

ULOGA WNT U RAZVOJU I FUNKCIJI BUBREGA

INES MESAR, PETAR KES, NIKOLINA BAŠIĆ JUKIĆ

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

Wnt 4 je sekretorni signalni protein koji imaju ključnu ulogu tijekom razvoja bubrega u procesu mezenhimalno epitelne transformacije. U posljednje vrijeme postoje eksperimentalni modeli kojima se dokazuje njegova uloga u procesu reparacije bubrega tijekom akutnog bubrežnog zatajenja. S druge strane postoje ekperimentalni modeli prema kojima Wnt 4 sudjeluje u procesu fibroze bubrega. Kada će Wnt 4 djelovati protektivno na bubrežni parnehima, a kad će sudjelovati u procesu fibroze do sada još nije razjašnjeno i otvara mogućnosti za daljnja istraživanja.

KLJUČNE RIJEČI: Wnt 4, bubreg, tubulointersticijska fibroza, akutno bubrežno zatajenje

Adresa za dopisivanje: Dr. med. Ines Mesar

Zavod za nefrologiju, arterijsku hipertenziju, dijalizu i transplantaciju
Klinika za unutarnje bolesti, Klinički bolnički centar Zagreb,
Kišpatićeva 12
10000 Zagreb/Hrvatska
e-mail: inesmesar@yahoo.com

UVOD

Obitelj WNT (od engl. *wingless-type MMTV integration site family*) sastoji se od strukturno povezanih gena kojima je zajedničko kodiranje sekretornih signalnih proteina. (1,2) Za neke od tih proteina do sada je dokazano da tijekom embrionalnog razvoja sudjeluju u razvoju bubrega i determinaciji ženskog spola, dok se kasnijim istraživanjima dokazala i njihova uloga u procesu oštećenja bubrega, ali i oporavka bubrežnog tkiva. Među njima se najčešće spominje Wnt 4.

Mehanizam kojim navedeni sekretorni proteini djeluju je putem vezanja za frizzeld (Fz) transmembranske receptore što dovodi do aktivacije niza unutarstaničnih signala te aktivacije transkripcije ciljnih gena. (3,4) Nakon vezanja za receptor postoji nekoliko puteva aktivacije daljnje kaskade događaja, koji se mogu svrstati prema mehanizmu djelovanja u beta katenin ovisani put i beta katenin neovisan put. Beta kateninski put koristi beta katenin kao regulator transkripcije, ukoliko ne dođe do interakcije liganda i receptora, u stanici dolazi do razaranja beta katenina i samim time se obustavlja prijenos informacije do jezgre stanice i proces transkripcije gena. (5) Ukoliko dođe do ligand receptor interakcije, beta katenin se nakuplja unutar stanice te se translocira u jezgru stanice što potiče aktivaciju niza signala kojima započinje proces transkripcije ciljanih gena. Beta katenin neovisan put odvija se putem aktivacije kalcij osjetljivih receptora ili PCP (od engl. planar cell polarity) koji koristi alternativni put aktivacije preko unutarstaničnih proteina kao što su Dvl, Rho, Rac čijom aktivacijom dolazi do reorganizacije citoskeleta i organela te ciljane migracije stanica kojima se potiče rast određenih tkiva i morfogeneza. (6)

RAZVOJ UROGENITALNOG SUSTAVA

Mokraćni i spolni sustav razvijaju se iz intermedijarnog mezoderma smještenog duž stražnje stijenke trbušne šupljine. Tijekom embrionalnog razvoja nastaju tri različite generacije bubrega: pronefros (predbubreg), mezonefros (prabubreg) i metanefros (definitivni bubreg). (7)

Razvoj metanefrosa ili definitivnog bubrega započinje u 5. tjednu embriogeneze urastanjem mokraćovodnog pupoljka u metanefrogeni mezenhim. Dolazi do kondenzacije i agregacije mezenhimalnih stanica koje potom epiteliziraju i tvore jednostavne tubule dok daljnjom morfogenezom i diferencijacijom dolazi do uspostave funkcionalnih nefrona. (8,9)

Spolni sustav se započinje razvijati iz iste osnove kao mokraćni sustav, a potom se od Wolfvogovog kanala odvaja ureteralni pupoljak koji će potom tvoriti kanalni sustav bubrega, dok u kasnijem tijeku razvoja u ženskog spola dolazi do regresije Wolfvogovog kanala i razvoja Mullerovih cijevi. (10)

ULOGA WNT U RAZVOJU BUBREGA-DOSADAŠNJE SPOZNAJE I PRETPOSTAVKE

Glikoproteini WNT obitelji ključni su autoregulatori mezenhimalno epitelne transformacije i nastanka tubula bubrega. Ukoliko ne dođe do njihove aktivacije izostaje kondenzacija i agregacija mezenhimalnih stanica kao najvažnijeg događaja u procesu nefrogeneze. Navedeno je potvrđeno na mišijim embrijima tehnikom in situ hibridizacije. (11) Miševi kod kojih je mutacijom induciran

nedostatak nekog od Wnt-a, poglavito Wnt 4 i 9 umiru unutar 24 sata od okota zbog ageneze bubrega.(8,9) Nasuprot tome kod miševa kod kojih nedostaje isključivo Wnt 4 dolazi do urastanja ureteralnog pupoljaka u mezenhimalno tkivo no izostaje mezenhimalno epitelna transformacija što opet za posljedicu ima anomaliju bubrežnog razvoja.(12)

Možemo zaključiti da je obitelj WNT, osobito Wnt 4 svojevrsan autoinduktor mezenhimalno epitelne tranzicije i samim time razvoja funkcionalnog nefrona. Do sada još nije razjašnjeno koji se signalni put u ovom procesu aktivira. Vjerojatno je da izvanstanični okoliš u kojem stanica prima signal igra vrlo važnu ulogu u odabiru puta u procesu aktivacije.

WNT U OBOLJENJIMA

Wnt bi mogao biti vrlo važan čimbenik u nastanku bubrežnih anomalija, ali do sada postoje samo eksperimentalni modeli na miševima. (13) Također je potvrđena njegova uloga u nastanku anomalija spolnog sustava,(14) u onih miševa koji imaju mutaciju Wnt 4 ne dolazi do razvoja Mullerove cijevi što posljedično dovodi do virilizacije, primarne amenoreje i hipergonadizma.(15,16) Vanio i suradnici proučavali su nedostatak Wnt-a na mišijim modelima i uočili da su i muški i ženski miševi imali jednake anomalije bubrega i funkcije nadbubrežnih žlijezda, no isključivo kod ženskih miševa došlo je do anomalije u razvoju gonada i steroidogeneze.(17) Dakle, Wnt je ključan i u determinaciji ženskog spola. Za navedeno postoje i istraživanja na ljudskim modelima gdje je grupa autora iz francuske objavila u dvije bolesti heterozigotnu mutaciju za Wnt 4, a kod obje bolesti izostao je razvoj Mullerovih cijevi (odnosno uterusa i ovarija) uz prisutne kliničke i laboratorijske znakove hipergonadizma.(18,19)

PRETPOSTAVKE O AKTIVACIJI WNT U BUBREŽNOM OŠTEĆENJU- SPOZAJE PREMA DOSADŠNIM EKSPERIMENTALIM MODELIMA

Obzirom na do sada poznatu ulogu Wnt 4 u razvoju bubrega pretpostavilo se da se isti put aktivira i u procesu reparacije bubrežnog tkiva tijekom akutnog bubrežnog zatajenja.

Na eksperimentalnom modelu akutnog bubrežnog zatajenja, odnosno ishemijsko reperfuzijske ozljede u štakora koje je postignuto klemanjem renalne arterije tijekom jednog sata, Terada i suradnici su western blot analizom verificirali značajnu ekspresiju Wnt 4 već tri sata nakon ishemije do 24 sata sveukupnog trajanja njegove ispljenosti.(20) Imunohistokemijskim metoda najveća ek-

spresija Wnt 4 zabilježena je u području proksimalnih tubula. Obzirom na navedeno pretpostavilo se da Wnt igra značajnu ulogu u kontroli procesa regeneracije tubula u akutnom bubrežnom zatajenju.

Valja napomenuti da se prisutnost Wnt u odraslog miša inače može naći samo u području epitela distalnih sabirnih kanalića. S druge pak strane postoje istraživanja Surrendrana i suradnika kojima se dokazuje ekspresija Wnt 4 tijekom tubulointersticijske fibroze na eksperimentalnim mišijim modelima.(21)

Na mišijim modelima četiri mehanizma renalnog oštećenja (unilateralna ureteralna obstrukcija, administracija folne kiseline, oštećenje tubulointersticija uzrokovano direktnim razaranjem bubrežnog tkiva iglom, te kod policistične bolesti bubrega) potaknut je proces tubulointersticijske fibroze. Na navedenim modelima uočena je najveća ekspresija Wnt 4 u područjima fibroznih lezija u intersticijskim fibroblastima što pak govori u prilog njegove uloge u patogenezi renalne fibroze.(21)

Temeljem toga pretpostavljeno je da iste one molekule koje reguliraju nefrogenezu također sudjeluju u patofiziologiji tubulointersticijskih bolesti ali i u procesu oporavka bubrežnog tkiva nakon ozljede.

Za sada još uvijek nije razjašnjeno kada će Wnt djelovati protektivno na bubrežni parenhim, a kada će sudjelovati u procesu bubrežnog oštećenja. Moguće je da odgovor leži u različitim signalnim putevima kojima se može pokrenuti kaskada unutarstaničnih odgovora ili pak u vanstaničnim uvjetima koji imaju mogućnost usmjeravanja daljnjeg razvoja događaja. Ne smije se zaboraviti niti interakcija s mogućim inhibitorima ili aktivatorima Wnt ili njegovih singalnih molekula. Navedeno otvara mogućnost za daljnja istraživanja radi što boljeg razumijevanja nastanka renalne fibroze, a samim time i za otkrivanje novih mogućnosti liječenja.

Obzirom da je u suvremenoj medicini transplantacijska medicina zauzela značajno mjesto, a dobro je poznato da najčešći uzrok gubitka funkcije prestaka je upravo intersticijska fibroza i tubularna atrofija (IFTA) što bolje razumijevanje procesa koji do toga dovode moglo bi u budućnosti otvoriti nove terapijske mogućnosti s ciljem poboljšanja preživljenja primatelja i presatka.

LITERATURA

1. Merkel E, Karner M, Carroll T. Molecular regulation of kidney development: is the answer blowing in the Wnt? *Pediatric nephrology* 2007;22:1825-38.
2. Kobayashi A, Kwan KM, Carroll TJ, i sur. Distinct and sequential tissue-specific activities of the LIM-class homeobox gene *Lim1* for tubular morphogenesis during kidney development. *Development* 2005; 132:2809-23.
3. Kispert A, Vainio S., McMahon P. Wnt-4 is a mesenchymal signal for epithelial transformation of metanephric mesenchyme in the developing kidney. *Development* 1998;125:4225-34.

4. Grobstein C. Inductive epithelio-mesenchymal interaction in cultured organ rudiments of the mouse metanephros. *Science* 1953;118:52-5.
5. Sainio K, Suvanto P, Davies J, i sur. Glial-cell-line-derived neurotrophic factor is required for bud initiation from ureteric epithelium. *Development* 1997;124:4077-87.
6. Kispert A, Vainio S, Shen L, Rowitch DH, McMahon AP. Proteoglycans are required for maintenance of Wnt-11 expression in the ureter tips. *Development* 1996;122:3627-37.
7. Mori K, Yang J, Barasch J. Ureteric bud controls multiple steps in the conversion of mesenchyme to epithelia. *Semin Cell Dev Biol* 2003;14:209-1.6
8. Miller JR. The Wnts. *Genome Biol* 2002; 3:REVIEWS3001.
9. Wodarz A, Nusse R. Mechanisms of Wnt signaling indevelopment. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1998; 14:59-88.
10. Chen CM, Struhl G. Wingless transduction by the Frizzled and Frizzled2 proteins of *Drosophila*. *Development* 1999; 126:5441-52.
11. Nathans J, Nusse R. A new member of the frizzled family from *Drosophila* functions as a Wingless receptor. *Nature* 1996; 382:225-30.
12. Burrus L. Wnt as a short range signaling molcul. *BioEssays* 1994;16:155-7.
13. Roelink H, Nusse R. Expression of two members of Wnt gene family during mouse development-restricted temporal and spatial patterns in the developing neural tube. *Genes Dev* 1991;5:381-8.
14. BIASON-LAUBER A, KONRAD D, NAVRATIL F, SCHOENLE E. A Wnt 4 mutation associated with Mullerian duct regression and virilization ina 46XX woman. *N Eng J Med* 2004;351:792-8.
15. Philbert P, BIASON-LAUBER A, ROUZIER R, i sur. Identification and functional analysis of a new Wnt 4 gene mutation among 28 adolescent girls with primary amenorrhea and Mullerian duct abnormalities. *The Journal of Cincial Endocrinology & Metabolisam* 2008;93:895-900.
16. Vainio S, Heikkila M, Kispert A, Chin N, McMahon A. Female development in mammals is regulated by Wnt 4 signaling. *Nature* 199;397:405-9.
17. Vainio S, Muller U. Inductive tissue interactions, cell signaling, and control of kidney organogenesis. *Cell* 1997;90:975-8. Roelink H, Nusse R. Expression of two members of Wnt gene family during mouse development-restricted temporal and spatial patterns in the developing neural tube. *Genes Dev* 1991;5:381-8.
18. Stark K, Vainio S, Vassileva G, McMahon A. Epithelial transformation of metanephric mesenchyme in the developing kidney regulated by Wnt-4. *Nature* 1994;372:679-83.
19. Hammerman M. Growth factors in renal development. *Semin.Nephrology* 1995;15:291-299
20. Yoshio T, Hiroyuki T, Tomokazu O, i sur. Expression and function of developmental gene Wnt-4 during experimental acute renal failure in rats. *JASN* 2003;14:1223-33.
21. Surendran K, McCaul SP, Simon CT. A role for Wnt-4 in renal fibrosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001;282:431-9.

SUMMARY

A ROLE OF WNT IN KIDNEY DEVELOPMENT AND FUNCTION

INES MESAR, PETAR KES, NIKOLINA BAŠIĆ JUKIĆ

Department of Nephrology, Arterial Hypertension, Dialysis, and Transplantation,
Clinic of Internal Medicine, University Hospital Centre Zagreb, Zagreb, Croatia

WNT 4 is a secreted glycoprotein that is critical for nephrogenesis during mesenchymal to epithelial transformation. Lately there are some experimental models which confirm a role of Wnt 4 during regeneration process in acute renal failure. On the other hand there are some evidence that Wnt 4 plays important role in renal fibrosis during experimental renal injury in rats that provide tubulointerstitial fibrosis. When will Wnt 4 have a protective role or when will induce fibrosis still is not known and therefore further studies will be necessary to gain a more precise understanding.

KEY WORDS: Wnt, kidney, tubulointerstitial fibrosis, acute renal failure