связи с ГБМ через $\alpha_3\beta_1$ -интегрин. Такой ход патологического процесса характерен для диабетической нефропатии на самых ранних этапах ее развития (микроальбуминурия) у больных сахарным диабетом типа 1 или типа 2 [82–85]. При длительном и/или выраженном воздействии патогенной причины подоцит погибает через апоптоз, теряет связь с ГБМ и слущивается в мочевое пространство [46, 47, 53, 59, 65, 86, 88]. Гибель подоцита и его последующее удаление с внешней поверхности ГБМ приводит к «оголению» последней. В местах отсутствия подоцитов происходит образование синехий и «срачивание» ГБМ с капсулой Боумена–Шумлянского. В области «срачивания» и в мезангиуме формируется склероз (фокально-сегментарный склероз). Именно такую последовательность патологических изменений мы можем наблюдать при некоторых иммунокомплексных гломерулонефритах: при IgA-нефропатии, при МН, при мембранопролиферативном гломерулонефрите. На этом основании некоторые нефрологи-морфологи абсолютно необоснованно говорят о сочетании двух форм гломерулонефрита, т.е. допускают возможность формирования в клубочке *одновременно двух болезней с разной этиологией и патогенезом (!)*. В зонах фокально-сегментарного склероза формируется фильтрация с измененным направлением (misdirected filtration), т.е. идущая в сторону интерстиция, окружающего клубочек. В итоге образуются глобальный гломерулосклероз и тубуло-интерстициальный фиброз

[89]. В экспериментальной модели на крысах вышеописанный процесс был оценен количественно: потеря подоцитов до 20% сопровождалась мезангиальным склерозом, потеря клеток свыше 20% приводила к формированию синехий ГБМ с капсулой клубочка, если число подоцитов уменьшалось до 20–40%, петли капилляров спадались, и в этих местах формировался склероз. При уменьшении популяции подоцитов на ГБМ более чем на 60% развивался глобальный гломерулосклероз [90–92]. Подчеркнем, что вышеописанный механизм формирования глобального гломерулосклероза является общепатологической, типовой реакцией подоцитов на повреждение, не зависящей от природы патогенного фактора. Различия могут носить только количественный и временной характер [86, 93].

Третьей, но уже не типовой, а уникальной патологической реакцией подоцита на повреждение является его *гипертрофия и пролиферация*. Как уже указывалось выше, в норме подоцит является конечно-дифференцированной клеткой, не способной, как и нейрокит, к делению. Крылатое выражение «нервные клетки погибают и не восстанавливаются» с полным правом можно отнести к подоциту. На сегодняшний день известны два заболевания, при которых реактивируются процессы гипертрофии и гиперплазии (пролиферации) подоцитов. Это нефропатия, ассоциированная с вирусом иммунодефицита человека, и идиопатический коллаптоидный вариант ФСГС [94]. На роль факторов, запускающих программы гипертрофии и гиперплазии подоцитов, претендуют: протеин вируса иммунодефицита человека Nef, фактор, индуцируемый гипоксией HIF-2 α (hypoxia inducible factor 2 α) и сосудистый эндотелиальный фактор роста VEGF (vascular endothelial growth factor) [95, 96]. Указанные патогены активируют передачу внутриклеточного сигнала (Src, STAT3, MAPK 1, 2) на репрессированные гены, запуская, тем самым, программы гипертрофии и гиперплазии клетки [59]. Уникальность строения и функций подоцита, его реагирование на воздействие самых различных патогенных факторов, типовой характер большинства ответных реакций позволяют утверждать, что из всех резидентных гломерулярных клеток только подоцит может занимать центральное место в патогенезе как иммунных, так и неиммунных гломерулопатий. На этом основании многие исследователи в последнее время стали говорить об отдельной группе заболеваний, объединенных термином *подоцитопатии*. На текущий момент пока не сформировалось единого мнения в отношении классификации подоцитопатий. Некоторые авторы ограничивают эту группу заболеваниями, при ко-

торых повреждение подоцита очевидно и носит, как правило, скоротечный характер. Это БМИ, ФСГС, в том числе его коллаптоидный вариант, диффузный мезангиальный склероз. Указанные морфологические варианты могут быть идиопатическими, генетическими (наследственными), вторичными (реактивными) [97]. Другие авторы значительно расширяют группу подоцитопатий, включая в нее, помимо перечисленных выше морфологических форм, иммунокомплексные нефриты (IgA-нефропатия, МН, волчаночный нефрит), диабетическую нефропатию, гипертонический нефросклероз, возрастной (старческий) гломерулосклероз и др. [86]. Вполне понятно, что обе точки зрения основаны на серьезных и веских аргументах, однако, занять определенно одну из этих позиций в настоящее время затруднительно. Это объясняется, прежде всего, тем, что многие моменты этиологии и патогенеза гломерулопатий, даже несмотря на их детальную морфологическую идентификацию, остаются неизученными.

Современные представления о локальном действии циклоспорина и глюкокортикоидов в клубочке

Современные представления о роли подоцита в патогенезе иммунных и неиммунных гломерулопатий легли в основу детальных исследований С. Faul и соавт. (2007) о влиянии циклоспорина на цитоскелет клетки висцерального эпителия капсулы Боумена–Шумлянского [46, 53]. Результаты исследований позволили сделать вывод, что из всех резидентных клеток клубочка именно подоцит является мишенью действия циклоспорина, который, обеспечивая стабилизацию внутриклеточного белка синаптоподина, способствует нормализации цитоскелета, что, в конечном итоге, приводит к восстановлению функций подоцита [53, 98, 99]. Раскроем этот механизм действия циклоспорина несколько подробнее. Основная функция внутриклеточного белка синаптоподина заключается в стабилизации α -актинового цитоскелета. Синаптоподин препятствует деградации внутриклеточного энзима RhoA-гуанинтрифосфатазы (RhoA-GTPase), который, в свою очередь, принимает участие в образовании пучковых волокон из более тонких α -актиновых нитей. Пучковые волокна, называемые также стресс-волокнами, не просто стабилизируют цитоскелет, а делают его динамичным, что обеспечивает ножковым отросткам подоцитов подвижность [46, 100, 101]. Одновременно синаптоподин препятствует образованию клеткой мелких, цитоплазматических выростов – филоподий, называемых так из-за того, что они имеют сродство друг к другу (наподобие «капель

ртути»), в результате чего облегчается процесс слияния ножковых отростков подоцитов [102]. Выполнять вышеописанные функции синаптоподина может только при двух условиях: во-первых, находясь в фосфорилированной форме, а, во-вторых, будучи связанным с другим белком, носящим условное название 14-3-3. Фосфорилирование синаптоподина обуславливает прочность его связи с протеином 14-3-3, и, следовательно, обеспечивает выполнение им (синаптоподином) своих функций по стабилизации цитоскелета.

В цитоплазме подоцита находится энзим кальциневрин (серин-треонин-фосфатаза), подобный такому же энзиму в Т-лимфоцитах. Кальциневрин дефосфорилирует синаптоподин, который из-за этого теряет свою связь с протеином 14-3-3 и моментально подвергается протеолизу под действием катепсина-L. Полагают, что активность подоцитарного кальциневрина резко возрастает при воздействии на эпителиальную клетку патогенных факторов. Понятно, что циклоспорин, блокируя кальциневрин по уже известному механизму, обеспечивает стабилизацию синаптоподина и, тем самым, его связь с протеином 14-3-3 [46, 53, 98, 99].

Таким образом, циклоспорин отличается от обычных цитостатиков, используемых в нефрологии, тем, что, помимо воздействия на иммунное (Т- и В-лимфоциты) звено патогенеза первичных и вторичных гломерулопатий, обладает уникальными свойствами восстанавливать структуру и функцию подоцитов. Вполне определенно, что выраженный антипротеинурический эффект препарата при НС связан с его локальным действием на уровне подоцита.

Клиницистам, обладающим дедуктивным мышлением и применяющим его в повседневной практике у постели больного, хорошо известно, что иногда дедуктивный анализ или вывод может стоить томов бесплодных рассуждений. Обратимся к подобному примеру наших дней. Глубокий исторический экскурс в историю применения циклоспорина в нефрологии позволил Л.В. Козловской сделать вывод: «Циклоспорин в комбинации с глюкокортикоидами высокоэффективен независимо от особенностей почечного процесса, обусловившего развитие стероид-резистентного нефротического синдрома» [2]. Данное заключение подчеркивает, во-первых, независимость клинического эффекта циклоспорина от характера почечного процесса, а, во-вторых, указывает на значение комбинированной терапии. Именно эффективность комбинации циклоспорина с ГК оценивали большинство исследователей, хотя говорили об эффективности только первого препарата [22, 23].

В последние годы были выяснены принципиально новые эффекты ГК, имеющие большое значение для нефрологии. В экспериментальных исследованиях было показано, что гломерулярные клетки, включая подоциты, обладают ГК-рецептором, расположенным в цитозоле. При действии на клетку дексаметазона ГК-рецептор транслоцируется в ядро. Таким образом, геномные эффекты ГК, опосредованные нуклеарным фактором κВ (NF-κB), могут реализовываться и в гломерулярных клетках [103]. При изучении культуры подоцитов было установлено, что добавление в среду культивирования дексаметазона приводит к увеличению экспрессии нефрина, подавляет синтез подоцитами VEGF (сосудистого эндотелиального фактора роста), а также ингибирует продукцию провоспалительных цитокинов ИЛ-6 и ИЛ-8. Кроме того, дексаметазон подавляет синтез белка p21-ингибитора циклокиназ (энзимов, вовлеченных в процесс деления клеток) и существенным образом повышал выживаемость подоцитов [104]. Еще в 90-х годах прошлого столетия в экспериментальных исследованиях было продемонстрировано, что ГК повышают стабильность клеточных актиновых филаментов [105], увеличивают степень полимеризации актина и активируют киназы, ассоциированные с цитоскелетом в мезангиоцитах [106]. При изучении культуры подоцитов было обнаружено, что добавление в нее ГК приводит к увеличению активности RhoA-гуанинтрифосфатазы (RhoA-GTPase), основного энзима в синтезе стрессорных (пучковых) волокон α-актинового цитоскелета. Авторы данной работы впервые высказали мысль о том, что механизм благоприятного действия ГК при БМИ может быть связан не с их влиянием на Т-клетки, а с местным действием на уровне подоцита и его цитоскелета [107]. Дексаметазон в культуре подоцитов снижал синтез внутриклеточных проапоптотических протеинов p53 и Bax, одновременно увеличивая экспрессию антиапоптотических белков (Bcl-XL) [108, 109]. При иммуногистохимическом исследовании биоптатов почки здоровых лиц, больных с БМИ, отвечающих и не отвечающих на терапию ГК, а также пациентов с ФСГС, было обнаружено, что иммуноэкспрессия синаптоподина у лиц с БМИ ответивших на терапию ГК, не отличается от контроля (здоровые лица). Иммуноэкспрессия синаптоподина при ФСГС и у пациентов с БМИ, резистентных к лечению ГК, была значительно ниже, а в местах склероза (при ФСГС) – отсутствовала [110].

Таким образом, в настоящее время есть все основания полагать, что ГК так же, как и циклоспорин, помимо иммуносупрессирующего эффекта,

оказывают местное воздействие на подоцит, нормализуя его структуру и функцию. Исходя из этого, можно считать комбинацию циклоспорина и ГК наиболее патогенетически целесообразной при подоцитопатиях, клинически протекающих с нефротическим синдромом.

Ранее циклоспорин в нефрологии всегда относили к препаратам резерва и использовали его в сочетании с преднизолоном только тогда, когда алкилирующие цитостатики были неэффективны или противопоказаны. В настоящее время все большее число исследователей склоняются к мысли о том, что при ряде нефропатий (стероидрезистентная БМИ, МН, ФСГС) комбинация циклоспорина с низкими дозами ГК может и должна рассматриваться в качестве терапии первой линии [1, 26, 111].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В настоящее время мы являемся свидетелями процесса выхода практической медицины на новый виток своего развития. В мировой медицинской науке создана и набирает силу новая концепция «персонализированной медицины». Основу такой медицины XXI в. составляют успехи генетики (фармакогенетики), молекулярной биологии, биохимии, физиологии (экспериментальные исследования) [112]. Статистические данные клинических исследований, пускай даже рандомизированных, плацебо-контролируемых и многоцентровых, в отрыве от глубокого понимания патогенеза болезни дают неудовлетворительные результаты. Ярким примером этому может служить почти 30-летняя история изучения вопроса об эффективности применения циклоспорина в лечении нефропатий [16]. Возвращение к этой теме в отечественной нефрологии следует связывать не с возросшим благосостоянием или с желанием фирм-производителей расширить область применения препарата, а с принципиально новыми достижениями медицинской науки в раскрытии патогенеза подоцитопатий, которые и лежат в основе аргументов в пользу применения циклоспорина в лечении гломерулопатий.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Cattran DC, Alexopoulos E, Heering P et al. Cyclosporin in idiopathic glomerular disease associated with the nephrotic syndrome: workshop recommendations. *Kidney Int* 2007; 72 (12): 1429-1447
2. Козловская ЛВ. Хронический гломерулонефрит: аргументы в пользу применения циклоспорина. *Клиническая нефрология* 2010; 3: 56-61
3. Захарова ЕВ, Бирюкова ЛС. Роль циклоспорина в лечении идиопатического гломерулонефрита и волчаночного нефрита. *Нефрология и диализ* 2010; 12(2): 126-141
4. Calne RY, Rolles K, White DJ et al. Cyclosporin A initially

as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 32 kidneys, 2 pancreases, and 2 livers. *Lancet* 1979; 2 (8151):1033-1036

5. Gallay PA. Cyclophilin inhibitors. *Clin Liver Dis* 2009; 13(3):403-417

6. Liu J, Farmer JD Jr, Lane WS et al. Calcineurin is a common target of cyclophilin- cyclosporin A and FKBP- FK506 complexes. *Cell* 1991; 66(4): 807-815

7. Thomson AW. The spectrum of action of new immunosuppressive drugs. *Clin Exp Immunol* 1992; 89(2): 170-173

8. Bram RJ, Hung DT, Martin PK et al. Identification of the immunophilins capable of mediating inhibition of signal transduction by cyclosporin A and FK506: roles of calcineurin binding and cellular location. *Mol Cell Biol* 1993; 13(8): 4760-4769

9. Fruman DA, Burakoff SJ, Bierer BE. Immunophilins in protein folding and immunosuppression. *FASEB J*. 1994; 8(6): 391-400

10. Clardy J. The chemistry of signal transduction. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92(1): 56-61

11. Braun W, Kallen J, Mikol V et al. Three-dimensional structure and actions of immunosuppressants and their immunophilins. *FASEB J*. 1995; 9(1): 63-72

12. Tajima K, Amakawa R, Ito T et al. Immunomodulatory effects of cyclosporin A on human peripheral blood dendritic cell subsets. *Immunology* 2003; 108(3):321-328

13. Galat A, Bua J. Molecular aspects of cyclophilins mediating therapeutic actions of their ligands. *Cell Mol Life Sci* 2010; 67(20): 3467-3488

14. Мейл Д. Иммунология /Д. Мейл, Дж. Бростофф, Д.Б. Рот, А. Ройтт/ Пер. с англ. М: Логосфера 2007. – 568 с

15. Shalhoub RJ. Pathogenesis of lipid nephrosis: a disorder of T-cell function. *Lancet* 1974; 2(7880): 556-560

16. Meyrier AY. Treatment of focal segmental glomerulosclerosis with immunophilin modulation: when did we stop thinking about pathogenesis? *Kidney Int* 2009; 76(5): 487-491

17. Savin VJ, Sharma R, Lovell HB, Welling DJ. Measurement of albumin reflection coefficient with isolated rat glomeruli. *J Am Soc Nephrol* 1992; 3 (6): 1260-1269

18. Savin VJ, Sharma R, Sharma M et al. Circulating factor associated with increased glomerular permeability to albumin in recurrent focal segmental glomerulosclerosis. *N Engl J Med* 1996; 334 (14): 878-883

19. Cattran D, Neogi T, Sharma R et al. Serial estimates of serum permeability activity and clinical correlates in patients with native kidney focal segmental glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 (2): 448-453

20. Carraro M, Caridi G, Bruschi M et al. Serum glomerular permeability activity in patients with podocin mutations (NPHS2) and steroid-resistant nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13 (7): 1946-1952

21. Мухин НА, Тареева ИЕ, Краснова ТН, Шилов ЕМ, Мирошниченко НГ. Лечение нефротической формы хронического гломерулонефрита сандиммуном (циклоспорином А). *Тер арх* 1995; 67 (8): 13-15

22. Cattran DC, Appel GB, Hebert LA et al. A randomized trial of cyclosporine in patients with steroid-resistant focal segmental glomerulosclerosis. North America Nephrotic Syndrome Study Group. *Kidney Int* 1999; 56 (6): 2220-2226

23. Cattran DC, Appel GB, Hebert LA et al. Cyclosporine in patients with steroid-resistant membranous nephropathy: a randomized trial. *Kidney Int* 2001; 59 (4):1484-1490

24. Braun N, Schmutzler F, Lange C et al. Immunosuppressive treatment for focal segmental glomerulosclerosis in adults. *Cochrane Database Syst Rev* 2008; 16 (3): CD003233

25. Austin HA 3rd, Illei GG, Braun MJ, Balow JE. Randomized, controlled trial of prednisone, cyclophosphamide, and cyclosporine in lupus membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20 (4): 901-911

26. Goumenos DS, Katopodis KP, Passadakis P et al. Corticosteroids and cyclosporin A in idiopathic membranous

nephropathy: higher remission rates of nephrotic syndrome and less adverse reactions than after traditional treatment with cytotoxic drugs. *Am J Nephrol* 2007; 27 (3): 226-231

27. Ronkainen J, Autio-Harmainen H, Nuutinen M. Cyclosporin A for the treatment of severe Henoch- Schunlein glomerulonephritis. *Pediatr Nephrol* 2003; 18 (11):1138-1142

28. Alexopoulos E, Papagianni A, Tsamelashvili M et al. Induction and long-term treatment with cyclosporine in membranous nephropathy with the nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21 (11): 3127-3132

29. Ogawa H, Kameda H, Amano K, Takeuchi T. Efficacy and safety of cyclosporine A in patients with refractory systemic lupus erythematosus in a daily clinical practice. *Lupus* 2010; 19 (2): 162-169

30. Kiyomasu T, Shibata M, Kurosu H et al. Cyclosporin A treatment for membranoproliferative glomerulonephritis type II. *Nephron* 2002; 91 (3):509-511

31. Shin JI, Park JM, Shin YH et al. Cyclosporin A therapy for severe Henoch- Schunlein nephritis with nephrotic syndrome. *Pediatr Nephrol* 2005; 20 (8):1093-1097

32. Plank C, Kalb V, Hinkes B et al. Cyclosporin A is superior to cyclophosphamide in children with steroid-resistant nephrotic syndrome-a randomized controlled multicentre trial by the Arbeitsgemeinschaft für Pädiatrische Nephrologie. *Pediatr Nephrol* 2008; 23 (9): 1483-1493

33. Heidet L, Bongers EM, Sich M et al. In vivo expression of putative LMX1B targets in nail- patella syndrome kidneys. *Am J Pathol* 2003; 163 (1): 145-155

34. Meyrier A. Antiproteinuric and immunological effects of cyclosporin A in the treatment of glomerular diseases. *Nephrol Dial Transplant* 1992; 7 Suppl 1: 80-84

35. Schrijver G, Assmann KJ, Wetzels JF, Berden JH. Cyclosporin A reduces albuminuria in experimental anti-GBM nephritis independently from changes in GFR. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10 (7): 1149-1154

36. Zietse R, Wenting GJ, Kramer P et al. Effects of cyclosporin A on glomerular barrier function in the nephrotic syndrome. *Clin Sci (Lond)* 1992; 82 (6): 641-650

37. Kanwar YS, Linker A, Farquhar MG. Increased permeability of the glomerular basement membrane to ferritin after removal of glycosaminoglycans (heparan sulfate) by enzyme digestion. *J Cell Biol* 1980; 86 (2): 688-693

38. Rossi M, Morita H, Sormunen R et al. Heparan sulfate chains of perlecan are indispensable in the lens capsule but not in the kidney. *EMBO J* 2003; 22 (2): 236-245

39. Harvey SJ, 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 Pathol* 2007; 171 (1): 139-152

40. Bensman A, Niaudet P. Non-immunologic mechanisms of calcineurin inhibitors explain its antiproteinuric effects in genetic glomerulopathies. *Pediatr Nephrol* 2010; 25 (7): 1197-1199

41. Charbit M, Gubler MC, Dechaux M et al. Cyclosporin therapy in patients with Alport syndrome. *Pediatr Nephrol* 2007; 22 (1): 57-63

42. Massella L, Muda AO, Legato A et al. Cyclosporine A treatment in patients with Alport syndrome: a single-center experience. *Pediatr Nephrol* 2010; 25 (7): 1269-1275

43. Malina M, Cinek O, Janda J, Seeman T. Partial remission with cyclosporine A in a patient with nephrotic syndrome due to NPHS2 mutation. *Pediatr Nephrol* 2009; 24 (10): 2051-2053

44. Ruf RG, Lichtenberger A, Karle SM et al. Patients with mutations in NPHS2 (podocin) do not respond to standard steroid treatment of nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15 (3): 722-732

45. Gellermann J, Stefanidis CJ, Mitsioni A, Quersfeld U. Successful treatment of steroid-resistant nephrotic syndrome associated with WT1 mutations. *Pediatr Nephrol* 2010; 25 (7): 1285-1289

46. Faul C, Asanuma K, Yanagida-Asanuma E et al. Actin up: regulation of podocyte structure and function by components of the actin cytoskeleton. *Trends Cell Biol* 2007; 17 (9): 428-437

47. Mundel P, Reiser J. Proteinuria: an enzymatic disease of the podocyte? *Kidney Int* 2010; 77 (7): 571-580
48. Kriz W, Hackenthal E, Nobiling R et al. A role for podocytes to counteract capillary wall distension. *Kidney Int* 1994; 45 (2): 369-376
49. St John PL, Abrahamson DR. Glomerular endothelial cells and podocytes jointly synthesize laminin-1 and -11 chains. *Kidney Int* 2001; 60 (3): 1037-1046
50. Ina K, Kitamura H, Tatsukawa S et al. Clomerular podocyte endocytosis of the diabetic rat. *J Electron Microsc* (Tokyo) 2002; 51 (4): 275-279
51. Tryggvason K, Wartiovaara J. Molecular basis of glomerular permselectivity. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2001; 10 (4): 543-549
52. Kestila M, Lenkkeri U, Mдnnikkү M et al. Positionally cloned gene for a novel glomerular protein-nephrin mutated in congenital nephrotic syndrome. *Mol Cell* 1998; 1 (4): 575-582
53. Faul C, Donnelly M, Merscher-Gomez S et al. The actin cytoskeleton of kidney podocytes is a direct target of the antiproteinuric effect of cyclosporine A. *Nat Med* 2008; 14 (9): 931-938
54. Miao J, Fan Q, Cui Q et al. Newly identified cytoskeletal components are associated with dynamic changes of podocyte foot processes. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24 (11): 3297-3305
55. Yoshikawa N, Ito H, Akamatsu R et al. Clomerular podocyte vacuolation in focal segmental glomerulosclerosis. *Arch Pathol Lab Med* 1986; 110 (5): 394-398
56. Farquhar MG, Palade GE. Clomerular permeability. II. Ferritin transfer across the glomerular capillary wall in nephrotic rats. *J Exp Med* 1961; 114: 699-716
57. Craham RC Jr, Karnovsky MJ. Clomerular permeability. Ultrastructural cytochemical studies using peroxidases as protein tracers. *J Exp Med* 1966; 124 (6): 1123-1134
58. Van den Berg JG, van den Bergh Weerman MA, Assmann KJ et al. Podocyte foot process effacement is not correlated with the level of proteinuria in human glomerulopathies. *Kidney Int* 2004; 66 (5): 1901-1906
59. Chuang PY, He JC. Signaling in regulation of podocyte phenotypes. *Nephron Physiol* 2009; 111 (2): p9-15
60. Ina K, Kitamura H, Tatsukawa S et al. Clomerular podocyte endocytosis of the diabetic rat. *J Electron Microsc* (Tokyo) 2002; 51 (4): 275-279
61. Hartleben B, Godel M, Meyer-Schwesinger C. et al. Autophagy influences glomerular disease susceptibility and maintains podocyte homeostasis in aging mice. *J Clin Invest* 2010; 120 (4): 1084-1096
62. Morigi M, Buelli S, Angioletti S et al. In response to protein load podocytes reorganize cytoskeleton and modulate endothelin-1 gene: implication for permselective dysfunction of chronic nephropathies. *Am J Pathol* 2005; 166 (5): 1309-1320
63. Смирнов АВ, Добронравов ВА, Неворотин АИ и др. Гомоцистеин вызывает повреждение не только клубочкового, но и канальцевого отдела нефрона. *Нефрология* 2005; 9 (3): 81-87
64. Смирнов АВ, Добронравов ВА, Неворотин АИ и др. Гипергомоцистеинемия усугубляет повреждения нефрона при экспериментальной хронической почечной недостаточности. *Нефрология* 2005; 9 (4): 67-74
65. Tipping PG. Are podocytes passive or provocative in proteinuric glomerular pathology? *J Am Soc Nephrol* 2008; 19 (4): 651-653
66. Abe K, Miyazaki M, Koji T et al. Enhanced expression of complement C5a receptor mRNA in human diseased kidney assessed by in situ hybridization. *Kidney Int* 2001; 60 (1): 137-146
67. Nangaku M, Shankland SJ, Couser WG. Cellular response to injury in membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16 (5): 1195-1204
68. Couser WG, Nangaku M. Cellular and molecular biology of membranous nephropathy. *J Nephrol* 2006; 19 (6): 699-705
69. Topham PS, Haydar SA, Kuphal R et al. Complement-mediated injury reversibly disrupts glomerular epithelial cell actin microfilaments and focal adhesions. *Kidney Int* 1999; 55 (5): 1763-1775
70. Yuan H, Takeuchi E, Taylor GA et al. Nephrin dissociates from actin, and its expression is reduced in early experimental membranous nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13 (4): 946-956
71. Saran AM, Yuan H, Takeuchi E et al. Complement mediates nephrin redistribution and actin dissociation in experimental membranous nephropathy. *Kidney Int* 2003; 64 (6): 2072-2078
72. Doublier S, Ruotsalainen V, Salvadio G et al. Nephrin redistribution on podocytes is a potential mechanism for proteinuria in patients with primary acquired nephrotic syndrome. *Am J Pathol* 2001; 158 (5): 1723-1731
73. Beck LH Jr, Bonegio RG, Lambeau G et al. M-type phospholipase A2 receptor as target antigen in idiopathic membranous nephropathy. *N Engl J Med* 2009; 361 (1): 11-21
74. Glassock RJ Human idiopathic membranous nephropathy-a mystery solved? *N Engl J Med* 2009; 361 (1): 81-83
75. Ronco P, Debiec H. Antigen identification in membranous nephropathy moves toward targeted monitoring and new therapy. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21 (4): 564-569
76. Lai KN, Leung JC, Chan LY et al. Podocyte injury induced by mesangial- derived cytokines in IgA nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24 (1): 62-72
77. Li Y, Kang YS, Dai C et al. Epithelial -to-mesenchymal transition is a potential pathway leading to podocyte dysfunction and proteinuria. *Am J Pathol* 2008; 172 (2): 299-308
78. 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 (10): 1390-1397
79. Banas MC, Banas B, Hudkins KL et al. TLR4 links podocytes with the innate immune system to mediate glomerular injury. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19 (4): 704-713
80. D'Agati VD. Podocyte injury in focal segmental glomerulosclerosis: Lessons from animal models (a play in five acts). *Kidney Int* 2008; 73 (4): 399-406
81. Shankland SJ. The podocyte's response to injury: role in proteinuria and glomerulosclerosis. *Kidney Int* 2006; 69(12): 2131-2147
82. Torbjornsdotter TB, Perrin NE, Jaremko GA, Berg UB. Widening of foot processes in normoalbuminuric adolescents with type 1 diabetes. *Pediatr Nephrol* 2005; 20 (6): 750-758
83. White KE, Bilous RW, Marshall SM et al. Podocyte number in normotensive type 1 diabetic patients with albuminuria. *Diabetes* 2002; 51 (10): 3083-3089
84. Meyer TW, Bennett PH, Nelson RG. Podocyte number predicts long-term urinary albumin excretion in Pima Indians with Type II diabetes and microalbuminuria. *Diabetologia* 1999; 42(11): 1341-1344
85. Fioretto P, Mauer M. Histopathology of diabetic nephropathy. *Semin Nephrol* 2007; 27 (2): 195-207
86. Wiggins RC The spectrum of podocytopathies: a unifying view of glomerular diseases. *Kidney Int* 2007; 71 (12): 1205-1214
87. Patrakka J, Truggvason K. New insights into the role of podocytes in proteinuria. *Nat Rev Nephrol* 2009; 5 (8): 463-468
88. Reiser J, Gupta V, Kistler AD. Toward the development of podocyte-specific drugs. *Kidney Int* 2010; 77 (8): 662-668
89. Kriz W. Podocyte is the major culprit accounting for the progression of chronic renal disease. *Microsc Res Tech* 2002; 57 (4): 189-195
90. Kim YH, Goyal M, Kurnit D et al. Podocyte depletion and glomerulosclerosis have a direct relationship in the PAN-treated rat. *Kidney Int* 2001; 60 (3): 957-968
91. 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 (10): 2941-2952
92. Kretzler M. Role of podocytes in focal sclerosis: defining the point of no return. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16 (10): 2830-2832
93. Fogo AB Glomerular hypertension, abnormal glomerular growth, and progression of renal diseases. *Kidney Int Suppl* 2000; 75: S15-21

94. Lu TC, He JC, Klotman PE. Podocytes in HIV-associated nephropathy. *Nephron Clin Pract* 2007; 106 (2): c67-71
95. He JC, Husain M, Sunamoto M et al. Nef stimulates proliferation of glomerular podocytes through activation of Src-dependent Stat3 and MAPK1, 2 pathways. *J Clin Invest* 2004; 114 (5): 643-651
96. Korgaonkar SN, Feng X, Ross MD et al. HIV-1 upregulates VEGF in podocytes. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19 (5): 877-883
97. Barisoni L, Schnaper HW, Kopp JB. A proposed taxonomy for the podocytopathies: a reassessment of the primary nephrotic diseases. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2 (3): 529-542
98. Mathieson PW. Proteinuria and immunity – an overstated relationship? *N Engl J Med* 2008; 359 (23): 2492-2494
99. Mathieson PW. Podocyte actin in health, disease and treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25 (6): 1772-1773
100. Yanagida-Asanuma E, Asanuma K, Kim K et al. Synaptopodin protects against proteinuria by disrupting Cdc42: IRSp53: Mena signaling complexes in kidney podocytes. *Am J Pathol* 2007; 171 (2): 415-427
101. Asanuma K, Kim K, Oh J et al. Synaptopodin regulates the actin-bundling activity of alpha-actinin in an isoform-specific manner. *J Clin Invest* 2005; 115 (5): 1188-1198
102. Asanuma K, Yanagida-Asanuma E, Faul C et al. Synaptopodin orchestrates actin organization and cell motility via regulation of RhoA signalling. *Nat Cell Biol* 2006; 8 (5): 485-491
103. Yan K, Kudo A, Hirano H et al. Subcellular localization of glucocorticoid receptor protein in the human kidney glomerulus. *Kidney Int* 1999; 56 (1): 65-73
104. Xing CY, Saleem MA, Coward RJ et al. Direct effects of dexamethasone on human podocytes. *Kidney Int* 2006; 70 (6): 1038-1045
105. Castellino F, Heuser J, Marchetti S et al. Glucocorticoid stabilization of actin filaments: a possible mechanism for inhibition of corticotropin release. *Proc Natl Acad Sci USA* 1992; 89 (9): 3775-3779
106. Koukouritaki SB, Lianos EA. Glucocorticoid effect on human mesangial cell cytoskeletal proteins. *J Lab Clin Med* 1999; 133 (4): 378-383
107. Ranson RF, Lam NG, Hallett MA et al. Glucocorticoids protect and enhance recovery of cultured murine podocytes via actin filament stabilization. *Kidney Int* 2005; 68 (6): 2473-2483
108. Wada T, Pippin JW, Marshall CB et al. Dexamethasone prevents podocyte apoptosis induced by puromycin aminonucleoside: role of p53 and Bcl-2-related family proteins. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16 (9): 2615-2625
109. Wada T, Pippin JW, Nangaku M, Shankland SJ. Dexamethasone's prosurvival benefits in podocytes require extracellular signal-regulated kinase phosphorylation. *Nephron Exp Nephrol* 2008; 109 (1): e8-19
110. Wagrowska-Danilewicz M, Danilewicz M. Synaptopodin immunoexpression in steroid-responsive and steroid-resistant minimal change disease and focal segmental glomerulosclerosis. *Nefrologia* 2007; 27 (6): 710-715
111. Ehrich JH, Geerlings C, Zivicnjak M et al. Steroid-resistant idiopathic childhood nephrosis: overdiagnosed and undertreated. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22 (8): 2183-2193
112. Jain KK. Challenges of drug discovery for personalized medicine. *Curr Opin Mol Ther* 2006; 8 (6): 487-492

Поступила в редакцию 14.09.2010 г.

Принята в печать 17.11.2010 г.