

IZRAŽAJ KOŠTANIH MORFOGENETSKIH PROTEINA U BUBREZIMA

VESNA FURIĆ ČUNKO, PETAR KES i NIKOLINA BAŠIĆ JUKIĆ

Klinički bolnički centar Zagreb, Klinika za unutarnje bolesti, Zavod za nefrologiju, arterijsku hipertenziju, dijalizu i transplantaciju, Zagreb, Hrvatska

Koštani morfogogenetski proteini (BMP, od engl. *Bone Morphogenetic Proteins*) obuhvaćaju veliku skupinu čimbenika rasta. Do danas je poznato više od 20 članova BMP obitelji. Temeljem sličnosti strukture i funkcije BMP se dijele u četiri podskupine: BMP-2/4, BMP5/6/7/8a/8b, BMP9/10 i BMP12/13/14. Svaki BMP ima specifična strukturna obilježja koja ga diferenciraju od ostalih članova obitelji. Članovi obitelji koštanih morfogogenetskih proteina sudjeluju u različitim stadijima razvoja bubrega. Primjerice, BMP-2 inhibira granajuću morfogenezu na vršcima ureteričnog pupoljka, BMP-4 je izražen u metanefričkom mezenhimu duž Wolffove cijevi prije početka razvoja bubrega, mezenhimu koji okružuje ureterični pupoljak prije invazije i u mezenhimskim stanicama uz ureterični držak nakon završetka indukcije. BMP-7 je jedini od koštanih morfogogenetskih proteina za koji je dokazano da je ključan u razvoju bubrega. Članovi BMP obitelji imaju ulogu u održavanju strukture i funkcije bubrega u odrasloj dobi. Eksperimentalni modeli pokazuju da BMP-7 prevenira ishemijsko/reperfuzijsko oštećenje. U uzorcima biopsija bubrega bolesnika s dijabetičkom nefropatijom smanjen je izražaj BMP-7. Također je nađen i potisnut izražaj BMP-7 mRNK u tumorima svijetlih stanica bubrega, što ukazuje na zaštitnu ulogu BMP-7 u održavanju strukture i funkcije odraslih bubrega. Koštani morfogogenetski proteini su ključni čimbenici koji reguliraju razvoj bubrega, a njihova uloga se proteže i na održavanju njegove normalne strukture i funkcije odraslog bubrega.

Ključne riječi: koštani morfogogenetski proteini, bubreg, fibroza

Adresa za dopisivanje: Vesna Furić Čunko
Zavod za nefrologiju, arterijsku hipertenziju, dijalizu i transplantaciju
Klinika za unutarnje bolesti
Klinički bolnički centar Zagreb
Kišpatićeva 12
10000 Zagreb, Hrvatska

UVOD

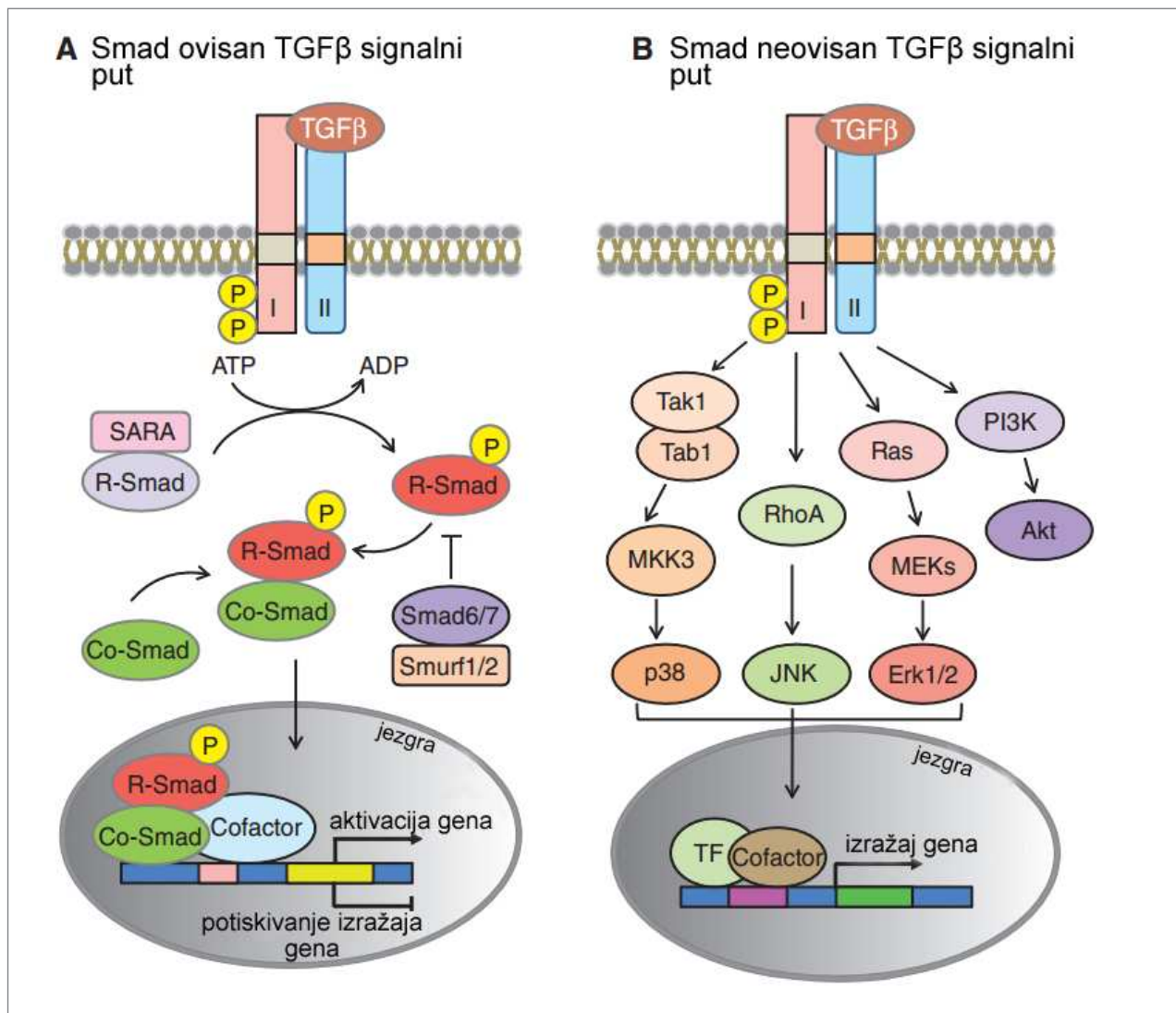
Koštani morfogogenetski proteini (BMP, od engl. *Bone Morphogenetic Proteins*) obuhvaćaju veliku skupinu filogenetski konzerviranih čimbenika rasta, do danas je poznato više od 20 članova BMP obitelji (1).

Isprva otkriveni u koštanom tkivu šezdesetih godina prošlog stoljeća, BMP su uskoro otkriveni i u ostalim tkivima i organima. Dr. Marshall Urist je početkom šezdesetih godina prošlog stoljeća istraživao sposobnost stvaranja ektopičnog koštanog tkiva. Dokazao je da organska komponenta kostiju ima sposobnost stvaranja kosti na izvanskeletnim mjestima. Proteine organskog matriksa kosti je nazvao "koštanim morfogogenetskim proteinima" (2-4). Brojna istraživanja pokazala su njihovu funkciju u velikom broju različitih

razvojnih procesa te su neki autori čak i skloni promjeni njihovog imena u morfogogenetski proteini tijela (engl. *Body Morphogenic Proteins*) [5]. Ovim pregledom obuhvaćene su trenutne spoznaje o ulozi i izražaju koštanih morfogogenetskih proteina u razvoju bubrega i u razvijenom bubregu.

STRUKTURA, FUNKCIJA I SIGNALIZACIJA KOŠTANIH MORFOGENETSKIH PROTEINA

Nadobitelj TGF- β se sastoji od nekoliko obitelji signalnih molekula: TGF-beta, BMP, aktivini, inhibini i GDNF (od engl. *Glial cell line-Derived Neurotrophic Factor*) (6). BMP čine najveću obitelj TGF- β nadobitelji.



Sl. 1. Unutarstanični prijenos signala Smad ovisnim i Smad neovisnim putem (prilagođeno prema: Miyazono K. TGF-beta signaling by Smad proteins. Cytokine Growth Factor Rew 2000; 11: 15-22)

Temeljem sličnosti strukture i funkcije BMP se dijele u četiri podskupine: BMP-2/4, BMP5/6/7/8a/8b, BMP9/10 i BMP12/13/14. Svaki BMP ima specifična strukturalna obilježja koja ga diferenciraju od ostalih članova obitelji (7).

Svi BMP građom su dimerne molekule sa sličnim primarnim slijedom aminokiselina. Svaka podjedinica sadrži tri disulfidne veze unutar lanaca, a podjedinice su međusobno vezane četvrtom vezom. Većinom nastaju kao velike prekursorne molekule koje sadrže 400 do 500 aminokiselina, koje cijepanjem propeptida poprimaju definitivni aktivan oblik (7).

Nakon cijepanja na primarnom mjestu, prodomena za pravilno "savijanje" ostaje povezana sa zrelim aktivnim BMP dimerom putem kovalentne veze. Danas

se zna da zadržavanje prodome ne ima ulogu u direktnom vezanju na fibriline izvanstaničnog matriksa. Pojedini pripadnici obitelji podliježu sekundarnom cijepanju unutar prodome čime nastaje kratka ili duga prodomena što utječe na daljnji prijenos signala. BMP-4 i BMP-2 imaju takva sekundarna mjesta cijepanja unutar prodome (8). Ostaje čitav niz nepoznanica u tom području i tek nam preostaje objasniti procese i značenje homo- i heterodimerizacije članova obitelji s različitim oblicima prodome. Pojašnjenje tih mehanizama bi moglo pojasniti i problem biološke raspoloživosti BMP.

Situaciju dodatno komplicira činjenica da BMP 1-7 mogu postojati i kao sastojci vezikula matriksa unutar hondrocita ploče rasta (9). Te vezikule služe kao mineralizacijski centri s različitim potencijalom djelova-

nja ovisno o položaju unutar ploče rasta. Zna se da su BMP-2 i BMP-4 prisutni u serumu i općenito se smatra da se radi o aktivnim zrelim oblicima, što ne mora uvijek biti slučaj.

Biološka raspoloživost aktivnih oblika BMP je dodatno komplicirana postojanjem različitih inhibitora. Danas je poznato više od 15 različitih antagonista (10). Smatra se da strukturna osnova za njihovu inhibitory aktivnost leži u odsutnosti sedmog cisteinskog ostatka koji je neophodan za dimerizaciju. Mehanizam kojim djeluju inhibitory na BMP još nije poznat. Vjeruje se da mogu blokirati međudjelovanje BMP s receptorom bilo maskiranjem epitopa na BMP koji su odgovorni za interakciju s receptorima tip I i II ili da se natječu za isto vezno mjesto. Djelovanje antagonista ovisi o njihovom izražaju, biološkoj raspoloživosti i afinitetu prema određenom članu BMP obitelji. Veza između BMP i antagonista nije kovalentna i zbog toga može biti i reverzibilna (5).

REGULACIJA NA STANIČNOJ POVRŠINI

Na površini stanice dolazi do spajanja BMP liganda s izvanstaničnom domenom BMP receptora čime se stvara signalni sklop (5).

Receptori za BMP su serin/treonin kinazni receptori, građeni od kratke izvanstanične domene sa 10 do 12 cisteinskih ostataka, pojedinačne transmembranske domene i unutarstanične serin/treonin kinazne domene (6). Postoji pet poznatih BMP receptora tip I: ALK 1, ALK 2, ALK 3, ALK 4 i ALK 6, i tri receptora tip II: BRIA, ActRIIa i ActRIIb. Neki od njih služe kao receptori i ostalim članovima nadobitelji TGF-beta (11). Svi receptori dijele osnovnu strukturu, ali različita vezna mjesta i relativna lokacija proizvode različite modele vezanja za BMP i ostale članove obitelji. Koji će od receptora tip I stupiti u interakciju s pojedinim BMP određeno je strukturnim obilježjima i ostacima koji su izloženi na veznim mjestima i liganda i receptora. U pojedinačnim je slučajevima proces moduliran posttranslacijskim promjenama kao što je N-glikozilacija BMP-6 koja je neophodna za interakciju s ActR-I. Koštani morfogenetski proteini se vežu na specifične receptore različitim intenzitetom. Pri niskim efektivnim koncentracijama BMP će se vezati na dimerni tip I receptora za koji imaju viši relativni afinitet prije vezanja na monomerni tip I receptora. Izvješća o afinitetu BMP-7 za vezanje na receptore su neujednačena. Pojedini autori navode da BMP-7 ima viši afinitet vezanja na receptor tipa II, dok drugi smatraju da je afinitet podjednak za vezanje na receptore tip I i II (12-15). Sliku dalje komplicira postojanje prethodno opisane domene.

Nakon vezanja liganda dolazi do aktivacije tip I kinaze fosforilacijom unutar jukstamembranskog područja citoplazmatske domene koja je bogata glicinskim i serinskim ostacima, konstitutivno aktivnom kinazom tip II. Smatra se da do aktivacije receptora dolazi konformacijskom promjenom potaknutom vezanjem liganda.

PRIJENOS SIGNALA

Aktivacija BMP signalnog puta započinje vezanjem BMP liganda za kompleks receptora tipa I i tipa II nakon čega receptor tipa I procesuirao BMP signal u stanicu i pokreće jedan od dva signalna puta (16). Unutar TGF- β nadobitelji prijenos signala se većinom prenosi putem Smad signalnog puta.

Iako dijele neka osnovna obilježja s ostalim članovima nadobitelji TGF- β , pleomorfne funkcije koje obavljaju članovi obitelji BMP zahtijevaju znatno složeniji signalni put.

Jedno od obilježja BMP je visok stupanj promiskuiteta prilikom vezanja na receptore i regulatore koje dijele s ostalim članovima nadobitelji TGF-beta. Zbog toga završni ishod prijenosa signala u velikoj mjeri ovisi o vremensko-prostornim obilježjima pri kojima je došlo do sekrecije BMP u cirkulaciju (17,18).

BMP aktiviraju Smad-ovisne i brojne Smad-neovisne signalne puteve (sl. 1) kojima direktno utječu na transkripciju gena. Aktivacija ovih signalnih puteva potječe od heteromernih kompleksa tip I i tip II serin/treonin kinaza receptora. Aktivacijski put ovisi o tipu I receptora koji se veže na ligand (16).

Smad proteini se dijele u tri razreda: regulatorni Smad (R-Smad), obični Smad (co-Smad) i inhibitory Smad (I-Smad). Dok su Co-Smad (Smad-4) i I-Smad (Smad-6 i Smad-7) uključeni i u TGF- β i u BMP signalne puteve, aktivirani tip I receptor nakon specifične aktivacije R-Smad razlikuje TGF-beta i BMP Smad-ovisan prijenos signala. Velika većina BMP neselektivno aktivira Smad 1,5, i 8 zbog vezanja na receptor tip I, neki BMP (11 i 16) aktiviraju Smad 2 i 3 zbog vezanja na TGF- β receptore (16, 18). Iako je Smad signalni put najbolje istražen, postoji još čitav niz nepoznanica poput primjerice mehanizma aktivacije i moguće endocitoze. Aktivirani tip I BMP receptora fosforilira Smad 1, 5 ili 8 koji se spaja sa Smad 4 u jedan heterodimerski kompleks. Fosforilacija Smad 1, 5 ili 8 ovisi o vezanom ligandu. Taj heterodimerski kompleks ulazi u jezgru i veže se za SME (od engl. *Smad DNA binding Element*), odnosno BRE (od engl. *BMP responsive elements*) koji regulira prijepis gena (5).

Aktiviranje ALK3 receptora tipa I započinje nizvodni signalni put kao što je izvanstanično regulirana kinaza (engl. *Extracellular signal-Regulated Kinase*, ERK), map kinaza p38, C-jun N-terminalna kinaza (JNK), i jezgrin čimbenik kappa beta (engl. *nuclear factor kappa beta*, NF κ B). Smatra se da je signalni putevi aktiviraju međudjelovanjem proteina BRAM1 (engl. *Bone morphogenetic protein Receptor Associated Molecule1*) ili XIAP (engl. *X-linked inhibitor of apoptosis protein*), nizvodnih signalnih molekula TAK1 (engl. *TGF β Activated Kinase 1*) i TAB1 (*TAK1 binding protein*) s ALK3 (19, 20). BRAM1 se izravno veže sa citoplazmatskim dijelom ALK3 i veže ga s TAB1. ALK3 aktivira XIAP i veže ga s TAB1-TAK1 kompleksom (21). Nizvodno od TAK1 aktiviraju se NF κ B, p38 i JNK. Iako nije poznat put aktivacije BMP mogu aktivirati ERK, fosfoinozimid 3-kanaza, protein kinazu A, PKC. Svi ti signalni putevi reguliraju prijelaz gena, a regulacijom prijelaza različitih gena BMP utječu na proliferaciju, diferencijaciju, morfogenezu i apoptozu (16,22).

IZRAŽAJ I ULOGA BMP U RAZVOJU BUBREGA I RAZVIJENIM BUBREŽIMA

U embrionalnom razvoju čovjeka nastaju tri različite generacije bubrega. Bubrezi se razvijaju iz intermedijarnog mezoderma, parnog tračka mezoderma koji privremeno povezuje paraksijalni mezoderm s bočnim pločama. Metanefros (definitivni bubreg) razvija se u 5. tjednu embrionalnog razvoja i nastaje međudjelovanjem epitelnih i mezenhimalnih stanica. U tom razdoblju dolazi do niza recipročnih induktivnih međudjelovanja između najkaudalnijeg izdanka Wolffovog kanala (ureterični pupoljak) i okolnog metanefričkog mezenhima. Ureterični pupoljak urasta u metanefrički mezenhim i započinje grananjem, a istodobno epitel ogranaka potiče kondenzaciju mezenhimalnih stanica i njihovu konverziju u epitel. Nastaje renalna vezikula iz koje se dalje razvija tjelešce oblika zarez i izdužuje u tjelešce oblika slova S. Daljnjim izduljivanjem S-tjelešca kraj koji je najbliži ureteričnoj cijevi spaja se s istom formirajući distalni kanalić. Drugi kraj S-tjelešca se dalje diferencira i nastaje proksimalni tubul, podociti glomerula i Bowmanova čahura. Pretpostavljene endotelne stanice invadiraju glomerul u razvoju stvarajući glomerularno kapilarno klupko. Takav ciklus ureteričnog grananja i indukcije nefrona dovodi do stvaranja otprilike 785 000 nefrona u čovjeka (raspon 210.322-185,380) (23).

Članovi obitelji koštanih morfogenetskih proteina sudjeluju u različitim stadijima razvoja bubrega. Vremensko-prostorni slijed izraženosti mRNK članova obitelji BMP, njihovih receptora i drugih glasnika upućuje na njihovu višestruku ulogu u razvoju bubrega.

BMP-2 i BMP-4 dijele 92% homologije u aminokiselinskom slijedu. Ipak, različita izraženost upućuje na različite uloge tijekom razvoja bubrega. BMP-2 prijelazi su izraženi u kondenziranom mezenhimu neposredno uz vrške granajućeg ureteričnog pupoljka. Bubrezi BMP-2 heterozigotnog miša izgledaju normalno, ali uz vidljivo pojačano grananje ureteričnog pupoljka. To navodi na zaključak da BMP-2 inhibira grananje morfogenezu na vršcima ureteričnog pupoljka (24). Istraživanja kultura fibroblasta bubrega transformiranih kako bi stvarale BMP-2 pokazale su značajnu supresiju učinka TGF β 1 i sinteze fibronektina u stanicama bubrežnih fibroblasta (25). U literaturi ne postoje podaci o izražaju BMP-2 u zdravom tkivu ljudskih bubrega. U jednom slučaju karcinoma bubrega s opsežnom zonom osifikacije, u citoplazmi tumorskih stanica pronađen je snažan izražaj BMP-2, a autori su bili mišljenja da je do osifikacije došlo zbog metaplazije pluripotentnih matičnih stanica u osteoblaste zbog parakrine sekrecije BMP-2 iz okolnih tumorskih stanica (26).

BMP-4 je izražen u metanefričkom mezenhimu duž Wolffove cijevi prije početka razvoja bubrega, mezenhimu koji okružuje ureterični pupoljak prije invazije i u mezenhimalnim stanicama uz ureterični držak nakon završetka indukcije (26). BMP-4 heterozigotni miševi imaju čitav spektar abnormalnosti koje uključuju ipsilateralne uretere, ektopično pupanje uretera iz Wolffove cijevi, hidronefrozu, dvostruki sabirni sistem i displaziju bubrega različitog stupnja. Egzogeni BMP-4 inhibira grananje ureteričnog pupoljka (27). Čini se da BMP-4 ima ulogu u ograničavanju mjesta i broja stvorenih ureteričnih pupoljaka (24). Nedavno je otkrivena ključna uloga BMP-4 u morfogenezi uretera (28), što upućuje na ulogu BMP-4 u određivanju usmjerenja razvoja u uretera ili u sabirne cijevi tijekom organogeneze. Prema tome bi hidronefrotički fenotip BMP-4 heterozigotnog miša bio posljedica gubitka usmjerenja sudbine prema ureteru uz gubitak glatkih mišićnih stanica u zidu proksimalnog uretera (29), nemogućnost diferencijacije prijelaznog epitela i ektopično pupanje uretera iz Wolffove cijevi. U svjetlu tih spoznaja Tabatabaeifa i sur. objavili su istraživanje u kojem su prikazali 3 "missens" mutacije gena BMP-4 u petero djece s anomalijama bubrega i urinarnog trakta, koje su uključivale agenezu bubrega, hipoplaziju, displaziju ili dvostruke bubrege i malformacije uretera (30).

Izraženost BMP-5 je ograničena na stromalni mezenhim uz ureter i bubrežni pelvis (24). Miševi s inaktivirajućom BMP-5 mutacijom razvijaju hidronefrozu (31,32). BMP-5 je izražen u stanicama kanalića odraslih bubrega. Njegov izražaj je smanjen u bubrežima s nefrosklerozom (33).

Istraživanjem funkcije BMP-6 na miševima kojima on nedostaje nije uočena bilo kakva morfološka ili funk-

cionalna promjena njihovih bubrega (24). U ljudskim bubrežima u normalnom bubrežnom tkivu pokazana je snažna izraženost BMP-6 mRNK (34). Pokazana je i jača izraženost BMP-6 u svjetlostaničnom tipu karcinoma bubrega, ali izražaj nije korelirao s preživljenjem i kliničko patološkim obilježjima ispitanika (34).

BMP-7 je jedini od koštanih morfogenetskih proteina za koji je dokazano da je ključni u razvoju bubrega, jer homozigotni miševi s *null* mutacijom za BMP-7 umiru u slici uremije nakon okota (24). Nedostatak BMP-7 uzrokuje zastoj u razvoju bubrega nakon nastupa granajuće morfogeneze [35]. Uloga i izražaj BMP-7 u bubrežima su dosada najviše istraženi. Tako je njegov izražaj uočen u odraslih štakora duž čitavog nefrona i to u području vanjske srži, umjerena u kanalici- ma unutarne srži, slabije u glomerulima, dok je jedva prisutna u korteksu. Snažna izraženost je prisutna u adventiciji bubrežnih arterija i u epitelnim stanicama pijelona i uretera (36). U normalnom bubrežnom tkivu u literaturi je prikazan izražaj u 6 ljudskih bubrega gdje je mRNK za BMP-7 najjače izražena u distalnom dijelu nefrona (distalni kanalici i sabirne cijevi), u glomerulima je jedva uočljiva, a u proksimalnim kanalici- ma se nije uspjelo dokazati izraženost BMP-7 mRNK niti proteina (37). Analiza izražaja BMP-7 i njegovih receptora u normalnom tkivu bubrega i u karcinomu svijetlih stanica u 64 uzorka ukazala je na izražaj BMP-7 i njegovih receptora i pSmad1/5/8 u svim strukturama bubrežnog parenhima normalnog tkiva bubrega, a osobito jaku izraženost u epitelu proksimalnih kanalici- ća bubrežnog parenhima (38).

Osim u razvoju bubrega, članovi BMP obitelji imaju ulogu i u održavanju strukture i funkcije bubrega u odrasloj dobi. Eksperimentalni modeli pokazuju da BMP-7 prevenira ishemijsko/reperfuzijsko oštećenje (39). Primjena BMP-7 je smanjila područja nekroze i infarkta bubrega, životinje su imale slabiji upalni odgovor, a smanjen je i opseg apoptoze. BMP-7 smanjuje oštećenje bubrega i u drugim modelima akutnog zatajenja bubrega poput nefrotoksičnosti žive ili cisplatin (17).

U kroničnom zatajenju bubrega BMP-7 dovodi do sporijeg rasta ureje i kreatinina u modelu 5/6 nefrektomije štakora (40), smanjuje oštećenje bubrega u modelu dijabetičke nefropatije uzrokovane streptozotocinom (41). Djeluje stabilizirajući vaskularni fenotip stanica medije krvnih žila čime sprječava razvoj vaskularnih kalcifikacija u uremičara. Smanjuje razvoj uremijske osteodistrofije potičući aktivnost osteoblasta (42).

Rezultati dobiveni na životinjskim modelima pokazuju da koštani morfogenetski protein - 7 ima značajan renoprotektivan učinak i samim time potencijalnu terapijsku primjenu u bolestima bubrega (40). U uzorcima

biopsija bubrega bolesnika s dijabetičkom nefropatijom smanjen je izražaj BMP-7 (43,44). Također je nađen i potisnut izražaj BMP-7 mRNK u tumorima svijetlih stanica bubrega (45), što ukazuje na zaštitnu ulogu BMP-7 u održavanju strukture i funkcije odraslih bubrega.

ZAKLJUČAK

Koštani morfogenetski proteini su ključni čimbenici koji reguliraju razvoj bubrega. Razvojem zdravog bubrega njihova uloga nije završena već oni i dalje sudjeluju u održavanju njegove normalne strukture i funkcije. Gubitak izražaja pojedinih koštanih morfogenetskih proteina u bolestima bubrega ukazuje da bi daljnje istraživanje BMP-a moglo dovesti do njihove upotrebe u dijagnostičke, a eventualno i terapijske svrhe.

LITERATURA

1. Kawabata M, Imamurea T, Miyazono K. Signal transduction by morphogenetic proteins. *Cytokine Growth Factor Rev* 1998; 9: 49-61.
2. Urist MR. Bone: formation by autoinduction. *Science* 1965; 150: 893-9.
3. Urist MR, Iwata H, Ceccotti PL i sur. Bone morphogenesis in implants of insoluble bonee gelatin. *Proc Natl Acad Sci USA* 1973; 70: 3511-5.
4. Urist MR, Mikulski A, Lietze A. Solubilized and insolubilized bone morphogenetic protein. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76:1828-32.
5. Bragdon B, Moseychuk O, Saldanha S, King D, Julian J, Nohe A. Bone morphogenetic proteins: a critical review. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Bragdon%20B%2C%20Bone%20morphogenetic%20proteins%3A%20a%20critical%20review> *Cell Signal* 2011; 23: 609-20.
6. Martinovic S, Simic P, Borovecki F, Vukicevic S. Biology of bone morphogenetic proteins. U: Vukicevic S, Sampath TK ur. *Bone morphogenetic proteins: regeneration of bone and beyond*. Basel, Boston, Berlin: Birkhauser Verlag, 2004, 45-72.
7. Wozney JM. Overview of bone morphogenetic proteins. *Spine* 2002; 27: 2-8.
8. Chen D, Zhao M, harris SE, Zenghui MI. Signal transduction and biological functions of bone morphogenetic proteins. *Front Biosci* 2004; 9: 349-58.
9. Nahar NN, Missana LR, Garimella R, Tague SE, Anderson HC. Matrix vesicles are carriers of bone morphogenetic proteins (BMPs), vascular endothelial growth factor (VEGF), and noncollagenous matrix proteins. *J Bone Miner Metab* 2008; 26: 514-9.

10. Yanagita M. BMP antagonists: their role in development and involvement in pathophysiology. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005; 16: 309-17.
11. Miyazono K, Maeda S, Imamura T. BMP receptor signaling: transcriptional targets, regulation of signals, and signaling cross-talk. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005; 16: 251-63.
12. Heinecke K, Seher A, Schmitz W, Mueller TD, Sebald W, Nickel J. Receptor oligomerization and beyond: a case study in bone morphogenetic proteins. *BMC Biol* 2009; 7: 59.
13. Koenig BB, Cook JS, Wolsing DH i sur. Characterization and cloning of a receptor for BMP-2 and BMP-4 from NIH 3T3 cells. *Mol Cell Biol* 1994;14: 5961-74.
14. Knaus P, Sebald W. Cooperativity of binding epitopes and receptor chains in the BMP/TGFbeta superfamily. *Biol Chem.* 2001; 382: 1189-95.
15. Greenwald J, Groppe J, Gray P, Wiater E, Kwiatkowski W, Vale W, Choe S. The BMP7/ActRII extracellular domain complex provides new insights into the cooperative nature of receptor assembly. *Mol Cell* 2003; 11: 605-17.
16. Miyazono K. TGF-beta signaling by Smad proteins. *Cytokine Growth Factor Rev* 2000; 11: 15-22.
17. Simic P, Vukicevic S. Bone morphogenetic proteins in development and homeostasis of kidney. *Cytokine Growth Factor Rev* 2005; 16: 299-308.
18. Nohe A, Keating E, Knaus P, Petersen NO. Signal transduction of bone morphogenetic protein receptors. *Cell Signal* 2004; 16: 291-9.
19. Wu KM, Huang CJ, Hwang SP, Chang YS. Molecular cloning, expression and characterization of the zebrafish *bram1* gene, a BMP receptor-associated molecule. *J Biomed Sci* 2006; 13: 345-55. Epub 2006 Feb 3.
20. Kurozumi K, Nishita M, Yamaguchi K, Fujita T, Ueno N, Shibuya H. *BRAM1*, a BMP receptor-associated molecule involved in BMP signalling. *Genes Cells* 1998 ;3: 257-64.
21. Chung PJ, Chang YS, Liang CL, Meng CL. Negative regulation of Epstein-Barr virus latent membrane protein 1-mediated functions by the bone morphogenetic protein receptor IA-binding protein, *BRAM1*. *J Biol Chem.* 2002; 277: 39850-7. Epub 2002 Aug 13.
22. Ten Dijke P, Hill CS. New insights into TGFb-SMAD signaling. *Trends Biochem Sci* 2004; 29: 265-73.
23. Hoy WE, Douglas-Denton RN, Hughson MD, Cass A, Johnson K, Bertram JF. A stereological study of glomerular number and volume; preliminary findings in a multiracial study of kidney autopsy. *Kidney Int* 2003; 70: 104-10.
24. Dudley AT, Robertson EJ. Overlapping expression domains of bone morphogenetic protein family members potentially account for limited tissue defects in BMP7 deficient embryos. *Dev Dyn* 1997; 208: 349-62.
25. Yang YL, Liu YS, Chuang LY i sur. Bone morphogenetic protein-2 antagonizes renal interstitial fibrosis by promoting catabolism of type I transforming growth factor-beta receptors. *Endocrinology* 2009; 150: 727-40.
26. Yamasaki M, Nomura T, Mimata H, Nomura Y. Involvement of bone morphogenetic protein 2 in ossification of renal cell carcinoma. *J Urol* 2004; 172 :457-6.
27. Cain JE, Bertram JF. Ureteric branching morphogenesis in BMP4 heterozygous mutant mice. *J Anat* 2006; 209: 745-55.
28. Brenner-Anantharam A, Cebrian C, Guillaume R, Hurtado R, Sun TT, Herzlinger D. Tailbud-derived mesenchyme promotes urinary tract segmentation via BMP4 signaling. *Development* 2007; 134: 1967-75.
29. Miyazaki Y, Oshima K, Fogo A, Ichikawa I. Evidence that bone morphogenetic protein 4 has multiple biological functions during kidney and urinary tract development. *Kidney Int* 2003; 63: 835-44.
30. Tabatabaiefar M, Schlingmann KP, Litwin M i sur. Functional analysis of BMP4 mutations identified in pediatric CAKUT patients. *Pediatr Nephrol* 2009; 24: 2361-8.
31. King JA, Marker PC, Seung KJ, Kingsley DM. BMP5 and the molecular, skeletal, and soft-tissue alterations in short ear mice. *Dev Biol* 1994; 166: 112-22.
32. Dudley AT, Lyins KM, Robertson EJ. A requirement for bone morphogenetic protein-7 during development of the mammalian kidney and eye. *Genes Dev* 1995; 9: 2795-2807.
33. Bramlage CP, Müller GA, Tampe B i sur. The role of bone morphogenetic protein-5 (BMP-5) in human nephrosclerosis. *J Nephrol* 2011; 24: 647-55. doi: 10.5301/JN.2011.6330.
34. Basic-Jukic N, Radic-Antolic M, Hudolin T i sur. Immunolocalization and mRNA expression of bone morphogenetic protein-6 in human clear cell renal carcinoma. *Kidney Blood Press Res* 2009; 32: 445-50.
35. Simon M, Maresh JG, Harris SE i sur. Expression of bone morphogenetic protein-7 mRNA in normal and ischemic adult rat kidney. *Am J Physiol* 1999; 276: 382-9.
36. Simon M, Maresh JG, Harris SE i sur. Expression of bone morphogenetic protein-7 mRNA in normal and ischemic adult rat kidney. *Am J Physiol* 1999; 276: F382-F389.
37. Wetzel P, Haag J, Campean V i sur. Bone morphogenetic protein-7 expression and activity in the human normal kidney is predominantly localized to the distal nephron. *Kidney Int* 2006; 70: 717-23.
38. Markić D, Celić T, Spanjol J i sur. Expression of bone morphogenetic protein-7, its receptors and Smad1/5/8 in normal human kidney and renal cell cancer. *Coll Antropol.* 2010; 34 Suppl 2: 149-53.
39. Vukicevic S, Basic V, Rogic D i sur. Osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7) reduces severity of injury after ischaemic acute renal failure in rat. *J Clin Invest* 1998; 102: 202-14.
40. Vukicevic S, Grgic M, Stavljenic A, Sampath TK. Recombinant human OP-1 (BMP-7) prevents rapid loss of glomerular function and improves mortality associated with chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7: A3102.
41. Wang SN, Lapage J, Hirschberg R. Loss of tubular bone morphogenetic protein-7 in diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 2392-9.
42. Mathew S, Davies M, Lund R, Saab G, Hruska KA. Function and effect of bone morphogenetic protein-7 in kidney bone and the bone-vascular links in chronic kidney disease. *Eur J Clin Invest.* 2006; 36 Suppl 2: 43-50.
43. Mitu GM, Wang S, Hirschberg R. BMP7 is a podocyte survival factor and rescues podocytes from diabetic injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 293: 2392-9.

44. De Petris L, Hruska KA, Chiechio S, Liapis H. Bone morphogenetic protein-7 delays podocyte injury due to high glucose. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 3342-450.

45. Basic-Jukic N, Hudolin T, Radic-Antolic M i sur. Bone morphogenetic protein-7 expression is down-regulated in human clear cell renal carcinoma. *J Nephrol* 2011; 24: 91-97.

S U M M A R Y

EXPRESSION OF BONE MORPHOGENETIC PROTEINS IN KIDNEYS

V. FURIĆ-ČUNKO, P. KES and N. BAŠIĆ JUKIĆ

*Zagreb University Hospital Center, Department of Nephrology, Arterial Hypertension,
Dialysis and Transplantation, Department of Internal Medicine, Zagreb, Croatia*

Bone morphogenetic proteins (BMPs) are a large group of growth factors. More than 20 members of BMP family have been identified to date. Based on their structural and functional properties, BMPs can be divided into 4 subgroups: BMP 2/4, BMP 5/6/7/8a/8b, BMP 9/10 and BMP 12/13/14. Each BMP has a unique structural feature that differentiates it from all other family members. BMPs take part in different stages of kidney development. For example, BMP-2 inhibits branching morphogenesis in ureteric buds; BMP-4 is expressed in metanephritic mesenchyme along the Wolff canal before kidney development, its expression is also found in the mesenchyme surrounding the ureteric bud before the invasion of the mesenchymal cells in the ureteric stem and induction completion; BMP-7 is the only bone morphogenetic protein that is crucial in kidney development. BMP family members are also included in maintaining normal kidney structure and function. Experimental models have shown that BMP-7 prevents ischemia/reperfusion damage. Expression of BMP-7 is reduced in the samples of kidney tissue with diabetic nephropathy. Also, BMP-7 mRNA is reduced in clear cell kidney carcinomas, indicating its protective effects in maintaining normal kidney structure and function. Bone morphogenetic proteins are some of the key players in regulating normal kidney development, but their role also extends into maintaining normal kidney structure and function.

Key words: bone morphogenetic proteins, kidney, fibrosis