

BUDOWA KLĘBUSZKA NERKOWEGO

AGNIESZKA HAŁOŃ

1. Charakterystyka ogólna

Podstawową jednostką strukturalno-funkcjonalną nerki jest nefron, składający się z kłębuszka nerkowego i długiej cewki nabłonkowej, której obraz zmienia się na różnych poziomach, co pozwala na wyróżnienie morfologiczne kilku przechodzących jeden w drugi odcinków: kanalik krętego I rzędu, pętli nefronu (pętla Henlego) z jej częścią wstępującą i zstępującą oraz kanalik krętego II rzędu. Liczba nefronów w nerce dorosłego człowieka szacowana jest na ok. milion, przy czym istnieje bardzo duża zmienność osobnicza tej liczby: od 600–800 tysięcy do 1,5 miliona. Zatem traktując kłębuszek jako surogat nefronu, należy mieć na uwadze ogrom potencjalnych „jednostek diagnostycznych” i świadomość, że w biopunktacie oceniamy zaledwie niewielki ich odsetek.

Kłębuszek nerkowy (ciałko lub kłębuszek Malpighiego, *glomerulus*) jest tworem o średnicy 160–200 μm , składającym się z 20–40 pętli naczyń włosowatych stanowiących rozgałęzienia tętniczki doprowadzającej łączących się z tętniczką odprowadzającą. Pętle naczyniowe układają się w kilka płacików, a między ramionami pętli istnieją połączenia.

W kłębuszku wyróżnia się biegun naczyniowy, w którym lokalizuje się miejsce wejścia tętniczki doprowadzającej i wyjścia tętniczki odprowadzającej, oraz biegun moczowy – miejsce połączenia kłębuszka z cewką bliższą. Kłębuszek otoczony jest torebką Bowmana składającą się z dwóch warstw komórek nabłonkowych. Zbudowana z nabłonka płaskiego warstwa ścienna (listek ścienny), przylegając do błony podstawnej w obszarze bieguna naczyniowego (wnęki kłębuszka), przechodzi na powierzchnię naczyń włosowatych i tworzy warstwę trzewną (listek trzewny), która jest zintegrowana ze ścianą naczynia. Przestrzeń pomiędzy pętlami naczyń włosowatych kłębuszka a jego torebką to przestrzeń filtracyjna (moczowa), w której gromadzi się pierwotny przesącz osocza. Pomiedzy pętlami naczyń włosowatych kłębuszka znajduje się mezangium.

Mezangium (*mesangium, stalk, axial space*) jest rodzajem tkanki łącznej występującej pomiędzy naczyniami kłębuszka. Między tętniczką doprowadzającą i odprowadzającą znajduje się mezangium zewnętrzne, a pomiędzy naczyniami włosowatymi kłębuszka mezangium wewnętrzne. Mezangium składa się z dwóch komponentów: istoty podstawowej, czyli macierzy mezangium, i komórek mezangialnych (mezangiocytów).

Macierz mezangium (*mesangial matrix*) to PAS-dodatnia istota podstawowa o składzie i strukturze przypominającej błonę podstawną (*basement membrane-like material*) tworząca przestrzenną sieć, w której rozrzucone są komórki mezangium. Jej podstawową strukturę stanowią włókienka zbudowane z kolagenu typu IV i V, fibronektyny, lamininy i innych proteoglikanów.

Komórki mezangium (*deep cells, deep endothelial cells, axial cells, intercapillary cells, intraluminal cells*) wywodzą się z mezenchymy, są pokrewne komórkom śródbłonka, komórkom sieci aparatu przykłębuszkowego czy fibroblastom i kontaktują się bezpośrednio z komórkami śródbłonka. Wypełniają przestrzeń pomiędzy kapilarami po stronie naczyniowej błony podstawnej, są podstawowymi komórkami stabilizującymi pętle i pęczki naczyniowe pomiędzy sobą i stanowią rodzaj „krezki” naczyń kłębuszka. Mają niewielką ilość cytoplazmy, nieregularne jądro i zaopatrzone są w liczne wypustki.

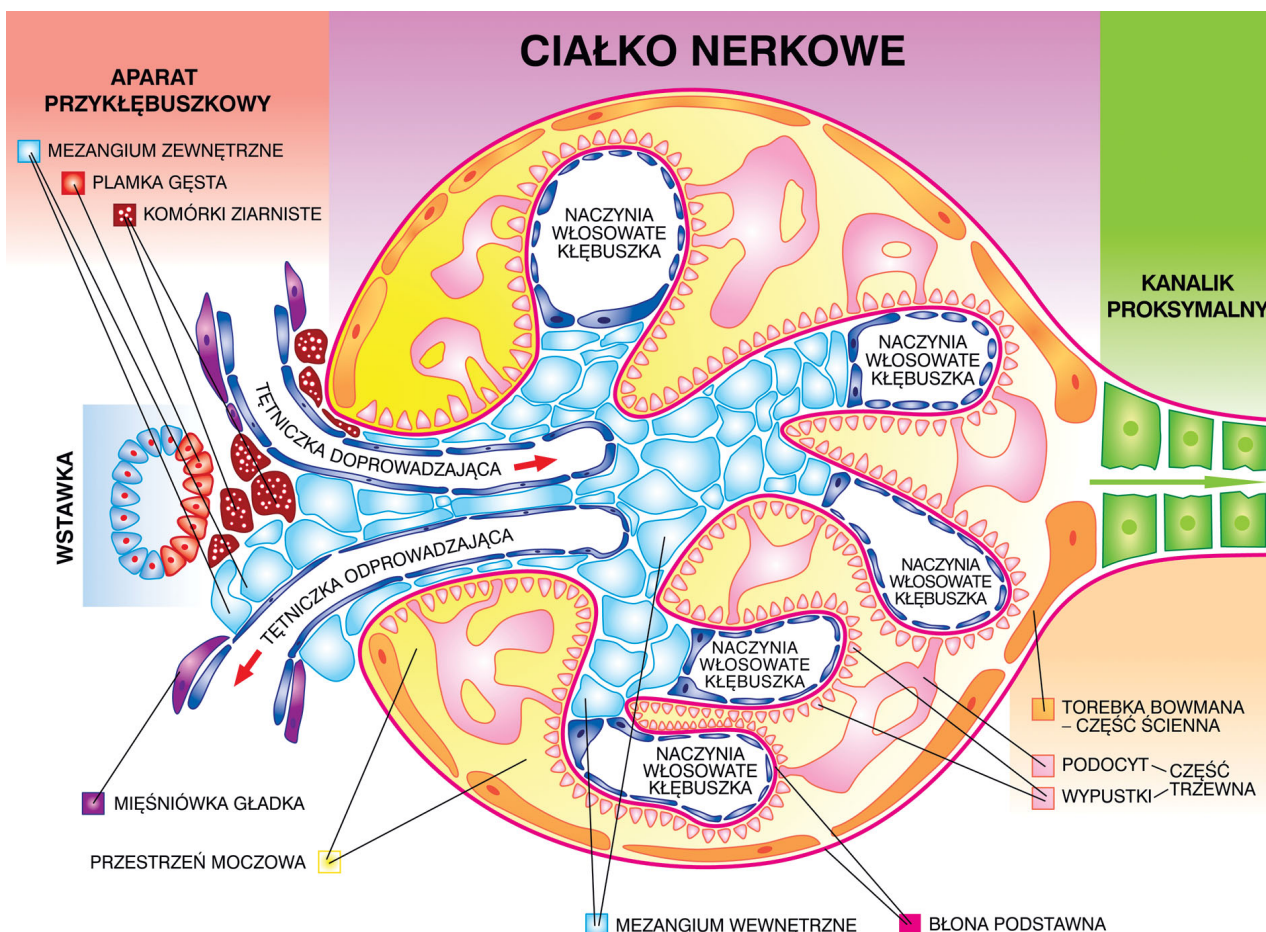
Komórki mezangium mają multipotencjalne możliwości i pełnią liczne funkcje:

- za sprawą obecności elementów kurczliwych cytoszkieletu charakteryzują się kurczliwością i są zdolne do regulacji hemodynamiki kłębuszka; są zatem rodzajem miofibroblastów i mogą zmieniać światło naczyń włosowatych kłębuszka; mają receptory dla szeregu czynników wpływających na skurcz naczyń (angiotensyna II, endotelina, adenozyne) i ich rozkurcz (NO i ANF) i poprzez bezpośredni lub pośredni (poprzez śródbłonek) kontakt z zawartymi w przepływającym osoczu substancjami naczynioaktywnymi kurczą się i rozkurczają, modelując tym samym wielkość powierzchni filtracyjnej i jej przepuszczalność (wielkość porów);
- produkują składniki międzykomórkowej macierzy mezangialnej i warunkują jej ciągły, dynamiczny remodeling;
- mają zdolność fagocytozy związków wielkocząsteczkowych pozostających w kłębuszku w wyniku filtracji, m.in. kompleksów immunologicznych;
- pełnią funkcję endokrynną, wydzielając wiele biologicznie aktywnych mediatorów;
- są regulatorami procesów zapalnych za sprawą obecności na swojej powierzchni receptorów dla interleukiny 2 (IL-2), transformującego czynnika wzrostu β (*transforming growth factor β – TGF- β*), płytkowego czynnika wzrostu (*platelet-derived growth factor – PDGF*), białek układu dopełniacza, immunoglobulin.

Mezangium zawiera w sobie również liczne monocyty (ryc. 1.).

2. Błona filtracyjna kłębuszka nerkowego

Najważniejsze znaczenie dla funkcji filtracyjnej nerki ma błona (bariera) filtracyjna, która od strony światła naczynia utworzona jest przez trzy warstwy: śródbłonek o typie okienkowym, błonę podstawną oraz podocyty wraz z wypustkami stopowatymi.



Rycina 1. Struktura ciała nerkowego

2.1. Błona podstawna

Błona podstawna (*glomerular basement membrane* – GBM) jest elementem stabilizującym strukturę włosniczek i kłębuszka i zasługuje na szczególną uwagę, stanowi bowiem jedyną ciągłą warstwę w fizjologicznym ultrafiltrze osocza. Jest grubą, homogenną, środkową warstwą bariery filtracyjnej, której grubość zmienia się z wiekiem. U dzieci wynosi od ok. 110 nm, a u dorosłych 310–350 nm, a nawet 400 nm, przy czym u mężczyzn jest wyraźnie grubsza niż u kobiet. Obserwacje w mikroskopie elektronowym pokazały, że zbudowana jest z trzech warstw: blaszki środkowej grubości 50–100 nm (ciemnej, elektronowo gęstej; *lamina densa*) oraz blaszki jasnej zewnętrznej podnabłonkowej (*lamina rara externa*) o mniejszej gęstości i blaszki jasnej wewnętrznej podśródbłonkowej (*lamina rara interna*), każda z nich o grubości 20–50 nm. Błona podstawna nie otacza naczyń włosowatych całkowicie, ale ok. 4/5 obwodu naczynia włosowatego, następnie przechodzi w błonę oddzielającą przestrzeń mezangialną od przestrzeni Bowmana, otacza wąskie pasmo mezangium między naczyniami, aby ponownie stać się błoną podstawną następnej włosniczki.

Błona podstawna jest wytwarzana przez komórki śródbłonka, podocyty i w niewielkim stopniu przez mezangiocyty. Jak wszystkie błony podstawne, zbudowana jest z glikoprotein i polianionowych proteoglikanów. Głównym elementem strukturalnym błony podstawnej, zdecydowa-

nie dominującym ilościowo w blaszce gęstej, jest kolagen typu IV. Zbudowany jest z unikatowych łańcuchów białkowych oznaczanych $\alpha 3$, $\alpha 4$ i $\alpha 5$, tworzących usieciowany system filamentów, za sprawą których warstwa ta pełni funkcję filtru fizycznego. Blaszkę jasną zawierają: lamininy – trzy izoformy α , β i γ formujące heterotrimer, fibronektynę oraz entaktynę (*nidogen*), będącą pojedynczym łańcuchem spajającym sieć kolagenu IV i laminin. W obrębie blaszki zewnętrznej i wewnętrznej znajdują się ponadto proteoglikany zbudowane z rdzenia białkowego połączonego z jednym lub dwoma glikozaminoglikanami (GAG), którymi są siarczan heparanu lub siarczan dermatanu. Proteoglikany zawierające siarczan heparanu są najistotniejszymi ogniwami polianionowej struktury GBM i obejmują dominującą ilościowo agrynę (wytwarzaną głównie przez podocyty), a także perlekan (syntetyzowany głównie przez komórki śródbłonka) i kolagen niewłókienny typu XVIII. Wszystkie one są wydzielane do macierzy zewnątrzkomórkowej wszystkich narządów, a w kłębuszku dwa ostatnie zlokalizowane są głównie w macierzy mezangium. Proteoglikanem zawierającym siarczan chondroityny jest bemekan, który występuje wyłącznie w niedojrzalej (płodowej) GBM, a zanika z GBM dorosłych, pozostając wyłącznie w macierzy mezangium. Składniki błony podstawnej mają charakter silnych antygenów, co ma istotne znaczenie przy przeszczepianiu nerek oraz w chorobach autoagresywnych.

2.2. Śródbłonek naczyń włosowatych kłębuszka

Od strony światła naczynia błona podstawna pokryta jest pojedynczą warstwą komórek śródbłonka, które mają ujemny ładunek dzięki licznie występującym siałoproteinom. Każda z komórek śródbłonka przylega do błony podstawnej na całym obwodzie naczynia. Na wysokości jądra wpuklonego do światła komórka jest dość gruba, a w obszarze cytoplazmy poza nim zupełnie płaska. W obrębie części płaskiej cytoplazmy znajdują się liczne otwory (pory, „okienka”) o średnicy 50–100 nm, z których większość nie ma błon zamykających ich światło. Okienka są więc łatwo przepuszczalne dla wody i substancji w niej rozpuszczonych, które mają średnicę nawet znacznie większą od cząsteczki albumin; średnica okienka jest bowiem niemal 15-krotnie większa od średnicy cząsteczki albumin. Zatem jest to śródbłonek porowaty, niespotykany w innych narządach, a jego nieciągła struktura jest kolejnym elementem morfologicznym ułatwiającym filtrację. Komórki śródbłonka wydzielają wiele czynników naczynioruchowych: powodujące skurcz naczyń endoteliny i płytkowy czynnik wzrostu (PDGF) oraz działające rozkurczająco na naczynia tlenek azotu i prostacykliny. Odgrywają także istotną rolę w regulacji procesów angiogenezy, koagulacji i fibrylizacji.

2.3. Podocyty – komórki listka trzewnego torebki Bowmana

Są wysoko wyspecjalizowanymi, najbardziej zróżnicowanymi komórkami kłębuszka nerkowego i należą zarazem do najbardziej zróżnicowanych komórek całego organizmu. W przeciwieństwie do większości komórek nabłonkowych nie mają zdolności proliferacyjnych, należą zatem do populacji komórek postmitotycznych, co oznacza, że ich śmierć lub utrata w stanach chorobowych jest dla nerki nieodwracalna w skutkach. Nie przylegają one płasko do błony podstawnej, ale dzięki swojej unikatowej strukturze kontaktują się z nią za pośrednictwem wypustek. Każdy z podocytów związany jest z więcej niż jedną tętniczką, a każda tętniczka pokryta jest przez kilka podocytów. Podocyty oplatają swoimi wypustkami włóscizki kłębuszka, tworząc wokół nich gęstą, porowatą warstwę.

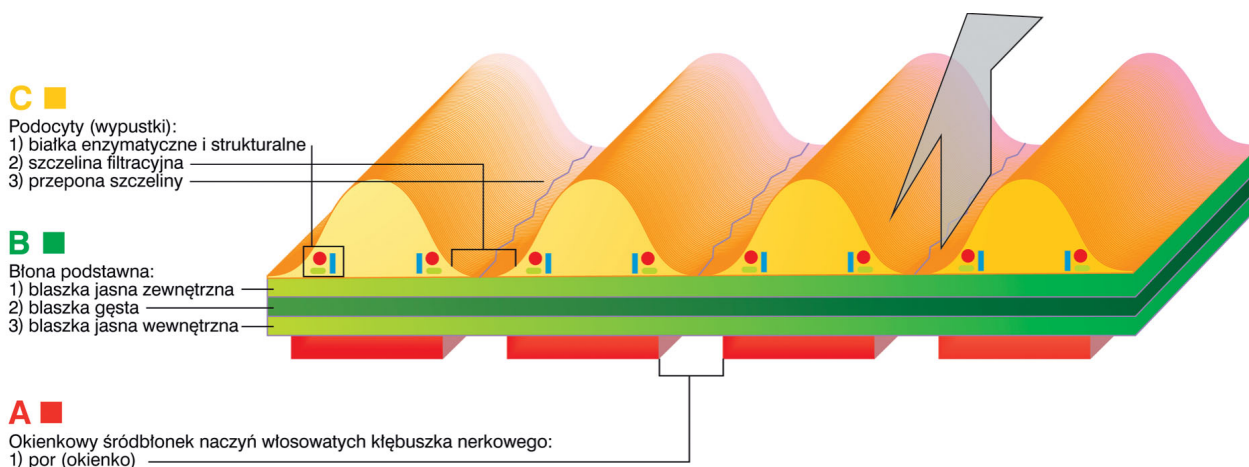
Struktura podocytów charakteryzuje się bardzo dobrze rozbudowanym cytoszkieletem i wyróżnia się w ich obrębie trzy strukturalne i funkcjonalne segmenty: ciało komórki, wypustki główne (większe) i wypustki stopowate. Dwa pierwsze są zawieszony w przestrzeni torebki kłębuszka, a palczaste wypustki stopowate cytoplazmy podocytów przylegają do blaszki jasnej zewnętrznej i są częściowo w niej zatopione. Wypustka stopowata podocyta zawiera aparat kurczliwy złożony z aktyny, aktyniny, miozyny, winkuliny, wimentyny, paksyliny i taliny. Za prawidłową strukturę i funkcję wypustek stopowatych odpowiadają specyficzne białka, będące markerami ich strukturalnej i czynnościowej dojrzałości. Są to m.in. podokaliksina, podoplanina, kłębuszkowe białko nabłonkowe 1 (*glomerular epithelial protein 1* – GLEPP1), synaptopodyna, receptor składowej dopełniacza C3b (C3bR), białko szoku termicznego 27 (*heat shock protein 27* – hsp27), trójfosfataza guanozyny Rab3A i rabfilina 3A (*rabphilin-3A*).

Podokaliksina jest najważniejszą siałoproteiną glikokaliksu decydującą o jego ujemnym ładunku. Występuje

wyłącznie w szczytowej części podocyta. Za pośrednictwem białka łączącego ezryny związana jest z aktywną cytoszkieletu, wpływa na strukturę wypustek stopowatych i na selektywną przepuszczalność bariery filtracyjnej. Ma również właściwości przeciwadhezyjne i zapobiega zlepianiu się wypustek stopowatych, dzięki czemu zapewnia otwarcie błon szczelinowych. Ekspresję zidentyfikowanej początkowo w podocytach podokaliksiny wykazują również komórki śródbłonka, płytki krwi, komórki mezotelium oraz niektóre populacje neuronów. Co ciekawe, występuje ona również w nowotworach złośliwych: w guzach nienasieniakowych jądra (rak zarodkowy), w raku piersi, prostaty, trzustki, raku wątrobowokomórkowym, guzie Wilmsa oraz w złośliwych nowotworach układu hemopoetycznego. Podoplanina jest białkiem szczytowej części wypustek stopowatych, któremu przypisuje się zdolność do kontrolowania ich kształtu – jej zmniejszona ilość skutkuje spłaszczeniem wypustek. Odgrywa także rolę w połączeniu z błoną podstawną. Jej ekspresję wykazano również w naczyniach limfatycznych, pneumocytach typu I, osteocytach, osteoblastach i komórkach mezotelium. Bogata w prolinę synaptopodyna wykazuje linijne rozmieszczenie w cytoplazmie wzdłuż filamentów aktynowych i bierze udział w regulacji i modyfikacji kształtu i ruchliwości wypustek stopowatych. Jest ważnym markerem pełnej dojrzałości fenotypowej i funkcjonalnej podocytów.

Główną funkcją podocytów jest udział w filtracji kłębuszkowej. Droga przepływu filtratu kłębuszkowego jest ściśle określona i przebiega przez kolejne, następujące po sobie punkty: okienka śródbłonka, błonę podstawną oraz błony szczelinowe zamykające szczeliny pomiędzy wypustkami stopowatymi podocytów. Sąsiadujące ze sobą wypustki stopowate są przedzielone szczelinami filtracyjnymi szerokości 20–30 nm, których brzegi połączone są cienką błoną, tzw. filtracyjną błoną szczelinową (*slit membrane*), która jest w istocie najważniejszym elementem w funkcjonowaniu bariery filtracyjnej. Błona ta zakotwiczona jest w podstawno-bocznym regionie wyrostków stopowatych i łączy je ze sobą. W skład struktury błon wchodzi szereg białek tworzących funkcjonalny kompleks budujący i wzmacniający, ale do najważniejszych należą nefryna i podocyna. Należą one do transbłonowych białek sygnałowych przekazujących informacje z zewnątrz do wnętrza komórki. Pozostałe białka błon szczelinowych to białko związane z CD2 (*CD2-associated protein* – CD2AP), białko podobne do nefryny (Neph1), α -aktynina 4 oraz niedawno poznane białka adhezyjne – densyna i *zonula occludens-1* (ZO-1).

Nefryna należy do rodziny komórkowych cząsteczek adhezyjnych i do nadrodziny immunoglobulin. Jest białkiem swoistym dla podocytów, którego główną funkcją jest kształtowanie szkieletu błon szczelinowych wg modelu „zamka błyskawicznego”, co wykazano za pomocą mikroskopu elektronowego. Przy braku nefryny nie dochodzi do dojrzenia błon szczelinowych. Mutacja zlokalizowanego na chromosomie 19q13.1 genu nefryny *NPHS1* jest przyczyną dziedzicznego autosomalnie recesywnie wrodzonego zespołu nerczycowego typu fińskiego, w którym duży białkomoczn występuje już w czasie życia płodowego. Obecnie znanych jest już ponad 50 rodzajów mutacji genu *NPHS1* występujących poza Finlandią. Drugim kluczowym białkiem błon szczelinowych jest podocyna – integralne białko błonowe



Rycina 2. Schemat bariery filtracyjnej

łącznie się z cytoplazmatyczną domeną nefryny i dwoma innymi białkami: CD2AP i Neph1. Mutacje zlokalizowanego na chromosomie 1q25 genu podocytyny *NPHS2* odpowiedzialne są zarówno za dziedziczny, autosomalnie recesywny wrodzony zespół nercycowy, jak i idiopatyczny, zdarzający się sporadycznie.

Czynnikiem, który wydaje się mieć szczególne znaczenie w przyleganiu podocytów do błony podstawnej, zakotwiczenie w niej, a tym samym utrzymanie struktury i funkcji bariery filtracyjnej, jest dystroglikan – białko przezłonowe wyrostków stopowatych. Łączy się z agryną i lamininą w GBM oraz z aktywną wewnątrz podocytów i aktywnie modeluje organizację białek błony podstawnej, a co za tym idzie – jej przepuszczalność.

Podocyty biorą także aktywny udział w przebudowie błony podstawnej. Są odpowiedzialne za syntezę jej elementów składowych (kolagen IV, fibronektyna, proteoglikany), biorąc zarazem udział w ich degradacji za sprawą widzialnych enzymów proteolitycznych.

W niektórych stanach patologicznych podocyty zmieniają swoją strukturę, tracą drobne wypustki i przylegają do włócniczek szerokimi powierzchniami. Co więcej, mogą wówczas wytwarzać nowe składowe i warstwy błony podstawnej. To pogrubienie błony podstawnej i kształtowanie w miejsce cienkich wypustek podocytarnych nowych, grubych wypustek jest przyczyną istotnego utrudnienia filtracji osocza. Podocyty wydają się najbardziej wrażliwym ogniwem w patogenezie licznych glomerulopatii, a ich opis morfologiczny ważną wskazówką diagnostyczną w stanach chorobowych nerki (ryc. 2.).

3. Uwagi i komentarz praktyczny

3.1. Wielkość kłębuszków

Kłębuszki nerkowe zlokalizowane są w trzech obszarach kory nerki:

- podtorebkowo w najbardziej zewnętrznym rejonie,
- w środkowym obszarze,
- przyrdzeniowo.

W czasie glomerulogenezy w okresie życia płodowego pierwsze pojawiają się kłębuszki przyrdzeniowe i to one w pierwszych 5–6 miesiącach życia postnatalnego są wyraźnie większych rozmiarów.

Wielkość kłębuszków nerkowych charakteryzuje się znaczną zmiennością i uwarunkowana jest wpływem szeregu czynników osobniczych. Tradycyjnie opisuje się, że kłębuszki przyrdzeniowe są większe niż kłębuszki korowe zlokalizowane powierzchownie. Należy jednak zaznaczyć, że morfometryczne badania stereologiczne bioptatów nerek u osób pomiędzy 20. a 30. rokiem życia wykazały brak istotnych różnic pomiędzy populacjami kłębuszków. Jednakże u osób starszych (50.–70. rok życia) powierzchowne kłębuszki korowe są średnio o 20% większe niż kłębuszki przyrdzeniowe. Wiąże się to z uogólnionym procesem twardnienia kłębuszków, który jest bardziej nasilony w warstwie korowej, co skutkuje kompensacyjnym przerostem kłębuszków w tej części nerki.

3.2. Twardnienie kłębuszków i dopuszczalna liczba kłębuszków stwardniałych

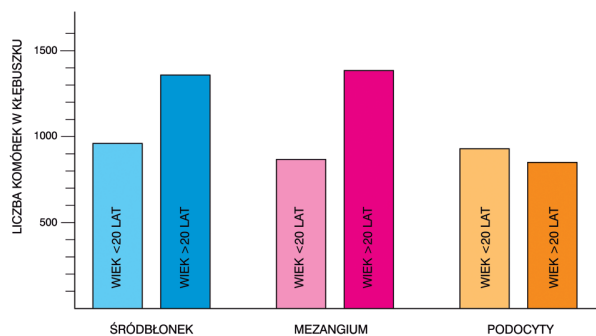
Uogólnione twardnienie kłębuszków może być obserwowane w kłębuszkach nerkowych bez innych uchwytanych zmian patologicznych jako efekt procesu starzenia się. Wykazano, że w 95% preparatów pochodzących od osób do 40. roku życia można zaobserwować do 10% stwardniałych kłębuszków. Należy zatem pamiętać, że obecność w biopunkcie stwardniałych kłębuszków niekoniecznie wskazuje na chorobę nerek.

Praktyczny wzorec do oceny dopuszczalnej liczby stwardniałych kłębuszków:

$$\text{liczba stwardniałych kłębuszków} = \frac{\text{wiek pacjenta}}{2} - 10$$

3.3. Liczba komórek kłębuszka

Całkowita liczba wszystkich populacji komórek kłębuszka w pierwszych latach życia wynosi ok. 2800. Z wiekiem niemal półtorakrotnie zwiększa się liczba komórek mezangium i śródbłonek, nie zmienia się natomiast, a nawet maleje, liczba podocytów (ryc. 3.). W prawidłowym kłębuszku ogłą-



Rycina 3. Zależność liczby poszczególnych populacji komórek w kłębuszku od wieku

danym w preparacie histologicznym grubości 5 μm widać średnio 110–190 komórek, w tym do 4 monocytów.

Praca finansowana z grantu MNiSW: N N402 088735, oraz wykonana w ramach projektu pn. „Program rozwoju Akademii Medycznej we Wrocławiu” realizowanego ze środków Europejskiego Funduszu Społecznego, Program Operacyjny Kapitał Ludzki (Umowa nr UDA-POKL.04.01.01-00-010/08-00).

Piśmiennictwo

- Goldberg S, Harvey SJ, Cunningham J, et al. Glomerular filtration is normal in the absence of both agrin and perlecan – heparin sulfate from the glomerular basement membrane. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 2044-2051.
- Haraldson B, Jeansson M. Glomerular filtration barrier. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2009; 18: 331-335.
- Heptinstall's Pathology of the Kidney. Jennette JC, Olson JL, Schwartz MM, Silva FG (eds.). 6th ed. Wolters Kluwert, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2006; 2-70.
- Histology for Pathologists. Mills SE (ed.). 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2006.
- Kokot F, Hyla-Klekot L. Białkomocz kłębuszkowy – wybrane aspekty patofizjologiczne wczoraj i dziś. *Nefrol Dializ Pol* 2009; 13: 153-156.
- Kopp JB. Dystroglycan in the molecular diagnosis of the podocytopathies. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 1696-1698.
- Kubiak A, Niemi Z. Znaczenie podocytów w prawidłowym funkcjonowaniu kłębuszka nerkowego oraz w patogenezie kłębuszkowych zapaleń nerek. *Postępy Hig Med Dośw* 2006; 60: 248-258.
- Mathieson PW. Update on the podocyte. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2008; 18: 206-211.
- Nefrologia. Książek A, Rutkowski B (red.). Wydawnictwo Czelej, Lublin 2004.
- Nielsen JS. The role of podocalyxin in health and disease. *J Am Soc Nephrol* 2009; 20: 1669-1676.
- Ostrowski K. Histologia. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1995.
- Patrakka J, Martin P, Salonen R, et al. Proteinuria and prenatal diagnosis of congenital nephrosis in fetal carriers of nephrin gene mutations. *Lancet* 2002; 359: 1575-1577.
- Regele HM, Phillipovic E, Langer B, et al. Glomerular expression of dystroglycans is reduced in minimal change nephrosis but not in focal segmental glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 403-412.
- Sawicki W. Histologia. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2009.
- Silva's Diagnostic Renal Pathology. Zhou XJ, Laszik Z, Nadasdy T, et al. (eds.). Cambridge University Press, New York 2009; 1-46.