



**ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΑΘΗΝΩΝ**

ΙΑΤΡΙΚΗ ΣΧΟΛΗ

---

**ΜΕΤΑΠΤΥΧΙΑΚΟ ΠΡΟΓΡΑΜΜΑ ΣΠΟΥΔΩΝ**

**«ΜΕΤΑΒΟΛΙΚΑ ΝΟΣΗΜΑΤΑ ΤΩΝ ΟΣΤΩΝ»**

---

ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΟΣ ΥΠΕΥΘΥΝΟΣ :  
ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ ΓΕΩΡΓΙΟΣ Π. ΛΥΡΙΤΗΣ

ΕΡΓΑΣΤΗΡΙΟ ΕΡΕΥΝΑΣ ΠΑΘΗΣΕΩΝ ΜΥΟΣΚΕΛΕΤΙΚΟΥ  
ΣΥΣΤΗΜΑΤΟΣ «Θ.ΓΑΡΟΦΑΛΙΔΗΣ»  
ΔΙΕΥΘΥΝΤΗΣ : ΑΝ. ΚΑΘΗΓΗΤΗΣ Ν. ΠΑΠΑΪΩΑΝΝΟΥ

*ΔΙΠΛΩΜΑΤΙΚΗ ΕΡΓΑΣΙΑ  
ΙΩΑΝΝΗΣ ΔΡΟΥΛΙΑΣ*

**«BMPs ΚΑΙ ΝΕΦΡΟΣ»**

ΕΠΙΒΛΕΠΟΥΣΑ: ΚΑΣΣΗ ΕΥΑΝΘΙΑ  
ΕΠΙΚΟΥΡΟΣ ΚΑΘΗΓΗΤΡΙΑ  
ΕΘΝΙΚΟ ΚΑΙ ΚΑΠΟΔΙΣΤΡΙΑΚΟ ΠΑΝΕΠΙΣΤΗΜΙΟ  
ΑΘΗΝΩΝ

## ΑΘΗΝΑ 2013

### Περιεχόμενα

ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ .....	4
ΠΡΟΛΟΓΟΣ.....	19
ΠΕΡΙΛΗΨΗ .....	20
ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΙΝΑΚΩΝ.....	22
ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ .....	23
1.ΕΙΣΑΓΩΓΗ .....	25
2. ΟΣΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΟΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ (Bone Morphogenetic Proteins –BMPs)-ΒΑΣΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ .....	28
2.1 Γενικά στοιχεία- Ρόλος στον σκελετό.....	28
2.2 Ιστορική αναδρομή .....	30
2.3 Ταξινόμηση-κατηγορίες .....	32
2.4 Δομή των BMPs .....	33
2.5 Στοιχεία γενετικής των BMPs .....	35
2.6 Μηχανισμός δράσης των BMPs .....	36
2.6.1 Υποδοχείς BMPs .....	36
2.6.2 Κυτταρικές δράσεις των BMPs (κύτταρα- στόχοι των BMPs) .....	38
3.BMPs ΚΑΙ ΝΕΦΡΟΣ .....	41
3.1 Ρόλος των BMPs στην γένεση και ανάπτυξη του νεφρού.....	41
3.1.1 Εισαγωγή .....	41
3.1.2 Η έκφραση των BMPs στην ανάπτυξη του νεφρού (νεφρογένεσης) .....	42
3.1.3 Ρόλος των BMPs στην ανάπτυξη της κλοάκης .....	45
3.1.4 BMP-4 και μεσονεφρικός πόρος .....	46
3.1.5 Δράση της BMP-7 στο μετανεφρικό μεσέγχυμα.....	47
3.1.6 Οι BMPs στην επιθηλιακή μορφογένεση και διαφοροποίηση (μεταγένεστερα στάδια νεφρογένεσης) .....	51
3.1.7 BMPs και γένεση ουρητήρα και αθροιστικού συστήματος νεφρού.....	52
3.1.8 BMPs και γένεση νεφρικών σπειραμάτων(σπειραματογένεση) .....	53

3.2 Εντόπιση-δραστικότητα των BMPs στον νεφρό.....	55
3.2.1 BMP-7 στο εγγύς σωληνάριο .....	55
3.2.2: Βιολογική δραστικότητα της ενδογενούς BMP(BMP-7) του νεφρού. ....	58
3.3 BMPs ΚΑΙ ΟΞΕΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ.....	60
3.3.1: Εισαγωγή .....	60
3.3.2 Επίδραση της BMP-7 στην βιοχημεία και ιστολογία του νεφρού στην ONA .....	61
3.3.3:Επίδραση της BMP-7 στις προφλεγμονώδεις κυτοκίνες, αγγειοδραστικές ουσίες και χυμοκίνες στην ONA.....	65
3.3.4: BMP-7 και ONA από τοξική βλάβη του νεφρού\.....	71
3.4: BMPs και χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (ΧΝΑ) .....	72
3.4.1: Εισαγωγή .....	72
3.4.2 Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και μοντέλο εναπομείναντος νεφρού .....	73
3.4.3: Νεφρική ίνωση και BMP-7 στην ΧΝΑ.....	74
3.4.4 : BMP-7 και διαβητική νεφροπάθεια.....	83
3.4.5 BMP-7 και νεφρική οστεοδυστροφία στην ΧΝΑ .....	87
3.4.6: BMPs και αγγειακές ασβεστώσεις στην ΧΝΑ.....	92
3.5 ΟΙ BMPs ΣΕ ΑΛΛΕΣ ΝΟΣΟΥΣ ΤΩΝ ΝΕΦΡΩΝ .....	102
3.5.1: BMP-7 και αποφρακτική νεφροπάθεια .....	102
3.5.2: Η BMP-7 σε οξεία πειραματονεφρίτιδα και στην νεφρίτιδα του λύκου .....	104
3.5.3 BMP-7 και υπερτασική νεφροσκλήρυνση.....	105
3.5.4 BMP-5 και υπερτασική νεφροσκλήρυνση.....	106
3.6 ΑΓΩΝΙΣΤΕΣ-ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΤΩΝ BMPs ΚΑΙ ΝΕΦΡΟΣ .....	107
3.6.1: Αγωνιστές των BMPs και νεφρός .....	107
3.6.2: Ανταγωνιστές των BMPs και νεφρός .....	108
3.7 ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΤΩΝ BMPs.....	111
4.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ- ΒΑΣΙΚΑ ΣΗΜΕΙΑ .....	113
5.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ .....	119

## ΒΙΟΓΡΑΦΙΚΟ ΣΗΜΕΙΩΜΑ

ΟΝΟΜΑΤΕΠΩΝΥΜΟ : ΔΡΟΥΛΙΑΣ ΙΩΑΝΝΗΣ  
ΠΑΤΡΩΝΥΜΟ : ΓΕΩΡΓΙΟΣ  
ΕΤΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ : 1971

ΤΟΠΟΣ ΓΕΝΝΗΣΗΣ : ΑΘΗΝΑ  
ΟΙΚΟΓΕΝΕΙΑΚΗ ΚΑΤΑΣΤΑΣΗ : ΑΓΑΜΟΣ  
ΔΙΕΥΘΥΝΣΗ ΚΑΤΟΙΚΙΑΣ : ΟΥΣΑΚΙΟΥ 2, ΒΥΡΩΝΑΣ  
ΑΘΗΝΑ Τ.Κ: 16232

ΤΗΛΕΦΩΝΑ : 2107642726-6946930352  
E-mail : [drjvn@yahoo.gr](mailto:drjvn@yahoo.gr) [idroulias@med.uoa.gr](mailto:idroulias@med.uoa.gr)

### ΕΚΠΑΙΔΕΥΣΗ-ΕΠΑΓΓΕΛΜΑΤΙΚΗ ΕΜΠΕΙΡΙΑ :

- 1991-1998 Φοίτηση στην Ιατρική Σχολή του Πανεπιστημίου Ιωαννίνων  
28-03-1998 : Πτυχίο Ιατρικής
- 1998-1999 Υπηρεσία υπαίθρου στο Περιφερειακό Ιατρείο Οιχαλίας του  
Κέντρου Υγείας Μελιγαλά Μεσσηνίας
- 1999-2001 Στρατιωτική θητεία στον Στρατό Ξηράς ως ιατρός οπλίτης
- 2001-2003 Ειδικευόμενος ιατρός Παθολογικής Κλινικής Γενικού  
Νοσοκομείου Καλαμάτας
- 2003-2004 Ειδικευόμενος ιατρός (υπεράριθμος) Καρδιολογικής Κλινικής  
Γενικού Νοσοκομείου Καλαμάτας

- 2005-2009 Ειδικευόμενος ιατρός Νεφρολογικής Κλινικής Γ.Ν.Α.  
'Ευαγγελισμός'
- 2009 Λήψη τίτλου Ιατρικής Ειδικότητας Νεφρολογίας μετά την επιτυχία  
στις αντίστοιχες εξετάσεις ειδικότητας
- 2009- 2011 Ιατρός Νεφρολόγος Μονάδας Τεχνητού Νεφρού «Δ. Βαλής-  
(Μονάδα Τεχνητού Νεφρού ΔΘΚΑ»ΥΓΕΙΑ») Αθήνα
- 2011-2012 Νεφρολόγος Εθνικού Οργανισμού Μεταμοσχεύσεων (ΕΟΜ)
- 2011- σήμερα Ιατρός Νεφρολόγος Μονάδας Τεχνητού Νεφρού «Δ. Βαλής-  
(Μονάδα Τεχνητού Νεφρού «Απτικό Αιμοδιάλυσις») Αθήνα

## ΕΡΕΥΝΗΤΙΚΟ ΕΡΓΟ

**2006:** Έναρξη διδακτορικής διατριβής « Σύγκριση στρατηγικών πρόληψης πήξης κυκλώματος εξωσωματικής κυκλοφορίας σε ασθενείς της ΜΕΘ υπό συνεχή φλεβοφλεβική αιμοδιαδιήθηση» Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών Τριμελής Επιτροπή: Σ. Νανάς, Η. Λιανός, Χ. Ρούσσος (σε εξέλιξη)

**2008:** Λήψη μετα από επιτυχία στις ανάλογες εξετάσεις του Ευρωπαϊκού Διπλώματος Νεφρολογίας ( δυνατότητα εργασίας ως νεφρολόγου σε χώρες της Ευρωπαϊκής Ένωσης)

**2008:** Ερευνητικό πρωτόκολλο της διδακτορικής διατριβής «Anticoagulation therapy in the CVVHDF in the ICU» University of Pennsylvania, Philadelphia, PA, USA (ολοκλήρωση Δεκέμβριος 2012)

**2008:** Ερευνητικό πρωτόκολλο Novartis- Νεφρολογικής Κλινικής ΓΝΑ Ευαγγελισμός Αθήνα (πολυκεντρική μελέτη) : Συγχρονική μελέτη παρατήρησης για την εκτίμηση των συμπτωμάτων και της ποιότητας ζωής ασθενών που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση νεφρού και βρίσκονται υπό θεραπεία με MMF (CERL 080 AGR01)-(ολοκλήρωση μελέτης Φεβρουάριος 2009)

**2010:** Ερευνητικό πρωτόκολλο Μονάδας Εντατικής Θεραπείας ΔΘΚΑ «ΥΓΕΙΑ» που εντάσσεται σε πολυκεντρική μελέτη του University of San Diego, California, CA (UCSD) (Prof Ravindra Mehta) με τίτλο: "Epidemiology of AKI in ICU" (σε εξέλιξη)

**2010: Ερευνητικό πρωτόκολλο Μονάδας Εντατικής Θεραπείας ΔΘΚΑ «ΥΓΕΙΑ» που εντάσσεται σε πολυκεντρική μελέτη του University of Ghent, Belgium (Prof. Eric de Hoste) με τίτλο: “Study of biomarkers and prognostic factors of AKI in ICU” (σε εξέλιξη)**

**2010: Έναρξη μεταπτυχιακού προγράμματος (Msc) Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Αθηνών « Μεταβολικά νοσήματα των οστών».**

## ΕΠΙΣΤΗΜΟΝΙΚΕΣ ΕΝΩΣΕΙΣ ΜΕΛΟΣ

**Μέλος του Ιατρικού Συλλόγου Αθηνών (2004- σήμερα)**

**Μέλος της ΕΝΕ (ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΝΕΦΡΟΛΟΓΙΚΗ ΕΤΑΙΡΕΙΑ) από το 2005**

**Μέλος της European Renal Association (ERA-EDTA) από το 2005**

**Μέλος της American Society of Nephrology (ASN) από το 2009**

**Μέλος του Ελληνικού Ιδρύματος Οστεοπορωσης (ΕΛΙΟΣ) από το 2012**

## ΕΛΛΗΝΟΓΛΩΣΣΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ - ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ:

- Πελέκης Χ., Δρούλιας Ι., Λιάκος Α. : «Το νόημα της εφαρμογής στόχων στη ζωή του ανθρώπου, ψυχαναλυτική προσέγγιση». Τομέας Ψυχιατρικής Ιατρικής Σχολής Πανεπιστημίου Ιωαννίνων (1996)
- Δρούλιας Ι., Κουδούνης Γ., Κουρεμένου Χ, Ασημάκης Γ., Ζόμπολος Σ. : «Αναλογία των υπερηλίκων ασθενών επί του αριθμού των εισαγωγών στην καρδιολογική κλινική του Γ.Ν. Καλαμάτας και η διαχρονική μεταβολή της αναλογίας αυτής της ομάδας του πληθυσμού (4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Καρδιακής Ανεπάρκειας, 2003)
- Ασημάκης Γ., Κουρεμένου Χ, Δρούλιας Ι., Κοσμοπούλου Σ., Ζόμπολος Σ. : «Ειδική στρατηγική για την ταχεία αντιμετώπιση του ασθενούς με οξύ στεφανιαίο σύνδρομο που μειώνει τον χρόνο από την είσοδο του ασθενούς μέχρι την έναρξη της θρομβόλυσης (5<sup>ο</sup> Παμπελοποννησιακό Ιατρικό Συνέδριο, 2003)
- Δρίζης Θ., Δρούλιας Ι., «Η λατρεία του θεού Ασκληπιού στην αρχαία Ηλεία (5<sup>ο</sup> Παμπελοποννησιακό Ιατρικό Συνέδριο, 2003)

- Μπριστογιάννης Γ., Δρούλιας Ι., Πουλόπουλος Α., Μακρέας Σ. : «Μελέτη σπειραματονεφρίτιδων στον Μεσσηνιακό πληθυσμό» (5<sup>ο</sup> Παμπελοποννησιακό Ιατρικό Συνέδριο, 2003)
- Κουδούνης Γ., Χαραμή Π., Δρούλιας Ι., Κοσμοπούλου Σ., Ζόμπολος Σ. : «Συμβάλλει η χορήγηση αγχολυτικού στην αντιμετώπιση υπερτασικής κρίσης;» (13<sup>ο</sup> Παμπελοποννησιακό Καρδιολογικό Συνέδριο, 2003)
- Ασημάκης Γ., Δρούλιας Ι., Κουρεμένου Χ., Ζόμπολος Σ., Ντέβης Η. «Πρώιμος σχηματισμός θρόμβου αριστερής κοιλίας στο οξύ έμφραγμα του μυοκαρδίου, κλινικοί προγνωστικοί παράγοντες» (24<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο, 2003)
- Δρούλιας Ι., Κουρεμένου Χ., Κουδούνης Γ., Ζόμπολος Σ. : «Τα επίπεδα του πρόδρομου νατριουρητικού πεπτιδίου σχετίζονται με την απώτερη πρόγνωση των ασθενών με ασταθή στηθάγχη» (25<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο, 2004)
- Κοσμοπούλου Σ., Δρούλιας Ι., Μακρέας Σ., Κλουφέτος Π., Ζόμπολος Σ. : «Η μεταβολή της τιμής του BNP ως αξιόπιστος δείκτης της βελτίωσης της καρδιακής λειτουργίας ασθενών με καρδιακή ανεπάρκεια τελικού σταδίου μετά από ενδοφλέβια χορήγηση λεβοσιμενδάνης» (5<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Καρδιακής Ανεπάρκειας, 2004)
- Κουδούνης Γ., Δρούλιας Ι., Μακρέας Σ., Αποστολοπούλου Σ., Ζόμπολος Σ. : «Η χρησιμότητα της μέτρησης των επιπέδων του BNP στην διαφορική διάγνωση της οξείας δύσπνοιας στο τμήμα επειγόντων περιστατικών (5<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Καρδιακής Ανεπάρκειας, 2004)
- Δρούλιας Ι., Κουδούνης Γ., Ασημάκης Γ., Κοσμοπούλου Σ., Τζίφα Γ., Λεχαρέας Σ., Ζόμπολος Σ., : «Το BNP στην διάγνωση και θεραπεία της συμφορητικής καρδιακής ανεπάρκειας» (Μεσσηνιακά Ιατρικά Χρονικά, Αύγουστος 2004)
- Μακρέας Σ., Δρούλιας Ι. : επιμέλεια στήλης : «Ιατρική και internet» (Ιανουάριος 2004-Οκτώβριος 2004)
- Δρούλιας Ι., Μαγκλάρας Χ., Κουδούνης Γ., Λεχαρέας Σ. : «Ιπποκρατική συλλογή-όρκος Ιπποκράτη» (Μεσσηνιακά Ιατρικά Χρονικά, Ιούνιος 2005)
- Κοσμοπούλου Σ., Κουδούνης Γ., Δρούλιας Ι., Τζίφα Γ., Ζομπόλος Σ. : «Το BNP ως δείκτης μυοκαρδιακής δυσλειτουργίας» (6<sup>ο</sup> Παμπελοποννησιακό Ιατρικό Συνέδριο, 2004)
- Δρούλιας Ι., Μεταξάτος Γ., Πολίτης Ε., Χριστοδουλίδου Χ., Χατζηκωνσταντίνου Β. : «Αντιμετώπιση κνησμού αιμοκαθαρομένων ασθενών με Gabapentin» (Συνάντηση Ελληνικής Νεφρολογικής Εταιρείας, Μάρτιος 2006)

- Δρούλιας Ι., Μεταξάτος Γ., Πολίτης Ε., Κόλλια Κ., Χριστοδουλίδου Χ., Χατζηκωνσταντίνου Β. : «Θεραπευτική χορήγηση ιωδίου-131 και εξωνεφρική κάθαρση σε ασθενή με καρκίνο του θυροειδούς» (Συνάντηση Ελληνικής Νεφρολογικής Εταιρείας, Νοέμβριος 2006)
- Δρούλιας Ι., Μεταξάτος Γ., Πολίτης Ε., Χριστοδουλίδου Χ., Αποστόλου Θ., Νικολοπούλου Ν., Χατζηκωνσταντίνου Β. : «Αντιμετώπιση HIV οροθετικών ασθενών με χρόνια νεφρική νόσο τελικού σταδίου-εμπειρία μιας πενταετίας» (Συνάντηση Ελληνικής Νεφρολογικής Εταιρείας, Νοέμβριος 2006)
- Χαριτάκη Ε., Αποστόλου Θ., Μουτζούρης Δ.Α., Δρούλιας Ι., Χατζηκωνσταντίνου Β.: «Υπερβιταμίνωση D παρουσίαση τεσσάρων περιστατικών» (Συνάντηση Ελληνικής Νεφρολογικής Εταιρείας, Νοέμβριος 2006)
- Δρούλιας Ι., Κόλλια Κ., Μεταξάτος Γ., Χατζηκωνσταντίνου Β. : «Καταγραφή κλινικής έκβασης αιμοκαθαρομένων ασθενών και συσχέτισή τους με συνυπάρχοντα εξωνεφρικά νοσήματα στην μονάδα τεχνητού νεφρού κατά το έτος 2006» (Συνάντηση Ελληνικής Νεφρολογικής Εταιρείας, Μάρτιος 2007)
- Δρούλιας Ι., Αποστόλου Θ., Χατζηκωνσταντίνου Β. : «Ποιότητα ζωής σε μεταμοσχευμένους ασθενείς και συσχέτισή τους με την ανοσοκατασταλτική αγωγή» (Συνάντηση Ελληνικής Νεφρολογικής Εταιρείας, Μάρτιος 2007)
- Δρούλιας Ι., Πολίτης Ε., Κόλλια Κ., Μεταξάτος Γ., Αποστόλου Θ. Νικολοπούλου Ν., Χατζηκωνσταντίνου Β.:»Κοιλιοκάκη σε νέο ασθενή με μεμβρανώδη νεφροπάθεια» (Συνάντηση Ελληνικής Νεφρολογικής Εταιρείας , Νοέμβριος 2007)
- Δρούλιας Ι, Νικολοπούλου Ν, Σολουκίδης Α, Χριστοδουλίδου Χ,Αποστόλου Θ, Μουτζούρης Δ, Κασιμάτης Θ, Χατζηκωνσταντίνου Β : Πρόγνωση και θεραπεία ασθενών με νεφρίτιδα συστηματικού ερυθρηματώδους λύκου (15<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Νεφρολογικό Συνέδριο Αθήνα, 2008)
- Δρούλιας Ι, Νικολοπούλου Ν, Σολουκίδης Α, Χριστοδουλίδου Χ, Αποστόλου Θ, Μεταξάτος Γ, Μαργέλος Β, Χατζηκωνσταντίνου Β : Σημασία της διενέργειας βιοψίας νεφρού σε ασθενείς με οξεία νεφρική δυσλειτουργία, μελέτη 180 βιοψιών νεφρού (15<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Νεφρολογικό Συνέδριο Αθήνα, 2008)
- Δρούλιας Ι, Χριστοδουλίδου Χ, Κόλλια Κ, Νικολοπούλου Ν, Αθανασιάδης Θ, Κασιμάτης Θ, Βραχνής Σ, Μαργέλος Β, Μουτζούρης Δ, Παπαστεριάδου Χ, Χατζηκωνσταντίνου Β : Συχνότητα εμφάνισης των γονιδίων του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας σε ασθενείς με ANCA-αγγειίτιδα στον Ελληνικό πληθυσμό (15<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Νεφρολογικό Συνέδριο Αθήνα, 2008)



- Δρούλιας Ι, Αποστόλου Θ, Μποτούλα Ε, Πολίτης Ε, Βραχνης Σ, Μεταξάτος Γ, Χριστοδουλίδου Χ, Νικολοπούλου Ν, Δρακόπουλος Σ, Χατζηκωνσταντίνου Β : Η θεραπεία υποκατάστασης της βιταμίνης D δεν βελτιώνει τον υπερπαραθυρεοειδισμό των ασθενών σε εξωνεφρική κάθαρση 15<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Νεφρολογικό Συνέδριο Αθήνα, 2008)
- Δρούλιας Ι, Πολίτης Ε, Κόλλια Κ, Χριστοδουλίδου Χ, Μεταξάτος Γ, Χατζηκωνσταντίνου Β : HIV και νεφρική νόσος τελικού σταδίου- εμπειρία 10ετίας (Αρχεία Ελληνικής Ιατρικής Μάρτιος 2009)
- Δρούλιας Ι, Πολίτης Ε, Μεταξάτος Γ, Χριστοδουλίδου Χ, Νικολοπούλου Ν, Χατζηκωνσταντίνου Β : Επιβίωση βαρέως πασχόντων ασθενών με αιμοκάθαρση (16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Νεφρολογικό Συνέδριο Κως 2010)
- Σολουκίδης Α, Δρούλιας Ι, Παπαγρηγορίου Α, Βαλής Δ, Τζανάτου Ε, Δέλτας Κ, Σταύρου Χ : Κλινικά και εργαστηριακά ευρήματα στην κυστική μυελική νόσο τύπου Ι (16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Νεφρολογικό Συνέδριο Κως 2010)
- Σολουκίδης Α, Δρούλιας Ι, Βαλής Δ, Μουτζούρης Δ, Δέλτας Κ, Τζανάτου Ε : Μεταμόσχευση νεφρού στην κυστική μυελική νόσο τύπου Ι η εμπειρία ενός Κέντρου (16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Νεφρολογικό Συνέδριο Κως 2010)
- Δρούλιας Ι, Ζερεφός Ν, Σολουκίδης Α, Fischer R, Λιαβέρη Π, Παπακωνσταντίνου Σ, Φερεντίνου Ε, Δαμπόλια Ε, Ζέρβας Γ, Βαλής Δ : Καρδιαγγειακά προβλήματα στην αιμοκάθαρση, επιβαρυντικός παράγοντας το κάπνισμα (16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Νεφρολογικό Συνέδριο Κως 2010)
- Fischer R, Δρούλιας Ι, Σολουκίδης Α, Λιαβέρη Π, Ζερεφός Ν, Βαλής Δ : Κλινικά σημεία για τον προσδιορισμό του όγκου υγρών σε αιμοκαθαιρόμενους ασθενείς (16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Νεφρολογικό Συνέδριο Κως 2010).

Δρούλιας Ι, Σολουκίδης Α, Παπακωνσταντίνου Σ, Ζερεφός Ν, Βαλής Δ : Η ΤΚΕ , ευαίσθητος δείκτης της αιμοκάθαρσης 80<sup>η</sup> Επιστημονική συνάντηση Ελληνικής Νεφρολογικής Εταιρείας Νοέμβριος 2010 Θεσσαλονίκη

Δρούλιας Ι, Τουρνης Σ. : Ο ρόλος της 1-α υδροξυλάσης στον δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό της ΧΝΝ (Σκελετική Υγεία Νοέμβριος 2010)

Δρούλιας Ι. : Δευτεροπαθές σύνδρομο Fanconi (Σκελετική Υγεία Δεκέμβριος 2010)

Δρούλιας Ι : FGF23 και δευτεροπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός (Σκελετική Υγεία Ιανουάριος 2011)

Δρούλιας Ι. : Οι αγγειακές ασβεστώσεις στην ΧΝΝ (Σκελετική Υγεία Δεκέμβριος 2012)

Δρούλιας Ι, Κόλλια Κ Γεναδίου Ε : Ο καρδιαγγειακός ρόλος της παρακαλσιτόλης στην ΧΝΝ ( 17<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Νεφρολογικό Συνέδριο Κυλλήνη Μάιος 2012)

Δρούλιας Ι., Αδαμίδης Κ., Αποστόλου Θ., Νικολοπούλου Ν., : Ποιότητα ζωής των μεταμοσχευμένων ασθενών σε θεραπεία υπό μυκοφαινολικό οξύ (MPA) ( 82<sup>η</sup> Επιστημονική Συνάντηση της Ελληνικής Νεφρολογικής Εταιρείας 29-30 Νοεμβρίου 2012)

#### **ΞΕΝΟΓΛΩΣΣΕΣ ΕΡΓΑΣΙΕΣ - ΔΗΜΟΣΙΕΥΣΕΙΣ :**

- Droulias J., Kosmopoulou S., Zompolos S., Pitsavos C.: «Quality of Life in patients with coronary heart disease in Greece. A retrospective study.» (10<sup>th</sup> European Congress of Cardiology, Lisboa 2004)
- Moutzouris D.A., Kassimatis T., Droulias J., Nikolopoulou N., Hatzikonstantinou V. : «Plasmatic cystatin C for the estimation of glomerular filtration rate» (XLIII ERA-EDTA Glasgow, 2006)
- Droulias J., Kollia K., Apostolou T., Hatzikonstantinou V. : «Vitamin D analogues in the treatment of secondary hyperparathyroidism» (XLIII ERA-EDTA Glasgow, 2006)
- Droulias J, Kassimatis T, Nakopoulou L: «Inflammatory carcinoma of the breast: A correlation of clinical, radiologic and pathologic findings» ( Ann. Path August 2006)
- Droulias J., Apostolou T., Dracopoulos S., Hatzikonstantinou V.: «Parathyroid function in kidney allograft recipients 1n a 3-year study» (European congress of transplantation, Prague 2007)
- Soloukidis A., Kassimatis T., Moutzouris D.A., Droulias J., Nikolopoulou N., Hatzikonstantinou V. : «Prevalence in infections of central vein catheters in a 10-year follow up» (XLIV ERA-EDTA, Barcelona 2007)
- Droulias J., Soloukidis A., Moutzouris D.A., Nikolopoulou N., Apostolou T., Hatzikonstantinou V. : «Etiologies and outcome of renal insufficiency in older adults» (BANTAO, Belgrade 2007)

- Droulias J., Kassimatis T., Kollia K., Dracopoulos S., Apostolou T., Hatzikonstantinou V. : «Is there any correlation of de novo diabetes and HBV or HCV infection in kidney allograft recipients ?» (BANTAO, Belgrade 2007)
- Droulias J., Kassimatis T., Margellos V., Hatzikonstantinou V. : «Acute renal failure and hypercalcaemia: sarcoidosis may be the culprit» (Nephron, January 2007)
- Moutzouris D.A., Droulias J., Politis E., Hatzikonstantinou V : «Uninsured hemodialyzed patients in Greece» (Canadian Medical Journal, April 2007)
- Droulias J., Kassimatis T., Moutzouris D.A., Apostolou T., Kollia K., Hatzikonstantinou V. : «Rhabdomyolysis induced acute renal failure in a patient with leptospirosis» (Saudi Journal of Kidney and Transplantation, June 2007)
- Moutzouris D.A., Droulias J., Kassimatis T., Nikolopoulou N. : «Vitamin C induced acute renal failure in a 36-year old patient» (American Journal of Physicians, August 2007)
- Moutzouris D.A., Droulias J., Kassimatis T, Soloukides A, Nikolopoulou N, Hadjikonstantinou V « Prescription of vitamin supplementation is not always harmless” Gerontology ,April 2008
- Droulias J, Nikolopoulou N, Soloukides A, Apostolou T, Margelos V, Hadjikonstantinou V “ Long term outcome of patients with lupus nephritis” XLV ERA EDTA Congress of Nephrology, Stockholm 2008
- Droulias J, Nikolopoulou N, Kakaletri K, Moutzouris D.A, Metaxatos G, Christodoulidou C, Hadjikonstantinou V “Influence of renin-angiotensin blockade on serum free testosterone in male haemodialysis patients correlates with erythropoietin resistance XLVI ERA EDTA\_ISN Congress of Nephrology, Milan 2009
- Droulias J, Soloukides A, Fischer R, Liaveri P, Politis E, Valis D, “Study of microcirculatory changes and muscle oxygenation measured at rest by NIRS in the haemodialysis patients “ XLVII ERA EDTA Congress of Nephrology, Munchen 2010
- Politis E, Tseke P, Nikolopoulou N, Bakoulis D, DrouliasJ, Margelos V, Apostolou T, Nikolopoulou N “Mycophenolate sodium as monotherapy or in combination with corticosteroids in idiopathic membranous nephropathy a comparative prospective study “ XLVII ERA EDTA Congress of Nephrology, Munchen 2010

- Droulias J, Zerefos N, Soloukides A, Fischer R, Nanas S, Valis D “Study of the effect of CVVHDF on the microcirculation of the critically ill patients CRRT 2010 Conference San Diego, California CA ( research project to the University Center of San Diego, California CA under press)
- Droulias J, Zerefos N, Soloukides A, Fischer R, Papakonstantinou S, Dampolia E, Zervas G, Valis D “Is smoking a risk factor for cardiovascular events in HD patients?” ASN Renal week 2010 Denver, Colorado
- Droulias J, Zerefos N, Liaveri P, Fischer R, Papakonstantinou S, Dampolia E, Zervas G, Valis D “ Transferrin as a nutrition biomarker in HD patients “ 48o ERA-EDTA Congress Prague 25-28 May 2011
- Droulias J, Apostolou T, Metaxatos G, Margellos V, Christodoulidou C, Nikolopoulou N, “HIV patients in end-stage renal disease “ BANTAO Congress Halkidiki Greece 15-18 October 2011
- Droulias J, Kollia K, “ Cardiovascular role of patients in CKD patients” “ 48o ERA-EDTA Congress Paris France 27-30 May 2012

#### **ΟΜΙΛΙΕΣ :**

«Εγγύς σωληνάριο-νεότερες θεωρήσεις» , Εβδομαδιαίες Παρουσιάσεις Δώμα Ευαγγελισμού Νοέμβριος 2005

«Υπερασβεσταιμία σε νεαρό ασθενή», Εβδομαδιαίες Παρουσιάσεις Δώμα Ευαγγελισμού Φεβρουάριος 2006

« Ανοσοκατασταλτική αγωγή στην μεταμόσχευση» Εβδομαδιαίες Παρουσιάσεις Δώμα Ευαγγελισμού Μάρτιος 2007

« Μέθοδοι συνεχούς υποκατάστασης της νεφρικής λειτουργίας στην ΜΕΘ» Κλινική Εντατικής Θεραπείας Πανεπιστημίου Αθηνών Σεπτέμβριος 2007

« HIV στην νεφρική νόσο τελικού σταδίου ”» Εβδομαδιαίες Παρουσιάσεις Δώμα Ευαγγελισμού Μάρτιος 2008

« Διαβητική νεφροπάθεια» Εβδομαδιαίες εκδηλώσεις Επιστημονικής Ένωσης ΔΘΚΑ» ΥΓΕΙΑ», Μάιος 2010

« Αιμοκάθαρση στην νόσο τελικού σταδίου» Εισαγωγή-παρουσίαση στην Στρογγυλή Τράπεζα Παρηγορικής Νεφρολογίας , 16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Νεφρολογίας , Κώς Ιούνιος 2010

«Ο FGF23 στον δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό» 12<sup>ο</sup> Σεμινάριο Μεταβολικών Νοσημάτων των Οστών 11-13 Φεβρουαρίου 2011 Αθήνα

«BMPs και νεφρός» Μεταπτυχιακό Πρόγραμμα Μεταβολικά νοσήματα των οστών Ιατρική Σχολή Πανεπιστημίου Αθηνών

### **ΣΥΜΜΕΤΟΧΗ ΣΕ ΣΥΓΓΡΑΦΗ-ΜΕΤΑΦΡΑΣΗ ΒΙΒΛΙΩΝ**

Μετάφραση του section of Gastroenterology (ολοκληρώθηκε ) και του section of Nephrology ( ολοκληρώθηκε) του Harrison Internal Medicine 15<sup>th</sup> edition που είναι υπό έκδοση στα ελληνικά (εκδόσεις Παρισιάνου)

### **ΕΚΠΑΙΔΕΥΤΙΚΟ ΕΡΓΟ :**

2007: Διδασκαλία 8 ωρών στο Κ.Ε.Κ. Νοσηλευτικής Σχολής του Γ.Ν.Α. 'Ευαγγελισμός'

2008: Διδασκαλία 4 ωρών στο Κ.Ε.Κ. Νοσηλευτικής Σχολής του Γ.Ν.Α. 'Ευαγγελισμός'

2009-2010: Μαθήματα Αιμοκάθαρσης στις νοσηλεύτριες της Μονάδας Τεχνητού Νεφρού «Βαλής- ΔΘΚΑ ΥΓΕΙΑ»

### **ΞΕΝΕΣ ΓΛΩΣΣΕΣ :**

Αγγλικά ( κάτοχος First Certificate of Cambridge University )

### **ΕΛΛΗΝΟΓΛΩΣΣΑ ΣΥΝΕΔΡΙΑ- ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ**

- 27<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο 7-12 Μαΐου 2001, Αθήνα
- 28<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο 17-22 Μαΐου 2002, Αθήνα
- 29<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο 18-23 Μαΐου 2003, Αθήνα
- 30<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο 16-22 Μαΐου 2004, Αθήνα
- 31<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο 12-17 Μαΐου 2005, Αθήνα
- 32<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο 13-19 Μαΐου 2006, Αθήνα

- 33ο32<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο 17-20 Μαΐου 2007, Αθήνα
- 34<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Ιατρικό Συνέδριο 15-21 Μαΐου 2008, Αθήνα
- 14<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο 30 Σεπτεμβρίου-2 Οκτωβρίου 2002, Αθήνα
- 15<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Καρδιολογικό Συνέδριο 2 Οκτωβρίου-4 Οκτωβρίου 2003, Ρόδος
- 4<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Καρδιακής Ανεπάρκειας 7 Φεβρουαρίου-9 Φεβρουαρίου 2003, Αθήνα
- 5<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Καρδιακής Ανεπάρκειας 6 Φεβρουαρίου-8 Φεβρουαρίου 2004, Αθήνα
- 2<sup>ο</sup> Ετήσιο Διεθνές Συνέδριο Καρδιοχειρουργικής/ Καρδιολογίας 29-31 Μαΐου 2003, Αθήνα
- 13<sup>ο</sup> Παμπελοποννησιακό Συνέδριο Καρδιολογίας 20-22 Μαΐου 2003, Τρίπολη
- 4<sup>ο</sup> Παμπελοποννησιακό Ιατρικό Συνέδριο 2-4 Οκτωβρίου 2002, Πάτρα
- 6ο Παμπελοποννησιακό Ιατρικό Συνέδριο 15-17 Οκτωβρίου 2004, Πύργος Ηλείας
- Επίκαιρα Θέματα Πνευμονολογίας Ελληνική Πνευμονολογική Εταιρεία 21-23 Φεβρουαρίου 2002, Τρίπολη
- Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα Διαβήτη 22-25 Νοεμβρίου 2001 Διαβητολογικό Κέντρο Πανεπιστημίου Πατρών
- Εκπαιδευτικές Δραστηριότητες Πρωτοβάθμιας Υγείας «Γ. Παπαδάκης» Συνάντηση Εταιρείας Γενικής Ιατρικής 19-22 Φεβρουαρίου 2004
- Ημέρες Παθολογίας 2002 26-27 Απριλίου 2002, Γ Παθολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών
- 10<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Εσωτερικής Παθολογίας 4-9 Οκτωβρίου 2004, Αθήν

- 14<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Νεφρολογίας 30 Μαΐου-4 Ιουνίου 2006, Πόρτο Καρράς Χαλκιδική
- 15<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Νεφρολογίας 20-25 Ιουνίου 2008, Καβούρι, Αθήνα
- 16<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Συνέδριο Νεφρολογίας 2-6 Ιουνίου 2010, Κώς
- 72<sup>η</sup> Συνάντηση Ελληνικής Νεφρολογικής Εταιρείας 8-11 Νοεμβρίου 2006, Θεσσαλονίκη
- Ημερίδα Ελληνικής Νεφρολογικής Εταιρείας 3-5 Μαρτίου 2006, Αθήνα
- 73η Συνάντηση Ελληνικής Νεφρολογικής Εταιρείας 12-16 Νοεμβρίου 2007, Θεσσαλονίκη
- Ημερίδα Ελληνικής Νεφρολογικής Εταιρείας 5-9 Μαρτίου 2007, Αθήνα
- 1<sup>ο</sup> Εκπαιδευτικό Σεμινάριο Ελληνικής Νεφρολογικής Εταιρείας 9-12 Νοεμβρίου 2007, Θεσσαλονίκη
- 3<sup>ο</sup> Ετήσιο Εκπαιδευτικό Σεμινάριο Οξεοβασική ισοροπία-ηλεκτρολύτες 20-22 Φεβρουαρίου 2005 Γ Παθολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών- Β Παθολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών
- 4<sup>ο</sup> Ετήσιο Εκπαιδευτικό Σεμινάριο Ομοιοστασία νατρίου-καλίου 23-25 Φεβρουαρίου 2006 Γ Παθολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών- Β Παθολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών
- 5<sup>ο</sup> Ετήσιο Εκπαιδευτικό Σεμινάριο Ομοιοστασία νατρίου-καλίου 24-26 Φεβρουαρίου 2007 Γ Παθολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών- Β Παθολογική Κλινική Πανεπιστημίου Αθηνών
- Σεμινάρια συνεχιζόμενης εκπαίδευσης στην Νεφρολογία Ελληνική Νεφρολογική Εταιρεία «Μεταβολικό σύνδρομο» 28-30 Σεπτεμβρίου 2006, Κομοτηνή
- Σεμινάρια συνεχιζόμενης εκπαίδευσης στην Νεφρολογία Ελληνική Νεφρολογική Εταιρεία «Υπέρταση» 30 Σεπτεμβρίου –2 Οκτωβρίου 2006, Αλεξανδρούπολη

- Σεμινάρια συνεχιζόμενης εκπαίδευσης στην Νεφρολογία Ελληνική Νεφρολογική Εταιρεία «Φάρμακα και Νεφρός» 4 Απριλίου –8 Απριλίου 2007, Ιωάννινα
- Σεμινάρια συνεχιζόμενης εκπαίδευσης στην Νεφρολογία Ελληνική Νεφρολογική Εταιρεία «Οξεία νεφρική ανεπάρκεια» 19 –20 Ιανουαρίου 2007, Αθήνα
- Νεώτερες εξελίξεις στην Νεφρολογία Νεφρολογική Μονάδα ΔΘΚΑ»ΥΓΕΙΑ» 22-23 Ιανουαρίου 2007, Αθήνα
- Ετήσιο Εκπαιδευτικό Σεμινάριο Επιστημονικής Ένωσης ΓΝΑ» Ευαγγελισμός» 7-9 Φεβρουαρίου 2005, Αθήνα
- Ετήσιο Εκπαιδευτικό Σεμινάριο Επιστημονικής Ένωσης ΓΝΑ» Ευαγγελισμός» 11-13 Φεβρουαρίου 2006, Αθήνα
- Ετήσιο Εκπαιδευτικό Σεμινάριο Επιστημονικής Ένωσης ΓΝΑ» Ευαγγελισμός» 11-13 Φεβρουαρίου 2006, Αθήνα
- Ετήσιο Εκπαιδευτικό Σεμινάριο Επιστημονικής Ένωσης ΓΝΑ» Ευαγγελισμός» 14-16 Φεβρουαρίου 2007, Αθήνα
- Μετεκπαιδευτικά Μαθήματα Ελληνικής Εταιρείας Μελέτης Υπέρτασης Οκτώβριος-Μάιος 2005 ( δύο Σάββατα ανά μήνα)
- Μεταπτυχιακό Σεμινάριο Βιοηθικής Εκκλησίας Ελλάδας- Πανεπιστημίου Αθηνών 20 Ιανουαρίου- 5 Μαρτίου 2007 (κάθε Τρίτη 19.00-22.00) Αθήνα
- Μεταπτυχιακό Σεμινάριο Βιοηθικής Εκκλησίας Ελλάδας- Πανεπιστημίου Αθηνών ( Hospice) 27 Ιανουαρίου- 15 Μαρτίου 2008 (κάθε Τρίτη 19.00-22.00) Αθήνα
- State of the art στην Εντατικολογία Κλινική Εντατικής Θεραπείας Πανεπιστημίου Αθηνών 12-14 Απριλίου 2008 Αθήνα
- State of the art στην Εντατικολογία Κλινική Εντατικής Θεραπείας Πανεπιστημίου Αθηνών 12-15 Απριλίου 2009, Αθήνα
- 80<sup>η</sup> Επιστημονική συνάντηση της Ελληνικής Νεφρολογικής Εταιρείας 4-5 Νοεμβρίου 2010, Θεσσαλονίκη
- 12<sup>ο</sup> Σεμινάριο ΕΛΙΟΣ 11-13 Φεβρουαρίου 2011
- 13<sup>ο</sup> Σεμινάριο ΕΛΙΟΣ - Κλινικά Φροντιστήρια 17-19 Μαρτίου 2012



- Σε όλες τα εκπαιδευτικές συναντήσεις του Ομίλου Φίλων (ΟΦΕΛΙΟΣ) του ΕΛΙΟΣ το 2011-2012
- 17<sup>ο</sup> Πανελλήνιο Νεφρολογικό Συνέδριο Κυλλήνη 11-13 Μαΐου 2012
- Παρουσίαση του συστήματος FRAX από το ΕΛΙΟΣ 25 Μαΐου 2012
- 82<sup>η</sup> Επιστημονική συνάντηση της Ελληνικής Νεφρολογικής Εταιρείας 29-30 Νοεμβρίου 2012, Θεσσαλονίκη

#### **ΔΙΕΘΝΗ ΣΥΝΕΔΡΙΑ- ΣΕΜΙΝΑΡΙΑ**

- XLIII ERA-EDTA Congress of Nephrology, 8-12 June 2006, Glasgow, Scotland UK
- XLIV ERA\_EDTA Congress of Nephrology , 25-29 June Barcelona, 2007 Spain
- XLV ERA-EDTA congress of Nephrology, 5-8 May 2008 Stockholm, Sweden
- XLVII ERA-EDTA congress of Nephrology, 5-8 June 2010, Munchen, Germany
- ERA\_EDTA CME Course “Seminar of Biostatistics” 21-24 March 2008, Athens, Greece
- ERA-EDTA CME Course “ Lupus Nephritis ‘ 12-13 December 2008, Athens, Greece
- BANTAO (Balkan Association of Nephrology) Congress 17-20 September 2007, Belgrade, Serbia
- EFI Region Histocompatibility and Immunogenetics Laboratories Meeting 13-15 November 2006, Athens, Greece
- ASN ( American Society of Nephrology) Renal Week 3-7 November 2008, San Diego, California, CA, USA
- ASN ( American Society of Nephrology) Renal Week 4-8 November 2009, Philadelphia, Pennsylvania, PA, USA

- CRRT( Continuous Renal Replacement Therapy) 2010 24-27 February 2010, University of San Diego, California, CA, USA
- Critical Care Nephrology Topics 2010, 8-11 June 2010, Vicenza ,Italy
- ASN Renal weekend 1-3 June 2010 Philadelphia , PA, USA
- ASN Renal week 3-5 November 2011 Philadelphia , PA, USA
- 49o ERA-EDTA Congress 27-30 May Paris, France

## ΠΡΟΛΟΓΟΣ

Σήμερα, όλο και περισσότερες μελέτες γίνονται με σκοπό την διερεύνηση της σχέσης των οστικών μορφογενετικών πρωτεϊνών (BMPs) και του νεφρού. Η εκπόνηση αυτής της εργασίας έχει σαν σκοπό να μελετηθεί με όσο το δυνατόν μεγαλύτερη λεπτομέρεια η παραπάνω σχέση και οι ελπιδοφόρες μελλοντικές προοπτικές που δημιουργούνται για την θεραπευτική αντιμετώπιση της οξείας, της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας καθώς και άλλων νεφρικών παθήσεων. Η προσπάθεια που έγινε ήταν να αξιοποιηθούν οι πηγές της βιβλιογραφίας, με σαφήνεια, αντικειμενικότητα και κριτική σκέψη. Στην προσπάθεια μου αυτή πολύτιμος αρωγός στάθηκε η Επίκουρη Καθηγήτρια κα. Κασσή, η οποία ως επιβλέπουσα συνέβαλε τα μέγιστα στην εκπόνηση αυτής της εργασίας. Τέλος, δεν μπορώ να μην αναφερθώ στο δάσκαλό μου, τον Καθηγητή κ. Λυρίτη, ο οποίος με υπομονή και επιμονή με καθοδήγησε στην κατανόηση σε βάθος του προβλήματος της οστεοπόρωσης και των μεταβολικών νοσημάτων των οστών.

## ΠΕΡΙΛΗΨΗ

Στην οστική ανακατασκευή η ρύθμιση της ομότιμης συνεργασίας των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών που ονομάζεται φαινόμενο σύζευξης υλοποιείται από συστηματικούς και τοπικούς παράγοντες. Οι τοπικοί παράγοντες περιλαμβάνουν κυρίως τους αυξητικούς παράγοντες και τις κυτοκίνες όπου ένας από τους πιο βασικούς είναι οι οστικές μορφογενεϊκές πρωτεΐνες (BMPs)

Οι οστικές μορφογενεϊκές πρωτεΐνες (BMPs) είναι αυξητικοί παράγοντες που ανήκουν στην υπερικογενεία των TGF-β και παράγονται στην θεμέλια ουσία του οστού. . Σπουδαίος είναι ο ρόλος τους στην επαγωγή σχηματισμού νέου οστού ως και στην συντήρησή του. Λόγω δε της οστεογεννητικής δράσης τους οι BMPs έχουν αποκτήσει μεγάλο ενδιαφέρον όσον αφορά την θεραπευτική τους συμβολή στην πώρωση οστικών καταγμάτων, στην πρόληψη της οστεοπόρωσης και στην προαγωγή σχηματισμού νέου οστού γύρω από οστικά αλλομοσχεύματα

Έχουν απομονωθεί περίπου 20 είδη BMPs από τις οποίες 10 είναι οι κύριες που έχουν μελετηθεί καλύτερα. Από αυτές η BMP-1 είναι μεταλλοπρωτεάση , ενώ έξι ( η BMP-2 ,BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7) ανήκουν στις TGF-β και οι υπόλοιπες δεκατρείς ανήκουν σε διάφορες κατηγορίες. Η BMP-7 είναι η κυρίως δρώσα BMP στους νεφρούς όπου οι δράσεις της έχουν μελετηθεί καλύτερα αν και έχουν βρεθεί πολλές BMPs σε ελάχιστα ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις (BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-6. Πιθανές λειτουργίες τους είναι η ρύθμιση της επιθηλιακής διαφοροποίησης, της ενδοθηλιακής λειτουργίας και της ομοιόστασης του οστού

Στην νεφρογένεση (γένεση και ανάπτυξη του νεφρού) πιθανόν δρά επαγωγικά , προωθώντας σήμα που ενεργοποιεί την διαφοροποίηση του μετανεφρικού μεσεγχύματος. Δρά επίσης ως παράγοντας επιβίωσης του μετανεφρικού μεσεγχύματος αναστέλλοντας αποπτωτικά σήματα. Οι νεφροί με ελατωμένη BMP-7 εμφανίζουν σημαντικού βαθμού ελάτωση της νεφρογένεσης, με μείωση του μεγέθους του ουρητηρικού ηθμού, απώλεια του μετανεφρικού μεσεγχύματος

Στην οξεία νεφρική ανεπάρκεια ( ONA) η BMP-7 περιορίζει την νεφρική βλάβη με τους ακόλουθους τρόπους : α) περιορίζοντας τον καταρράκτη των φλεγμονωδών αντιδράσεων και την επακόλουθη ίνωση μέσω ελάτωσης της έκφρασης των προφλεγμονωδών κυτοκινών και των χυμοκινών και β) βοηθά στην διατήρηση της νεφρικής αιματικής ροής μέσω των δράσεων της στην έκφραση της ET-2, της HO-1 και της ADORA-1. Από τα παραπάνω συνάγεται ότι οι BMP-7 θα μπορούσε να αποτελέσει θεραπεία της ONA.

Στην χρόνια νεφρική ανεπάρκεια οι BMPs (και κυρίως η BMP-7) έχουν ιδιαίτερη επίδραση στις διάφορες παθοφυσιολογικές της εκδηλώσεις. Στην νεφρική ίνωση, έχει δείχτει ότι κυρίως η BMP-7 (και λιγότερο η BMP-2 ) έχει ενεργό ρόλο στην επιβράδυνση της εξέλιξης με ελάτωση της εναπόθεσης εξωκυτταρίου ινώδους υλικού ενώ σε κυτταρικό επίπεδο ασκεί προστατευτικό ρόλο στην διατήρηση της ακεραιότητας των νεφρικών σωληναρίων με δράση στα εγγύς σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα όπου ελατώνει τις προ-φλεγμονώδεις ουσίες που είναι πρόδρομες της νεφρικής ίνωσης , στα μεσαγγειακά κύτταρα ελατώνει την δράση της φιμπρονεκτίνης και στους ενεργοποιημένους διάμεσους ινοβλάστες – στην νεφρική ίνωση- αναστέλλοντας την ανάπτυξή τους. Στην χρόνια νεφρική ίνωση σε κυτταρικό επίπεδο συνίσταται στην μετατροπή των επιθηλιακών σε μεσεγχυματικά κύτταρα (EMT-epithelial to mesenchymal transition). Στην σπειραματοσκλήρυνση και πρωτεϊνουρία μειώνεται σημαντικά η νεφρική

παραγωγή της BMP-7 mRNA και των υποδοχέων της τύπου I και II. Η εξωγενής χορήγηση BMP-7 βρέθηκε να οδηγεί σε μερική υποστροφή της υπερτροφίας των σπειραμάτων, αναστροφή της βλάβης στα ποδοκύτταρα και βελτίωση της σωληναριακής φλεγμονής και ίνωσης που έχουν ως αποτέλεσμα την επαναφορά της φυσιολογικής σπειραματικής διήθησης και ελάτωση της πρωτεϊνουρίας.

Στην παθογένεια του δευτεροπαθούς υπερπαραθυρεοειδισμού έχουμε ελάτωση της BMP-7 η οποία προάγει τον σχηματισμό νέου οστού δρώντας αναβολικά ενώ δεν αυξάνει την οστική απορρόφηση όπως η αυξημένη PTH αποτελώντας πεδίο προς απωτερη έρευνα. Στην αδυναμική νόσο η BMP-7 αυξάνει τον σχηματισμό νέου οστού λόγω κυρίως της υποφωσφαταιμικής της δράσης που έχει σαν αποτέλεσμα αυξημένη σκελετική εναπόθεση φωσφόρου, αυξημένη μετάλλωση των οστικών επιφανειών και επομένως αυξημένο σχηματισμό νέου οστού. Στις αγγειακές ασβεστώσεις η BMP-7 επιδρά στον φαινότυπο των αγγειακών λείων μυικών κυττάρων των αγγείων ( VSMC) γεγονός που την καθιστά ικανή να αναστέλλει την διαδικασία των αγγειακών ασβεστώσεων στην ΧΝΑ σε αντίθεση με την BMP-2 που δρα αντίθετα επιτείνοντας τις αγγειακές ασβεστώσεις.

Τέλος, σε πειραματικά μοντέλα έχουν δείχτει θεραπευτικές δράσεις κυρίως της BMP-7 στην ONA, στην ΧΝΑ, σε μοντέλα πρόκλησης αποφρακτικής ουροπάθειας , οξείας σπειραματονεφρίτιδας, νεφρίτιδας του λύκου και υπερτασικής νεφροσκλήρυνσης που δημιουργούν ελπιδοφόρες προοπτικές για το μέλλον. Αξίζει να σημειωθεί ότι η ρύθμιση της δράσης της BMP-7 (όπως μέσω USAG-1, KCP κτλ) ίσως προσφέρει εναλλακτική προσέγγιση για την ανάπτυξη και προσθήκη νέων νεφροπροστατευτικών παραγόντων , στη φαρμάκων του κλινικού νεφρολόγου στο μέλλον.

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΠΙΝΑΚΩΝ

Πιν.1: Τοπικοί παράγοντες ρύθμισης της οστικής ανακατασκευής

Πιν.2: Κύριες BMPs και δράσεις τους

Πιν.3: Χρονική σειρά έκφρασης των μελών της οικογένειας των BMP πρωτεϊνών από την έναρξη της νεφρογένεσης μέχρι τα τελικά στάδια του σχηματισμού νεφρικών σωληναρίων

Πιν.4 :*Επίδραση της OP-1 σε ουρία, κρεατινίνη και ηλεκτρολύτες ορού (mEq/liter) σε πειραματόζωα με ισχαιμική ONA (Φ:φορέας) (71)*

## ΠΙΝΑΚΑΣ ΕΙΚΟΝΩΝ

**Εικ.1:** Φάσεις οστικής ανακατασκευής

**Εικ.2 :** Δράση αυξητικών παραγόντων

**Εικ.3:** Δομή της BMP-7.

**Εικ.4:** Μηχανισμός δράσης- υποδοχείς BMPs

**Εικ.5** BMP-4 και μεσονεφρικός πόρος

**Εικ.6:** Σχηματική αναπαράσταση του ρόλου της BMP-7 στην νεφρογένεση

**Εικ.7:** A και B: η BMP-7 στον μυελό του νεφρού σε μικρή μεγέθυνση

**Εικ.8:** Υβριδισμός με χρήση BMP-7 αντιορού στον φλοιό και μυελό του νεφρού

**Εικ.9:** Χρονική ακολουθία της καταστολής της BMP-7 στην έκφραση της Id3 της ET-2 και της MCP-1

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Έντονα

**Εικ.10:** Ποσοτική ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών, χυμοκινών, και αγγειοδραστικών ουσιών στα ΕΣΕΚ ως απάντηση στην BMP-7.

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Έντονα

**Εικ.11:** Δράσεις της BMP-7 κατά της νεφρικής ίνωσης στους νεφρικούς διάμεσους ινοβλάστες

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Έντονα

**Εικ.12:** Αλληλεπίδραση TGF-β και BMP-7 στην EMT

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Έντονα, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

**Εικ.13** Ανοσοδραστική οστική μορφογενετική πρωτεΐνη-7 (BMP-7) σε νεφρούς διαβητικών και ομάδας ελέγχου πειραματοζώων

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Έντονα, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

**Εικ.14:** Αποτελέσματα της BMP-7 στην ιστολογία του οστού με ποντίκια με δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό με ΧΝΝ

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Έντονα, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

**Εικ.15:** Αδυναμική οστική νόσος

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Έντονα

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Έντονα, Όχι Πλάγια, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

***Εικ.16: Πιθανός ρόλος της BMP2/MSX2 στις αγγειακές αβεστώσεις***

***Εικ.17:Μηχανισμοί των αγγειακών αβεστώσεων στην ΧΝΑ.***

***Εικ.18..Μοντέλο του ρόλου της BMP-7 και του USAG-1 στις νεφρικές παθήσεις.***



## 1. ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Η κατανόηση της φυσιολογίας του οστίτη ιστού και της παθογένειας των μεταβολικών νοσημάτων των οστών απαιτεί την καλή γνώση της διαδικασίας της οστικής ανακατασκευής. Η οστική ανακατασκευή είναι η δυναμική διαδικασία ανανέωσης των μικρομονάδων των οστών με διαδοχική ενεργοποίηση και λειτουργία των οστεοκλαστών και των οστεοβλαστών με σκοπό την ανανέωση του σκελετού, την επιδιόρθωση των μικροφθορών, την ομοιοστασία του ασβεστίου και την καλύτερη προσαρμογή στις μηχανικές ανάγκες του οστού (1). Διακρίνεται σε 5 φάσεις (Εικ.1) (2):

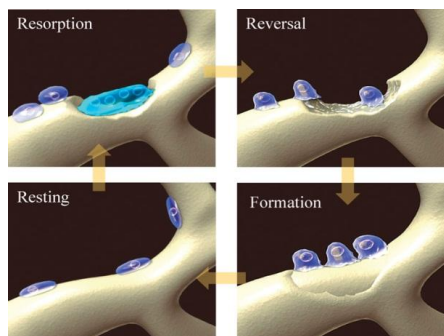
α) τη φάση ηρεμίας (ανενεργά κύτταρα)

β) τη φάση ενεργοποίησης με διέγερση της ενεργοποίησης των οστεοκλαστών,

γ) τη φάση οστικής απορρόφησης κατά την οποία οι οστεοκλάστες απορροφούν την αποσιτανωμένη θεμέλια ουσία,

δ) τη φάση της κυτταρικής αναστροφής κατά την οποία εξαφανίζονται οι οστεοβλάστες και επιστρατεύονται οι οστεοβλάστες και

ε) τη φάση της οστικής παραγωγής οπότε και οι οστεοβλάστες παράγουν προοδευτικά νέο οστό στο βοθρίο απορρόφησης που δημιούργησαν οι οστεοκλάστες.

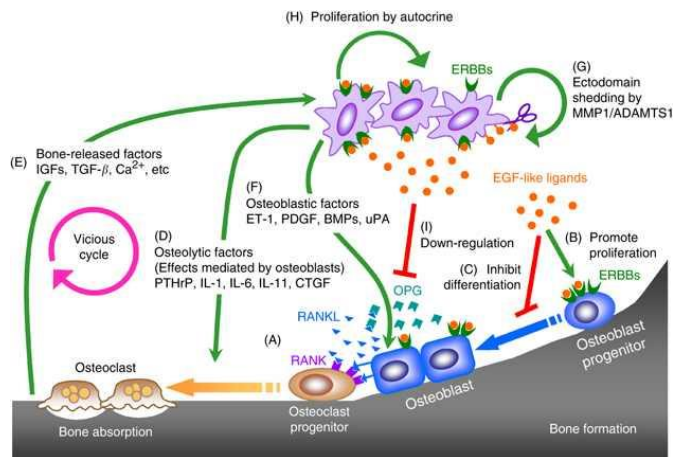


Εικ.1: Φάσεις οστικής ανακατασκευής

Η ρύθμιση της ομότιμης συνεργασίας μεταξύ των κυτταρικών σειρών που ονομάζεται φαινόμενο σύζευξης υπόκειται τόσο σε συστηματικό έλεγχο όσο και έλεγχο από τοπικούς παράγοντες. Οι συστηματικοί παράγοντες που επιδρούν στον οστικό μεταβολισμό είναι ορμόνες που σχετίζονται με τον μεταβολισμό του ασβεστίου (παραθορμόνη, 1,25 διυδροξυβιταμίνη D, καλσιτονίνη) και ουσίες που επηρεάζουν γενικότερα τον μεταβολισμό των κυτάρων του οργανισμού (θυρεοειδικές ορμόνες, ορμόνες φύλου, αυξητική ορμόνη, κορτικοστεροειδή, ινσουλίνη). Οι τοπικοί μηχανισμοί ενεργούν με την διαμεσολάβηση αυξητικών παραγόντων και κυτοκινών.

Οι αυξητικοί παράγοντες έχουν ισχυρή δράση στην οστική ανακατασκευή και συχνά αποτελούν τους μεταβιβαστές των μηνυμάτων των ασβεστιοτρόπων ορμονών. Οι αυξητικοί παράγοντες εκκρίνονται από τους οστεοβλάστες και επιδρούν άμεσα στις κυτταρικές σειρές από τις οποίες προέρχονται οι οστεοβλάστες και οι οστεοκλάστες. Εκτός από την άμεση δράση τους ένα μεγάλο ποσοστό των παραγομένων αυξητικών παραγόντων αποθηκεύονται στην θεμέλια ουσία που παράγουν οι οστεοβλάστες, συνδεδεμένοι με μια δεσμευτική πρωτεΐνη, και επαναχρησιμοποιούνται στις περιπτώσεις που θα κινηθεί η διαδικασία της οστικής ανακατασκευής, αφού προηγουμένως απελευθερωθούν από τη δεσμευτική πρωτεΐνη που τους έχει αδρανοποιήσει (2).

Σύμφωνα με τη θεωρία αυτή, κατά τη φάση της οστεοκλαστικής δραστηριότητας διαλύεται θεμέλια οστική ουσία και απελευθερώνονται οι εγκλωβισμένοι αυξητικοί παράγοντες που με τη σειρά τους διεγείρουν τους προ-οστεοβλάστες και τους βοηθούν να ωριμάσουν σε οστεοβλάστες, οι οποίοι τελικά αποκαθιστούν, υπό φυσιολογικές συνθήκες, ισόποσα την οστική απώλεια που προκάλεσαν οι οστεοκλάστες. Η σύζευξη αυτή των λειτουργιών των οστεοκλαστών και οστεοβλαστών γίνεται επομένως με την αλληλεπίδραση των κυτοκινών και των αυξητικών παραγόντων ( εικ,2)



**Εικ.2 :Δράση αυξητικών παραγόντων**

Οι βασικότεροι αυξητικοί παράγοντες είναι ο IGF-1 (ινσουλινοειδής αυξητικός παράγοντας), οι TGF(μετατρεπτικός αυξητικός παράγων) β1 και β2 και οι BMPs (**οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες**) (πιν.1). Αξίζει να σημειωθεί ότι αυτοί οι αυξητικοί παράγοντες ευρίσκονται μέσα στην θεμέλια ουσία του οστού σε σχετική αφθονία, γεγονός που εξηγεί την οστεοπαραγωγική δράση της θεμέλιας ουσίας όταν αυτή μεταμοσχευθεί υποδόρια σε επίμυς (2).

<b>Παραγωγή (αυξητικοί παράγοντες)</b>	<b>Απορρόφηση</b>
TGF-b(tumor growth factor)	IL-1,IL-4,IL-6,IL-11, IL-18
<b>BMPs (bone morphogenetic proteins)</b>	TNF-a
IGF-I, IGF-II (insulin growth factor)	OPG-RANKL-RANK
OPG-RANKL-RANK	CSF-1
PDGF (platelet derived factor)	IFN- γ
Heparin-binding fibroblast growth factors	TGF-β
	PGEs- Leukotrienes

**Πιν.1: Τοπικοί παράγοντες ρύθμισης της οστικής ανακατασκευής**

## 2. ΟΣΤΙΚΕΣ ΜΟΡΦΟΓΕΝΕΤΙΚΕΣ ΠΡΩΤΕΙΝΕΣ (Bone Morphogenetic Proteins –BMPs)-ΒΑΣΙΚΑ ΣΤΟΙΧΕΙΑ

### 2.1 Γενικά στοιχεία- Ρόλος στον σκελετό

Οι οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs) είναι αυξητικοί παράγοντες που ανήκουν στην υπερικογενεία των TGF-β και παράγονται στην θεμέλια ουσία του οστού. Αρχικά θεωρήθηκαν ως αυξητικοί παράγοντες που επάγουν (αυξάνουν) την μορφοποίηση(σχηματισμό) του οστού και του χόνδρου ενώ σήμερα οι BMPs θεωρούνται ότι είναι τα προωθητικά μορφογενετικά σήματα που διαμορφώνουν την ιστική αρχιτεκτονική διαφόρων οργάνων (3). Ο σημαντικός ρόλος τους στους ιστούς του ανθρώπινου σώματος είναι εμφανής από τις δυσλειτουργίες των BMPs που συναντώνται σε διάφορες παθολογικές καταστάσεις -κυρίως στην νεοπλασματική νόσο. Ειδικότερα στην νεοπλασματική νόσο φαίνεται να λαμβάνει χώρα δυσλειτουργία των BMPs η δε απουσία λειτουργίας αυτών θεωρείται σημείο επιδείνωσης (προόδου) του καρκίνου του παχέος εντέρου (4). Αντίθετα έχει σημειωθεί υπερλειτουργία των BMPs ως προωθητικών μορφογενετικών σημάτων στη γαστροοισοφαγική παλινδρόμηση (ΓΟΠ) που προάγει την ανάπτυξη του οισοφάγου Barrett που θεωρείται προκαρκινική κατάσταση για την ανάπτυξη αδενοκαρκινώματος του οισοφάγου (5).

Σπουδαίος είναι ο ρόλος των BMPs στην επαγωγή σχηματισμού νέου οστού ως και στην συντήρησή του. Πιο συγκεκριμένα οι BMPs δρούν μέσω ενός αυτοκρινικού ή παρακρινικού μηχανισμού συνδεδέμενοι με συγκεκριμένους ενδοκυττάριους υποδοχείς που ενεργοποιεί μια σειρά γεγονότων που επιδρούν σε διάφορους τύπους οστικών κυττάρων (6). Η διαφοροποίηση των οστεοπρογονικών μεσεγχευματικών κυττάρων και των προγονικών μορφών των οστεοβλαστών συμβαίνει υπό την επίδραση των κυτοκινών και των αυξητικών παραγόντων που με την σειρά τους καθοδηγούνται άμεσα ή έμμεσα από τις BMPs σε μεταγραφικό ή υψηλότερο επίπεδο(7). Η φλεγμονώδης απάντηση που παρατηρείται στην επούλωση του τραύματος και στην πώρωση του κατάγματος καταλήγει στην παραγωγή ουσιών που αλληλεπιδρούν με τις BMPs

επιηρεάζοντας την βιολογική τους δομή. Αξίζει να σημειωθεί ότι ενισχυτικά, αρνητικά ή συνεργικά αποτελέσματα προκύπτουν από την αλληλεπίδραση των BMPs με τους υποδοχείς τους (8). Η παρουσία των BMPs στην θεμέλια ουσία επιτρέπει την συμμετοχή τους στην οστική ανακατασκευή μεσολαβώντας στην σύζευξη οστεοβλαστών και οστεοκλαστών (9).

Οι συνθήκες του οστικού μικροπεριβάλλοντος, η ποσότητα των BMPs, στοιχεία της δομής των μεταφορέων και γεωμετρικά χαρακτηριστικά της θεμέλιας ουσίας είναι οι βασικοί ρυθμιστές της βιολογικής δράσης των BMPs στην επούλωση του τραύματος. Λόγω δε της οστεογεννητικής δράσης τους οι BMPs έχουν αποκτήσει μεγάλο ενδιαφέρον όσον αφορά την θεραπευτική τους συμβολή στην πωρωση οστικών καταγμάτων, στην πρόληψη της οστεοπόρωσης, στην θεραπεία οδοντικών βλαβών και στην προαγωγή σχηματισμού νέου οστού γύρω από εμφυτευμένα οστικά αλλομοσχεύματα (10).

## 2.2 Ιστορική αναδρομή

Από την εποχή του Ιπποκράτη ήταν ήδη γνωστό ότι το οστόν έχει δυναμική αναγέννησης και αυτοσυντήρησης. Το 1889 ο Senn (11) παρατήρησε ότι μη επιμεταλλωμένο οστόν μπορεί να επάγει την πώρωση οστικών καταγμάτων. Θεράπευε οστικά ελλείμματα σε οστεομυελίτιδα χρησιμοποιώντας μη επιμεταλλωμένο βόειο οστικό μόσχευμα συντηρημένο με διάλυμα ιωδοφορμίου θέλοντας μάλιστα να διαπιστώσει τον ρόλο του ιωδοφορμίου σαν αντισηπτικό . Ωστόσο παρατήρησε ότι όχι μόνο ελέγχθηκε η λοίμωξη αλλά αναπτύχθηκε νέο οστόν στην θέση των οστικών ελλειμμάτων γεγονός που δεν είχε την ανάλογη απήχηση από άλλους σύγχρονους προς αυτόν ερευνητές. Αξίζει να σημειωθεί ότι ο Pierre Lacroix το 1891 με παρόμοιες παρατηρήσεις υπέθεσε ότι το οστόν έχει ουσίες τις οστεογενίνες που προάγουν την έναρξη και διαδικασία της αύξησης του οστού (12).

Η ανακάλυψη σταθμός –πάντως- της δυνατότητας της θεμέλιας ουσίας να επάγει τον σχηματισμό νέου οστού έγινε το 1965 από τον Marshal Urist (13). Ο Urist ήταν διευθυντής του Ερευνητικού Εργαστηρίου Μελέτης Παθήσεων Οστών της Ιατρικής Σχολής του Λος Άντζελες του Πανεπιστημίου της Καλιφόρνιας και εξαιρετικός ορθοπεδικός χειρουργός. Ανακάλυψε ότι λυόφιλα οστικά τμήματα προάγουν τον έκτοπο σχηματισμό νέου οστού όταν εμφυτεύθηκαν σε μυοδερματικά μοσχεύματα. Πρότεινε δε- κι αυτό ήταν η πρώτη φορά- τον όρο οστικές μορφογενετικές πρωτείνες (BMPs) για να ονομάσει τις υπεύθυνες ουσίες που υπάρχουν στο οστόν και προάγουν τον σχηματισμό νέου οστού. Τα ευρήματά του τα περιγράφει σε ένα ιστορικό άρθρο-σημείο αναφοράς για τις οστικές μορφογενετικές πρωτείνες που δημοσιεύτηκε στο περιοδικό Science με τίτλο « *Bone formation by auto-induction* ». Παρόλαυτά η ανακάλυψη του επισκιαζόταν από το γεγονός ότι δεν υπήρχε μια αναπαραγομένη μέθοδος προσδιορισμού και εκτίμησης αυτών των ουσιών καθώς επίσης δεν ήταν απολύτως ξεκαθαρισμένο κατά πόσο αυτές οι πρωτείνες είναι οι αποκλειστικές υπεύθυνες της αύξησης (προαγωγής σχηματισμού νέου οστού) του οστού.

Τα παραπάνω φαίνεται να ξεπεράστηκαν το 1983 από τους Reddi και Sampath (14) όταν χρησιμοποίησαν μια φυσική αλλά υψηλά αναπαραγομένη μέθοδο προσδιορισμού του εκτόπου σχηματισμού νέου οστού που βασίζεται στην εκτίμηση της δραστηριότητας της αλκαλικής φωσφατάσης και του ασβεστίου του νεοσχηματισμένου οστού. Επιπροσθέτως οι δύο ερευνητές παρατήρησαν ότι αφαίρεση των BMPs από την θεμέλια ουσία την καθιστά ανίκανη να επάγει έκτοπο σχηματισμό νέου οστού ενώ αντιθέτως προσθήκη των BMPs στην θεμέλια ουσία την καθιστά άμεσα ικανή να επάγει τον έκτοπο σχηματισμό νέου οστού.

Η πρώτη κλινική μελέτη που μελέτησε την γονιδιακή αλληλουχία των BMPs έγινε το 1992 από τους Johnson και συν. (15). Σήμερα πλέον χάρη σε εντατικές έρευνες έχει αποκρυπτογραφηθεί η γονιδιακή αλληλουχία των BMPs κυρίως από δύο ομάδες ερευνητών η μία της Creative Biomolecules και η άλλη του Ινστιτούτου Γενετικής των ΗΠΑ. Είναι αξιοσημείωτο ότι σήμερα-αν και υπάρχει υψηλό κόστος- παράγονται BMPs που είναι απαλλαγμένες από κινδύνους λοιμώξεων ή αλλεργικών αντιδράσεων χρησιμοποιώντας γενετικές ανασυνδυασμένες τεχνικές.

## 2.3 Ταξινόμηση-κατηγορίες

Οι οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs) είναι μέλη της υπερικογένειας των TGF-β που περιλαμβάνει μεγάλο αριθμό αυξητικών παραγόντων, Έχουν απομονωθεί περίπου 20 είδη BMPs από τις οποίες 10 είναι οι κύριες που έχουν μελετηθεί καλύτερα. Από αυτές η BMP-1 είναι μεταλλοπρωτεάση , ενώ έξι ( η BMP-2 ,BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7) ανήκουν στις TGF-β και οι υπόλοιπες δεκατρείς ανήκουν σε διάφορες κατηγορίες.

Οι BMPs που είναι πρωτεΐνες ταξινομούνται σε τρεις κατηγορίες(16). Ειδικότερα στην πρώτη κατηγορία η BMP-2 και η BMP-4 έχουν 80% όμοια ακολουθία αμινοξέων, η δεύτερη κατηγορία (BMP-5, BMP-6, BMP-7) έχει 78% όμοια ακολουθία αμινοξέων ενώ στη τρίτη κατηγορία είναι μεμονωμένα η BMP-3 με διαφορετική ακολουθία αμινοξέων από τις υπόλοιπες BMPs. Στον παρακάτω πίνακα περιγράφονται οι 10 κύριες BMPs με τις βασικές τους δράσεις με έμφαση στην BMP-7 (OP-1)- μια ομοδιμερής γλυκοπρωτεΐνη με μοριακό βάρος 32-36 kDa με πολυπεπτιδικές αλυσίδες αμινοξέων συνδεδεμένες μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς- που είναι η κυρίως δρώσα BMP στον νεφρό.

BMP	Λειτουργίες	Gene Locus
BMP1	*BMP1 δεν ανήκει στην οικογένεια των TGF-β πρωτεϊνών. Είναι μια μεταλλοπρωτεάση που δρα στο προκολλαγόνο I, II, και III. .	8; 8p21
BMP2	Δρά ως ένα δισουλφιδικό ομοδιμερές και αυξάνει τον σχηματισμό οστού και χόνδρου. Θεωρείται ως ρετινοειδής μεσολαβητής Έχει ρόλο κλειδί στην οστεοβλαστική διαφοροποίηση	20; 20p12
BMP3	Αυξάνει τον σχηματισμό οστού.	14; 14p22
BMP4	Ρυθμίζει τον σχηματισμό οδόντων, άκρων και οστού από το μεσόδερμα. Επίσης παίζει κάποιο ρόλο στην πύρωση των καταγμάτων.	14; 14q22-q23
BMP5	Έχει ρόλο στην ανάπτυξη του χόνδρου.	6; 6p12.1
BMP6	Έχουν ρόλο στην ακεραιότητα των αρθρώσεων στους ενήλικες.	6; 6p12.1
BMP7	Έχει ρόλο κλειδί στην οστεοβλαστική διαφοροποίηση Αυξάνει επίσης την παραγωγή του SMAD1. Επίσης παίζει σημαντικό ρόλο στην νεφρική ανάπτυξη και διαφοροποίηση	20; 20q13
BMP8a	Εμπλέκεται στην ανάπτυξη του οστού και του χόνδρου.	1; 1p35-p32
BMP8b	Εκφράζεται στον ιππόκαμπο.	1; 1p35-p32
BMP10	Πιθανός ρόλος στην εμβρυϊκή καρδιά.	2; 2p14

Πιν.2 : Κύριες BMPs και δράσεις τους

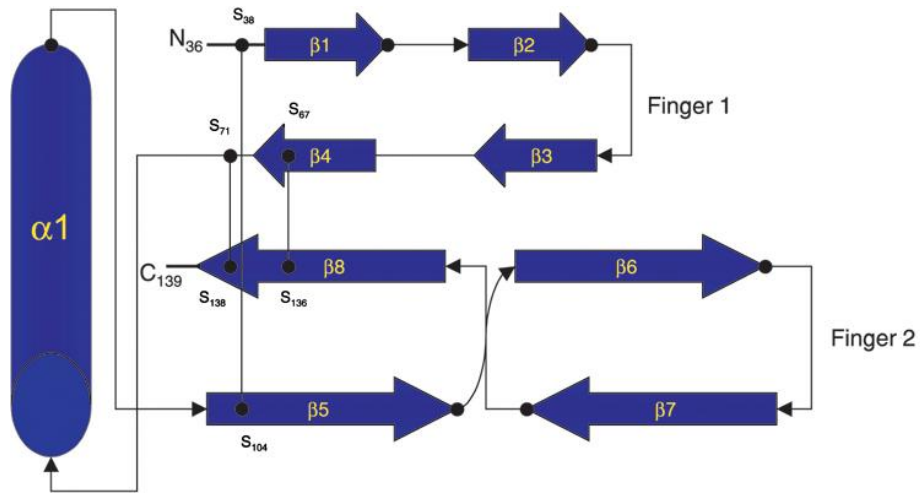


## 2.4 Δομή των BMPs

Όπως αναφέρθηκε οι οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs) ανήκουν στην υπερικογένεια των TGF-β. Οι συγκεκριμένες πρωτεΐνες συντίθενται στην θεμέλια ουσία ως μεγάλα πρόδρομα μόρια. Ακολουθεί η πρωτεολυτική διάσπαση των προδρόμων μορίων σε διμερή (με ακολουθία αμινοξέων Arg-X-X-Arg) τα οποία θα δημιουργήσουν ωριμα διμερή των οποίων η σταθερότητα ρυθμίζεται από το αμινο-τελικό άκρο των προδρόμων διμερών (17).

Οι BMPs αποτελούνται από διμερή τα οποία συνδέονται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς γεγονός που είναι προαπαιτούμενο για την επαγωγή (σχηματισμό) νέου οστού. Οι BMPs είναι ενεργές τόσο ως ομοδιμερή (δύο όμοιες αλυσίδες) όσο και ως ετεροδιμερή (δύο διαφορετικές αλυσίδες) ενώ ως χημικές ενώσεις είναι γλυκοπρωτεΐνες χαμηλού μοριακού βάρους. Πιο συγκεκριμένα, οι BMPs είναι διμερή μόρια που αποτελούνται από πολυπεπτιδικές αλυσίδες που συνδέονται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς με τον δομικό τους σκελετό όμοιο σε ποσοστό 40-50% με αυτό των TGF-β (18). Θα πρέπει βέβαια να διευκρινιστεί ότι οι TGF-β ανευρίσκονται στην θεμέλια ουσία του οστού σε μεγαλύτερη συγκέντρωση από τις BMPs χαρακτηριζόμενες περισσότερο ως κυτοκίνες παρά ως μορφογενετικές πρωτεΐνες. Πράγματι ενώ η BMP-2 επάγει την σύνθεση της αλκαλικής φωσφατάσης και της οστεοκαλσίνης (δείκτες οστεοβλαστικής διαφοροποίησης) αντίθετα η TGF-β1 αναστέλλει την σύνθεσή τους.

Είναι ενδιαφέρον να σημειωθεί ότι έχει καταγραφεί πλήρως η τρισδιάστατη δομή της οστεογενετικής πρωτεΐνης -1 (OP-1) –BMP-7 στην οποία ενώ υπάρχει περιορισμένη ομοιότητα με την αντίστοιχη δομή της TGF-β1, φαίνεται να έχουν όμοιους πολυπεπτιδικούς δεσμούς (18,19). Η ομοιότητα της δομής της BMP-7 με αυτή της TGF-β1 είναι 35% σε αντίθεση με την ομοιότητά τους σε ποσοστό 60% και 85% με αυτή των BMP-2 και BMP-5 αντιστοίχως. Το κάθε μονομερές περιλαμβάνει τρεις δισουλφιδικούς δεσμούς, την «αλυσίδα κυστεΐνης», τέσσερα νήματα από αντιπαράλληλα β-ινίδια που προέρχονται από την «αλυσίδα κυστεΐνης» που δημιουργούν δύο σχηματισμούς δίκην «δαχτυλιδιού» (Εικ.3)



**Εικ.3:** Δομή της BMP-7. Το μονομερές σταθεροποιείται από τρεις δισουλφιδικούς δεσμούς π.χ Cys 67- Cys 136 και Cys 71- Cys 138 που σχηματίζουν ένα δαχτυλίδι μέσα από το οποίο περνά ένα τρίτο το Cys38-Cys 104.

## 2.5 Στοιχεία γενετικής των BMPs

Τα πιο σημαντικά γονίδια που κωδικοποιούν τις BMPs είναι τα *Xenopus Vent2* και τα *Id* γονίδια που περιλαμβάνουν τα *Id1, Id2, Id3* και *Id4* (20,21). Οι αντίστοιχοι υποκινητές περιέχουν ειδικά *Smad* συνδετικά στοιχεία (specific *Smad* binding elements- SBES) που επάγουν την σύνδεση των *Smad 1* και *Smad 5* που είναι αναγκαία μόρια για την διέγερση των BMPs (20). Τα παραπάνω στοιχεία έχουν κλωνοποιηθεί σε διάφορα συστήματα αναφοράς επιτρέποντας την παρακολούθηση της ενεργότητας των BMPs και την ταυτοποίηση και άλλων γονιδίων που κωδικοποιούν τις BMPs. Μια άλλη κατηγορία γονιδίων αποτελούν οι μεταγραφικοί παράγοντες *Runx* που είναι απαραίτητοι για την υλοποίηση της οστεογένεσης ενώ είναι οι βασικοί ρυθμιστές των *Smad* σημάτων (22). Αξίζει να σημειωθεί ότι ως μέλος των ανασταλτικών *Smad* έχει βρεθεί ότι λειτουργεί με μηχανισμό αρνητικής παλίνδρομης ρύθμισης επί των BMPs- σημάτων (22) με την έκφρασή του να αυξάνεται από ένα γονίδιο μη πλήρως ταυτοποιημένο ως απάντηση σε διέγερση των BMPs (22), η δε έκφραση του συγκεκριμένου γονιδίου ρυθμίζεται από τον *Smad1* σε συνεργασία με τον *Runx2* (23).

## 2.6 Μηχανισμός δράσης των BMPs

### 2.6.1 Υποδοχείς BMPs

Η οστεογένεση περιλαμβάνει μια σειρά ραγδαίων αντιδράσεων που λαμβάνουν χώρα σε τρεις βασικές φάσεις : μετανάστευση και μίτωση των μεσεγχυματικών κυττάρων, διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων σε χονδροβλάστες, σχηματισμός χόνδρου και τελικά αντικατάσταση του χόνδρου από οστίτη ιστό. Αυτή η ακολουθία των γεγονότων πυροδοτείται από την σύνδεση της φιλμπρονεκτίνης του πλάσματος με την μη επιμεταλλωμένη θεμέλια ουσία του οστού που διεγείρει την υπερπλασία και την αύξηση του αριθμού των μεσεγχυματικών κυττάρων 3 μέρες μετά την εμφύτευσή τους. Η χονδρογένεση παρατηρείται έπειτα από 5 μέρες, φτάνοντας σε μέγιστο βαθμό έπειτα από 7-8 ημέρες. Η υπερτροφία του χόνδρου και η επιμετάλλωση παρατηρούνται έπειτα από 9 ημέρες. Η οστεοβλαστική διαφοροποίηση εξαρτάται από την αγγειογένεση και φτάνει στο μέγιστο επίπεδο έπειτα από 10-11 ημέρες (24). Συνεπεία των παραπάνω το νεοσχηματιζόμενο ενδοχόνδρινο οστόν γίνεται τόπος αιμοποίησης (24). Η παραπάνω σειρά των μορφογενετικών γεγονότων ως απάντηση στην μη επιμεταλλωμένη θεμέλια ουσία του οστού μιμείται τα αρχικά γεγονότα της σκελετικής μορφογένεσης στα έμβρυα και της οστικής ανακατασκευής στους ενήλικες.

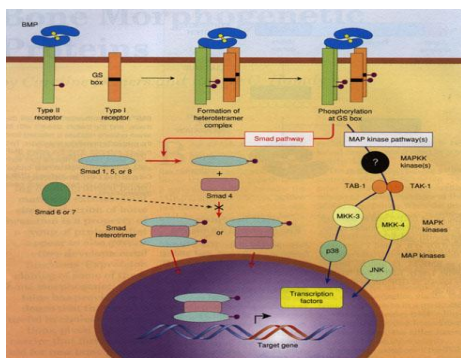
Τα σήματα-κλειδιά της μορφογένεσης έχουν ήδη ταυτοποιηθεί ( Εικ.6). Η BMP, είναι μια σηματοδοτική πρωτεΐνη ανήκουσα στην υπεροικογένεια των TGF-β, που συνδέεται με τον ειδικό υποδοχέα τύπου II που εδράζεται στην κυτταρική μεμβράνη και επιστρατεύει έναν ειδικό υποδοχέα τύπου I, σχηματίζοντας ένα σύμπλεγμα. Αυτοί οι υποδοχείς είναι διαμεμβρανικές πρωτεϊνικές κινάσες σερίνης/θρεονίνης που αυτό-φωσφορυλιώνονται μετά τον σχηματισμό του BMP-υποδοχέα τύπου II-υποδοχέα τύπου I και αποκτούν την ικανότητα να φωσφορυλιώνουν τις Smad πρωτεΐνες που ανήκουν στην οικογένεια των TGF-β επαγωγέων. Οι Smads είναι μια οικογένεια μεσολαβητών-σηματοδοτών των

BMP υποδοχέων σε σπονδυλωτά ομόλογα των Mad (mothers against decapentaplegic in Drosophila) και Sma (Mad in C. Elegans) και μπορούν να ταξινομηθούν σε τρεις υποκατηγορίες δηλ. σε υποδοχείς σχετιζόμενους με τις Smads (R-Smads), κοινοί μεσολαβητές Smads και ανασταλτικοί Smads. Οι R-Smads φωσφορυλιώνονται από τους υποδοχείς των κινασών σερίνης/θρεονίνης (BMP-υποδοχέα τύπου II-υποδοχέα τύπου I). Οι R-Smads αλληλεπιδρούν με τους κοινούς μεσολαβητές Smads και σχηματίζουν ετερο-ολιγομερικά συμπλέγματα ενώ στην συνέχεια εγκαθίστανται στον πυρήνα και ρυθμίζουν την μεταγραφή των διαφόρων γονιδίων- στόχων.

Η ηπίου βαθμού ταυτόχρονη έκφραση (συνέκφραση) της BMP-2 με τις BMP-4, την BMP-5 και την BMP-7 ή η συνέκφραση της BMP-4 με την BMP-7 είχε σαν αποτέλεσμα μεγαλύτερη δραστηριότητα των BMPs από την έκφραση καθεμιάς από τις BMPs μεμονωμένα και ειδικότερα το ετεροδιμερές BMP2/7 έχει 20 φορές μεγαλύτερη δραστηριότητα από τις BMPs ομοδιμερή (με βάση μέθοδο υπολογισμού της αλκαλικής φωσφατάσης) (25).

Πρόσφατες μελέτες έχουν ταυτοποιήσει εξωκυττάριους ανταγωνιστές των BMPs (noggin, chordin) και μέλη της DAN οικογένειας (gremlin). Αυτοί οι ανταγωνιστές συνδέονται με τις BMPs με την ίδια χημική συγγένεια όπως και οι υποδοχείς τους μπλοκάροντας την επαγωγή των μορφογενετικών σημάτων και έτσι ελλατώνουν τον σχηματισμό νέου οστού (26).

Οι Bahamonde και Lyons (27) έδειξαν ότι η BMP-3 έχει ανασταλτικό αποτέλεσμα στην οστεογένεση εμφανίζοντας κοινό σηματοδοτικό μονοπάτι με αυτό της TGF-β/activin. Η ικανότητα της BMP-3 να αναστέλλει την δραστηριότητα της BMP-2 φαίνεται να είναι αποτέλεσμα ανταγωνιστικής δράσης σε κοινά σηματοδοτικά μονοπάτια των TGF-β και των BMPs. Από την στιγμή που η BMP-3 είναι η κύρια BMP του μη επιμεταλλωμένου οστού είναι προφανές ότι η BMP-3 έχει θεμελιώδη ρόλο στην ρύθμιση της οστεογενετικής δράσης των BMPs in vivo (εικ.4). Από τα παραπάνω συνάγεται ότι η BMP-3 μπορεί να αποτελέσει θεραπευτικό παράγοντα για νόσους που χαρακτηρίζονται από αυξημένη οστική επιμετάλλωση, όπως στην οστεοπέτρωση.



**Εικ.4: Μηχανισμός δράσης- υποδοχείς BMPs**

### 2.6.2 Κυτταρικές δράσεις των BMPs (κύτταρα- στόχοι των BMPs)

Σημαντικός αριθμός μελετών έχουν δείξει τις δράσεις των BMPs σε μοριακό και κυτταρικό επίπεδο. Σημειώνεται ότι κάποια πολυδύναμα μεσεγχυματικά κύτταρα, κύτταρα του μυελού των οστών, πρόδρομοι οστεοβλάστες, μυοβλάστες, ινοβλάστες και νευρικά κύτταρα απαντούν στην δράση των BMPs. Σημαντικός αριθμός δεικτών του οστικού μεταβολισμού όπως αλκαλική φωσφατάση, οστεοποντίνη, οστεονεκτίνη και οστεοκαλσίνη επηρεάζονται από τη δράση των BMPs. Παρόλες τις πολλές αποδείξεις της συμμετοχής των BMPs- μέσω των ειδικών τους υποδοχέων- στη αύξηση του οστού και του χόνδρου ο μηχανισμός επαγωγής του μορφογενετικού σήματος είναι ασαφής.

Στα μεσεγχυματικά και εμβρυικά κύτταρα, το πιο εντυπωσιακό αποτέλεσμα των BMPs είναι ότι προκαλούν αυξημένη διαφοροποίηση αυτών σε οστεοβλάστες, διεγείροντας τον σχηματισμό χόνδρου και την δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης. Αξίζει να σημειωθεί το γεγονός ότι σε πειραματικά μοντέλα *in vitro* χαμηλές συγκεντρώσεις των BMPs προάγουν την διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων σε λιποκύτταρα, ενώ υψηλές συγκεντρώσεις των BMPs προάγουν τη οστεοβλαστική διαφοροποίηση. Τα παραπάνω τονίζουν την

ανάγκη να προσδιοριστεί με ακρίβεια η δόση των BMPs για να προβλεφθεί το θεραπευτικό τους αποτέλεσμα (28). Οι οστεοβλάστες που είναι υπό θεραπεία με ανασυνδυσασμένη BMP-2 αναπτύσσουν ταχεία διαφοροποίηση παρόμοια με αυτή των μεσεγχυματικών κυττάρων με εντυπωσιακή αύξηση των επιπέδων της αλκαλικής φωσφατάσης, της οστεοποντίνης, της οστεονεκτίνης και της οστικής σιαλοπρωτεΐνης (29)

Σε γενικές γραμμές, όσον αφορά τα αποτελέσματα των BMPs στους οστεοβλάστες και στα κύτταρα του περιοστέου, υπάρχει αυξημένη σύνθεση DNA, ως και αυξημένη μεταγραφή των γονιδίων που συμμετέχουν στην σύνθεση των πρωτεϊνών της θεμελίας ουσίας του οστού, ενώ η ανασυνδυσασμένη BMP-2 αναστέλλει την διαφοροποίηση των προδρόμων οστεοβλαστών σε μυοβλάστες ή λιποκύτταρα (30). Οι Sampath και συν. (31) έδειξαν ότι όταν η BMP-7 προστίθεται σε καλλιέργειες οστικών κυττάρων που εμπλουτίζονται με οστεοβλάστες που βρίσκονται σε διάφορα στάδια διαφοροποίησης, διεγείρουν την υπερπλασία των κυττάρων, την σύνθεση του κολλαγόνου, την δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης και την σύνθεση της οστεοκαλσίνης.

Από την στιγμή που πολλοί τύποι των BMPs προκαλούν αύξηση της ενδοχόνδριας οστεοποίησης, τα χονδροκύτταρα πρέπει να θεωρηθούν φυσικοί στόχοι των BMPs. Πράγματι έχειδειχθεί ότι πολλές BMPs προκαλούν αυξημένη κυτταρική υπερπλασία, αυξημένη σύνθεση και δραστηριότητα της αλκαλικής φωσφατάσης των χονδροβλαστών και χονδροκυττάρων του συζευκτικού χόνδρου. Σε κυτταρικές καλλιέργειες έχειδειχθεί ότι τα χονδροκύτταρα επηρεάζουν τα αποτελέσματα των BMPs αποδεικνύοντας ότι δράση αυτών των πρωτεϊνών είναι ιστο-εξαρτώμενη (32).

Σε πειραματικά μοντέλα έχειδειχθεί ότι οι BMPs προκάλεσαν αύξηση της σύνθεσης του DNA, της πρωτεϊνοσύνθεσης και της δραστηριότητας της αλκαλικής φωσφατάσης σε NIH 3T3 ινοβλάστες (29). Αντίθετα, η ανασυνδυσασμένη BMP δεν προκάλεσε αύξηση της αλκαλικής φωσφατάσης σε αυτά τα κύτταρα. Η BMP-2 αύξησε την διαφοροποίηση των 3T3 ινοβλαστών σε λιποκύτταρα και οστεοβλάστες (29).

Συνήθως τα κύτταρα-στόχοι των BMPs διαφοροποιούνται σε κύτταρα τύπου οστεοβλαστών και παράγουν αλκαλική φωσφατάση και επιμεταλλωμένο οστόν. Από την άλλη πλευρά, οι Kaneko και συν. (33) εξέτασαν το άμεσο αποτέλεσμα στη οστεοαπορροφητική δραστηριότητα των οστεοκλαστών σε καλλιέργεια ωρίμων οστεοκλαστών που απομονώθηκαν από κουνέλια όπου φάνηκε ότι κυρίως η BMP-2 και η BMP-4 αύξησαν την οστεοκλαστική δραστηριότητα (οστική απορρόφηση). Τέλος η BMP-2 αύξησε την έκφραση του mRNA από την καθεψίνη και την καρβονική ανυδράση II που είναι τα ένζυμα-κλειδιά για την αποδόμηση των οργανικών και ανοργάνων ουσιών της θεμέλιας ουσίας του οστού αντιστοίχως.



## 3. BMPs ΚΑΙ ΝΕΦΡΟΣ

### 3.1 Ρόλος των BMPs στην γένεση και ανάπτυξη του νεφρού

#### 3.1.1 Εισαγωγή

Η γένεση και ανάπτυξη του νεφρού (νεφρογένεση ) (Εικ.6) αποτελείται από στάδια δημιουργίας προσδευτικά εξελισσομένων μορφών του νεφρού: πρόνεφρος, μεσόνεφρος , μετανεφρός με τον προνεφρό να αποτελεί την πιο ανώριμη μορφή και τον μετανεφρό να αποτελεί την πιο εξελιγμένη που μεταπίπτει στον πλήρως αναπτυγμένο νεφρό ενήλικου

Ο προνεφρός γεννάται στην τραχηλική περιοχή του εμβρύου. Την 22<sup>η</sup> μέρα της κύησης οι προνεφροί εμφανίζονται ως ζεύγος στο κρανιακό άκρο του ενδιαμέσου μεσοδέρματος. Εκεί τα επιθηλιακά κύτταρα διατάσσονται σαν μια σειρά σωληναρίων που λέγονται νεφροτόμια και στην συνέχεια ενώνονται με τον προνεφρικό πόρο που είναι πλήρως εμβυθισμένος μέσα στο έμβρυο και συνεπώς δεν μπορεί να απεκκρίνει διηθούμενο υλικό έξω από το έμβρυο . Από τα προηγούμενα μπορεί να ερμηνευθεί γιατί ο προνεφρός θεωρείται μη λειτουργικός

Ο προνεφρικός πόρος αναπτύσσεται σε κεφαλο-ουραία κατεύθυνση. Καθώς επεκτείνεται σε ουραία κατεύθυνση προσαρτά ενδιάμεσο μεσόδερμα στην θωρακοσφυϊκή περιοχή το οποίο μετατρέπεται σε επιθηλιακά σωληνάκια που ονομάζονται μεσονεφρικά σωληνάκια. Τα μεσονεφρικά σωληνάκια σχηματίζουν μια κάψα που περιβάλλει έναν τριχοειδικό θύσανο (πρόδρομος του σπειράματος ) που επιτρέπει την διήθηση του αίματος. Το διήθημα του νεφρού ρέει στο μεσονεφρικό σωληνάριο και παροχετεύεται στην συνέχεια του προνεφρικού πόρου, τον μεσονεφρικό πόρο ή Βολφάνειο πόρο που εκτείνεται προς την ουραία κατεύθυνση του εμβρύου καταλήγοντας στην κλοάκη.

Κατά την διάρκεια της 5ης εβδομάδας της κύησης ο μεσонеφρικός πόρος αναπτύσσει τον ουρητηρικό ηθμό στην περιοχή μετά πτωσής του στη κλοάκη . Ο ουρητηρικός ηθμός που λέγεται και μετανεφρικό εκκόλπωμα αναπτύσσεται προσθίως κατά μήκος της κεφαλής του εμβρύου. Το επεκτεινόμενο κολόβωμα του ουρητηρικού ηθμού που ονομάζεται μετανεφρικός πόρος θα δημιουργήσει αργότερα τον ουρητήρα. Καθώς το κρανιακό άκρο του μετανεφρικού πόρου διεισδύει στο ενδιάμεσο μεσόδερμα δημιουργεί διακλαδώσεις που θα σχηματίσουν το αθροιστικό σύστημα (αθροιστικά σωληνάκια) του νεφρού, τους μείζονες κάλυκες, τους ελλάσσονες κάλυκες και την νεφρική πύελο

Η είσοδος του αδιαφοροποίητου ενδιάμεσου μεσοδέρματος μαζί με τις κορυφές του διακλαδιζομένου ουρητηρικού ηθμού δημιουργούν το μετανεφρικό βλάστημα . Κυτταρικά σήματα από τον ουρητηρικό ηθμό επάγουν την διαφοροποίηση του μετανεφρικού βλαστήματος σε νεφρικά σωληνάκια.

Τέλος περί την 32η - 36η εβδομάδα της κύησης θα σχηματιστεί το μετανεφρικό μεσέγγυμα και θ' ακολουθήσει η μετανάστευση των κατωτέρων τμημάτων του μετανεφρικού πόρου σε ουραία κατεύθυνση όπου θα συνενωθούν με την ουροδόχο κύστη σχηματίζοντας τους ουρητήρες.

### **3.1.2 Η έκφραση των BMPs στην ανάπτυξη του νεφρού (νεφρογένεσης)**

Κατά την διάρκεια της νεφρογένεσης φαίνεται να υπάρχει ιδιαίτερα δυναμική έκφραση των BMPs .Ειδικότερα η BMP-7 εμφανίζεται με ιδιαίτερα αυξημένη έκφραση στον ουρητηρικό ηθμό όπως αυτός αναδύεται από τον Βολφάνειο πόρο την 11<sup>η</sup> μέρα της νεφρογένεσης και διατηρείται η έκφρασή της σε όλη την διάρκεια της νεφρογένεσης. Καθώς ο ουρητηρικός ηθμός βαίνει προς μορφογένεση, υπάρχει αυξημένη έκφραση της BMP-3 στο σώμα του ουρητήρα και στα αθροιστικά σωληνάκια. Από την έναρξη της νεφρογένεσης μέχρι και την ολοκλήρωσή της, το συμπυκνωμένο μεσέγγυμα που περιβάλλει την κορυφή του ουρητήρα περιέχει αυξημένη έκφραση της BMP-7. Η έκφραση της BMP-2 είναι αυξημένη στην φάση πρό της δημιουργίας των νεφρικών σωληναρίων και συντηρείται και στο άπω άκρο των πρωίμων νεφρικών σωληναρίων. Αντίθετα η

BMP-7 έχει αυξημένη έκφραση τόσο στην φάση προ της συνάθροισης των νεφρικών σωληναρίων όσο και στα νεφρικά σωληνάκια. Οι BMP-7 και η BMP-2 υποεκφράζονται στο άπω τμήμα των νεφρικών σωληναρίων όταν έχει συμβεί η ωρίμανση των νεφρικών σωληναρίων και υπάρχει αυξημένη έκφραση της BMP-7 μόνο στο εγγύς τμήμα των νεφρικών σωληναρίων. Η BMP-3, η BMP-4 και η BMP-7 συνεκφράζονται στην κάψα του Bowman του αναπτυσσόμενου σπειράματος (34).

Οι BMPs εκφράζονται και σε κύτταρα που περιβάλλουν το επιθήλιο του αναπτυσσόμενου νεφρού ( στρωματικά κύτταρα). Αμέσως μετά την μετατροπή του ουρητηρικού ηθμού στο μετανεφρικό βλάστημα, ανευρίσκεται αυξημένη έκφραση της BMP-4 σε μεσεγχυματικά κύτταρα που γειτνιάζουν με τον ουρητήρα (34). Στις μεταγενέστερες φάσεις της νεφρογένεσης στα παραπάνω κύτταρα υπάρχει αυξημένη έκφραση της BMP-5, ενώ στα λεία στρωματικά κύτταρα που βρίσκονται σε κάποια απόσταση από τον ουρητήρα υπάρχει αυξημένη έκφραση της BMP-6 (34).

Από την στιγμή που οι BMPs είναι εκκρινόμενα μόρια, οι εκφράσεις τους που περιεγράψαν παραπάνω παρέχουν μόνο πληροφορίες για την πηγή του σήματος και όχι για τον απαντούμενο κυτταρικό πληθυσμό. Πάντως είναι ιδιαίτερα πιθανό ότι οι στόχοι των BMPs είναι τα κύτταρα που εκφράζονται αυτές καθώς και οι γειτονικοί τους μεσολαβητές. Ως υποστήριξη των παραπάνω, πειραματικά μοντέλα σε θηλαστικά έδειξαν περιορισμένη διάχυση των BMPs από την πηγή τους (35) και επιπλέον στους περισσότερους ιστούς εμφανίζονται ταυτόχρονα η έκφραση της BMP-7 mRNA και της BMP-7 πρωτεΐνης (36).

Στον αναπτυσσόμενο νεφρό, έχουν περιγραφεί πρότυπα έκφρασης μερικών τμημάτων της οδού επαγωγής των BMPs-σημάτων. Πιο συγκεκριμένα οι BMPs επάγουν το μορφογενετικό τους σήμα μέσω του σχηματισμού δυο ετερομερών συμπλεγμάτων, δύο υποδοχέων που είναι κινάσες σερίνης/θρεονίνης. Οι υποδοχείς τύπου II έχουν την ικανότητα να συνδέονται με τις BMPs αλλά απαιτούν και την παρουσία των υποδοχέων τύπου I για την δημιουργία του BMP-σήματος. Μέχρι σήμερα δύο BMP υποδοχείς τύπου II και ένας BMP υποδοχέας

τύπου I έχουν ανακαλυφθεί. Οι BMP1A υποδοχείς εκφράζεται την 12<sup>η</sup> ημέρα της νεφρογένεσης κυρίως στο μεσέγχυμα ενώ οι BMP1B υποδοχείς περιορίζονται στο επιθήλιο των αθροιστικών σωληναρίων (37). Μετά την 18<sup>η</sup> μέρα της νεφρογένεσης οι BMP1A υποδοχείς εκφράζονται στο σπείραμα και στα νεφρικά σωληάρια που εξορμώνται από το νεφρογενετικό μεσέγχυμα (38). Οι BMP1I υποδοχείς έχει δειχτεί ότι εκφράζονται στον νεφρό μετά την 16<sup>η</sup> μέρα της νεφρογένεσης κυρίως στα μεσεγχυματικά κύτταρα (39).

Η επαγωγή των BMP-σημάτων μέσω των BMP-υποδοχών προϋποθέτει την συμμετοχή των Smad πρωτεϊνών όπως αναφέρθηκε σε παραπάνω κεφάλαιο. Μέχρι σήμερα έχει περιγραφεί περιορισμένη έκφραση αυτών των πρωτεϊνών στον αναπτυσσόμενο νεφρό. Η Smad 1 και η Smad 2 εκφράζονται στο χρονικό διάστημα μεταξύ 13ης-17ης ημέρας της νεφρογένεσης στα αθροιστικά νεφρικά σωληάρια (40). Σχετικά πρόσφατα, βρέθηκε έκφραση και της Smad5 στον αναπτυσσόμενο νεφρό που είναι αυξημένη κυρίως την 12<sup>η</sup> ημέρα της νεφρογένεσης (40). Συνοψίζοντας τα παραπάνω δεδομένα, φαίνεται ότι τα περισσότερα κύτταρα του αναπτυσσόμενου νεφρού απαντούν στα BMP-σήματα. Θα πρέπει να τονιστεί ότι η ανάλυση των BMP-σημάτων στον νεφρό περιπλέκεται από τις πιθανές τους αλληλεπιδράσεις με ανταγωνιστές όπως τους noggin, follistatin και μέλη της οικογένειας DAN. Δεν έχει παρουσιαστεί μέχρι σήμερα αναλυτική περιγραφή της έκφρασης των BMP-ανταγωνιστών στον αναπτυσσόμενο νεφρό εκτός μίας μελέτης που έδειξε αυξημένη έκφραση της follistatin την 12<sup>η</sup> μέρα της νεφρογένεσης (41). Επιπλέον τα BMP-σήματα ρυθμίζονται από πρωτεϊνικούς υποδοχείς που είναι κινάσες τυροσίνης μέσω της οδού MAPK/ ERK. Μελέτες έχουν δείξει ότι τα επιθηλιακά και μεσεγχυματικά κύτταρα εκφράζουν τους παραπάνω υποδοχείς (42)

Ημέρα νεφρογένεσης	BMPs που εκφράζονται	Εντόπιση
11	BMP-7	Ουρητηρικός ηθμός
12	BMP-2,BMP-3,BMP-4,BMP-5, BMP-7	Ουρητήρας, περιβάλλον μεσέγγυμα
14	BMP-2,BMP-4, BMP-7	Ωριμα νεφρικά σωληνάρια
16	BMP-7	Νεφρικά σωληνάρια,ποδοκύτταρα σπειράματος

**Πιν.3: Χρονική σειρά έκφρασης των μελών της οικογένειας των BMP πρωτεϊνών από την έναρξη της νεφρογένεσης μέχρι τα τελικά στάδια του σχηματισμού νεφρικών σωληναρίων**

Παρόλη την ποικιλία των BMPs που εκφράζονται στον νεφρό, η BMP-7 φαίνεται να παίζει τον κύριο ρόλο στην διάρκεια της πρώιμης ανάπτυξης του μετανεφρικού νεφρού όπως θα εκτεθεί και παρακάτω.

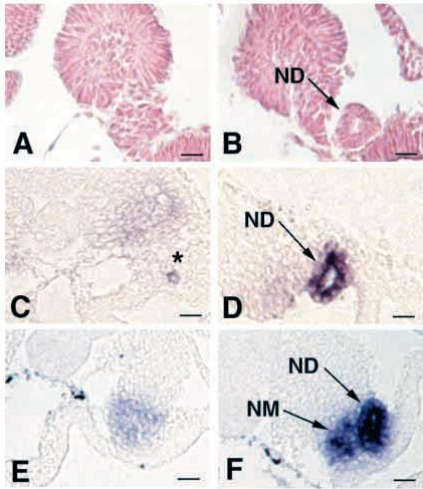
### **3.1.3 Ρόλος των BMPs στην ανάπτυξη της κλοάκης**

Με βάση αποτελέσματα μελετών (43) έχει επικρατήσει ένα συγκεκριμένο μοντέλο ερμηνείας του ρόλου των BMPs στην γένεση και ανάπτυξη του απεκκριτικού συστήματος. Μετά τα αρχικά στάδια της νεφρογένεσης, υπάρχουν

συντηρούμενα BMPs-σήματα που εξειδικεύουν την δράση τους στην κοιλιακή περιοχή του εμβρύου που μεταγένεστερα θα σχηματιστεί η κλοάκη και η κοιλιακή απόληξη της επέκτασης της ληκύθου. Ένας μάλιστα από τους πλέον βασικούς στόχους των BMPs- σημάτων είναι ο *hT* που δρά στα κοιλιακά μεσοδερμικά κύτταρα και είναι απαραίτητος για την μορφογένεση της κλοάκης. Τα κοιλιακά κύτταρα στο άκρο της απόληξης της ληκύθου υπόκεινται σε μια συμπλεγματική αναδιαμόρφωση που επιτρέπει στο πρωκτόδερμα να αλληλεπιδράσει με τις απολήξεις του εμβρυϊκού νεφρού μέσω BMPs-σημάτων που επιτρέπουν στα πρώιμα νεφρικά σωληνάκια να μεταναστεύσουν στην κοιλιακή περιοχή του εμβρύου. Μια παρόμοια μορφογένεση συμβαίνει τρεις μέρες αργότερα όταν ο έντερικός σωλήνας πηγαίνει να εγκατασταθεί στην εξωτερική επιφάνεια του εμβρύου.

#### **3.1.4 BMP-4 και μεσонеφρικός πόρος**

Έχει αποδειχθεί ότι μια συγκεκριμένη περιοχή του ενδιάμεσου μεσοδέρματος (44) δίνει την γένεση του μεσонеφρικού πόρου ενώ το επιφανειακό εκτόδερμα βοηθά στην διαφοροποίηση αυτού. Αφαίρεση του επιφανειακού εκτοδέρματος απέφερε ελάτωση των επιπέδων του *Sim-1* και της έκφρασης του *Pax-2* mRNA σε προγονικά κύτταρα του μεσонеφρικού πόρου προκαλώντας αναστολή του σχηματισμού του και της επακόλουθης νεφρογένεσης. Το επιφανειακό εκτόδερμα εκφράζει BMP-4 που είναι αναγκαίο για την διατήρηση υψηλών επιπέδων BMP-4 στο μεσόδερμα (44). Προσθήκη αποικιών BMP-4 σε έμβρυα με έλλειψη επιφανειακού εκτοδέρματος επαναφέρουν στο φυσιολογικό τα επίπεδα του *Sim-1* και της έκφρασης του *Pax-2* mRNA σε προγονικά κύτταρα του μεσонеφρικού πόρου και επομένως σχηματισμό του μεσонеφρικού πόρου και συνέχιση της νεφρογένεσης. Συνεπώς η BMP-4 μπορεί να υποκαταστήσει το επιφανειακό εκτόδερμα στην μορφογένεση του μεσонеφρού (εικ.5).



**Εικ.5 Η BMP-4 υποκαθιστά το επιφανειακό εκτόδερμα στην μορφογένεση του μεσонеφρού. Τομές που λήφθηκαν από έμβρυο 16 ημερών με αποικίες BSA (A,C,E) BMP-4(B,D,F) στο ενδιάμεσο μεσόδερμα μετά από αφαίρεση του επιφανειακού εκτοδέρματος την 10 η ημέρα .Οι τομές με αιματοξυλίνη-εοσίνη με με αποικίες BSA δείχνουν απουσία σχηματισμού μεσонеφρικού πόρου ενώ αντίθετα η παρουσία αποικιών BMP-4 δείχνουν σχηματισμό επιθηλιοποιημένου μεσонеφρικού πόρου**

### 3.1.5 Δράση της BMP-7 στο μετανεφρικό μεσέγχυμα

Από την στιγμή που η BMP-7 αρχικά εκφράζεται στον ουρητηρικό ηθμό και είναι ένα εκκρινόμενο σηματοδοτικό μόριο, έχει αποδειχτεί ότι η BMP-7 δρα επαγωγικά στο μετανεφρικό μεσέγχυμα (45). Πάντως ο έλεγχος της παραπάνω υπόθεσης έχει οδηγήσει σε αντιφατικά αποτελέσματα. Τα κριτήρια για να λειτουργήσει ένα μόριο σαν επαγωγικός παράγοντας του μετανεφρικού μεσεγγύματος έχουν ήδη περιγραφεί (45). Επιγραμματικά τα κριτήρια είναι: α) το μόριο πρέπει να εκφράζεται στην κορυφή του ουρητηρικού ηθμού, στην πηγή του επαγωγικού σήματος β) το μόριο πρέπει να επάγει την νεφρογένεση σε αδιαφοροποίητο μεσέγχυμα και γ) αναστολή της λειτουργίας του μορίου μπλοκάρει την επαγωγή της νεφρογένεσης . Από τα παραπάνω είναι σαφές ότι η BMP-7 εκφράζεται στο σωστό μέρος τον σωστό χρόνο ώστε να θεωρηθεί υποψήφιο επαγωγικό μόριο αν και αναστολή της λειτουργίας της BMP-7 μέσω

μετάλλαξης δεν φαίνεται να μπλοκάρει την επαγωγή της νεφρογένεσης (45). Από την άλλη πλευρά οι *Vukisevic* και συν (46) έδειξαν ότι αντιοροί ολιγονουκλεοτίδια που στρεφονται εναντίον των μεταγραφικών προϊόντων της BMP-7 και αντισώματα εναντίον της BMP-7 πρωτεΐνης αναστέλλουν την νεφρογένεση όταν ενεθούν σε κυτταρικές καλλιέργειες μετανεφρικού μεσεγχύματος

Αν και τα BMP-7- σήματα δεν θεωρούνται απαραίτητα για την επαγωγή της νεφρογένεσης είναι σημαντικό να διερευνήσουμε εάν τα BMP-7- σήματα μπορούν να έχουν μεσολαβητικό ρόλο σε μια επαγωγική απάντηση. Κι εδώ πάλι έχουν εμφανιστεί αντιφατικά δεδομένα. Οι *Vukisevic* και συν (46) έδειξαν ότι η ανασυνδυασμένη BMP-7 μπορεί να προάγει την έκφραση των γονιδίων που επάγουν το μεσονεφρικό μεσέγχυμα. Πάντως άλλες μελέτες δεν αναπαρήγαγαν παρόμοια αποτελέσματα (41,45). Ενώ δεν φαίνεται εφικτό να εξηγηθούν τα διαφορετικά αποτελέσματα των δύο παραπάνω μελετών μπορεί να δοθεί κάποια εξήγηση. Μετά από 54 ώρες συντήρησης κυτταρικών καλλιιεργειών στις οποίες χορηγείται BMP-7 στην μελέτη των *Vukisevic* και συν (46) εμφανίζονται «αδρές» λωρίδες κυτάρων που οι δείκτες επαγωγής του μετανεφρικού μεσεγχύματος όπως *Pax-2* και λαμινίνη 1-α παρουσιάζονται με αυξημένη έκφραση σε επίπεδα παρόμοια με αντίστοιχες κυτταρικές καλλιέργειες μεσεγχύματος από την σπονδυλική στήλη. Αντίθετα σε άλλες μελέτες (41,45) με παρόμοιο πρωτόκολλο έδειξαν σημαντικά υψηλότερη έκφραση των παραπάνω δεικτών επαγωγής του μετανεφρικού μεσεγχύματος. Αν και η γένεση των νεφρικών σωληναρίων είναι εμφανής στις παραπάνω μελέτες (41,45) , ο σχηματισμός νεφρικών σωληναρίων δεν φαίνεται να συμβαίνει στις κυτταρικές καλλιέργειες της μελέτης των *Vukisevic* και συν (46). Με βάση τα παραπάνω δεδομένα στη μελέτη των *Vukisevic* και συν (46) δεν παρατηρούντα επαγωγικά συμβάντα. Τότε γιατί οι δείκτες επαγωγής εκφράζονται στις κυτταρικές σειρές;

Μια πιθανή εξήγηση είναι ότι κάποιος αριθμός κυτάρων διατηρούν τους δείκτες επαγωγής με την παρουσία των BMP-7 σημάτων. Τέλος πρέπει να τονιστεί ότι σε μεμονωμένες κυτταρικές καλλιέργειες μεσεγχύματος νεφρού στην παρουσία



της BMP-7 έχουμε υψηλή έκφραση δεικτών επαγωγής του μετανεφρικού μεσεγχύματος δείχνοντας πιθανό ρόλο της BMP-7 στην συγκεκριμένη διαδικασία.

Παρόλη την ποικιλία των αποτελεσμάτων των παραπάνω μελετών τα παραπάνω δεδομένα δείχνουν ότι η BMP-7 προάγει την επιβίωση του-μη διαφοροποιημένου κυρίως- μετανεφρικού μεσεγχύματος το οποίο σε αντίθετη περίπτωση θα υφίστατο απόπτωση (κυτταρικό θάνατο) σε συνθήκες απουσίας χορήγησης εξωγενών παραγόντων. Πράγματι αυτό έχει αποδειχτεί πιο άμεσα χρησιμοποιώντας την φυσική χρωστική TOPRO-1 εξαγομένη από ζωντανά κύτταρα. Σε κυτταρικές καλλιέργειες τα κύτταρα που γεινιάζουν με αποικίες BMP-7 σεσημασμένων με την παραπάνω χρωστική ενώ τα μεσεγχυματικά κύτταρα σε απόσταση > 150μm δεν σημαίνονται με την παραπάνω χρωστική (41,47). Παρόμοια αποτελέσματα έχουν δείχτεί και για την BMP-2 (47).

Ο ρόλος της BMP-7 στην πρόληψη του κυτταρικού θανάτου είναι συμβατός με την παρατήρηση της παρουσίας αποπτωτικών κυτάρων στον περιφερικό κυτταρικό μεσεγχυματικό πληθυσμό νεφρών με απουσία της BMP-7 (46). Πρόσφατα δεδομένα (47) δείχνουν ότι η BMP-7 μόνη της ή δρώντας συγχρόνως με άλλους αυξητικούς παράγοντες (FGF-2, EGF) προάγει μεν την επιβίωση του μετανεφρικού μεσεγχύματος αλλά ταυτόχρονα αναστέλλει την διαφοροποίησή του, ενώ όταν BMP-7 χορηγείται σε νεφρικά παρασκευάσματα προκαλεί αναστρέψιμη αναστολή της νεφρογένεσης. Επίσης έχει παρατηρηθεί ότι όταν αποικίες BMP-7 εμβαπτιστούν σε παρασκευάσματα κυτταρικών καλλιεργειών νεφρικού μεσεγχύματος δεν λαμβάνει χώρα γένεση νεφρικών σωληναρίων ούτε έκφραση δεικτών επαγωγής του νεφρικού μεσεγχύματος των κυττάρων που γεινιάζουν με τις BMP-7 σε αντίθεση με κύτταρα που βρίσκονται σε απόσταση από αυτές όπου σε αυτά εμφανίζεται αυξημένη έκφραση των δεικτών επαγωγής (48). Συνεπώς η BMP-7 φαίνεται να εμποδίζει την απόπτωση του μετανεφρικού μεσεγχύματος αλλά ταυτόχρονα λειτουργεί ενεργητικά στο να αναστέλλει την κυτταρική τους διαφοροποίηση.

Το ερώτημα που γεννάται είναι πως οι παραπάνω λειτουργίες της BMP-7 ταιριάζουν με το πρόγραμμα της ανάπτυξης του νεφρού (νεφρογένεσης) . Μια

πιθανή εξήγηση είναι ότι μετά την επαγωγή τα μεσεγχυματικά κύτταρα είτε διαφοροποιούνται σε σωληνάκια είτε αποπίπτουν. In vitro, τα BMP-7 σήματα προάγουν την επιβίωση των νεφρικών μεσεγχυματικών κυττάρων μη δημιουργώντας τις αναγκαίες συνθήκες για την γένεση των νεφρικών σωληναρίων. Στις κυτταρικές καλλιέργειες με την πάροδο του χρόνου μειώνεται ο αριθμός των κυττάρων που απαντούν στην επαγωγή του μεσεγχύματος φτάνοντας στον ελάχιστο αριθμό μετά περίπου 48 ώρες. Επιπλέον τα BMP-7 σήματα εμποδίζουν την περαιτέρω κυτταρική διαφοροποίηση απαλλάσσοντας τα νεφρικά μεσεγχυματικά κύτταρα από το δίλημμα της απόφασης τους ανάμεσα στην γένεση νεφρικών σωληναρίων και τον κυτταρικό θάνατο. Αν και η BMP-7 παράγεται από τα νεφρικά μεσεγχυματικά κύτταρα δεν φαίνεται να δρά σαν αυτοκρινής παράγοντας.

Πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι τα BMP-7 σήματα σε συνέργεια με τον FGF-2 προάγουν την ανάπτυξη των προδρόμων στρωματικών κυττάρων που γεινιάζουν με το νεφρικό μεσεγγύμα (47). Από την στιγμή που η ανάπτυξη συμβαίνει ταυτόχρονα με τη αναστολή της γένεσης των νεφρικών σωληναρίων φαίνεται ότι υπάρχει σύνδεση μεταξύ των δύο γεγονότων. Συνεπώς η συνέργεια των δυο παραπάνω γεγονότων αναπτύσσει την σιβάδα των προδρόμων στρωματικών κυττάρων και ως αποτέλεσμα προκαλείται αναστολή της νεφρογένεσης στον φλοιό και ελάτωση της γένεσης των ουρητήρων. Τα παραπάνω αποτελέσματα δείχνουν ότι οι παραπάνω καταστάσεις κρατούν τα νεφρικά μεσεγχυματικά κύτταρα σε εν δυνάμει κατάσταση αρχηγόνων μεσεγχυματικών κυττάρων, συνεπώς ένας από τους ρόλους των στρωματικών κυττάρων είναι να συντηρεί έναν αδιαφοροποίητο κυτταρικό πληθυσμό στον νεφρικό φλοιό. Υπάρχει αυξανόμενος αριθμός ενδείξεων ότι η έκφραση της BMP-7 μπορεί να επηρεάζει ταυτόχρονα τα στρωματικά και τα νεφρικά μεσεγχυματικά κύτταρα (49)

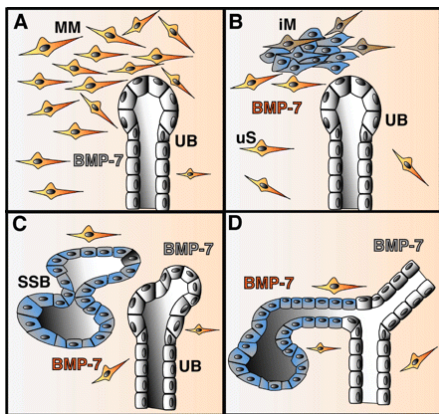
### **3.1.6 Οι BMPs στην επιθηλιακή μορφογένεση και διαφοροποίηση (μεταγενέστερα στάδια νεφρογένεσης)**

Μέχρι στιγμής επικεντρωθήκαμε στον ρόλο των BMPs στην συντήρηση και διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων στον αναπτυσσόμενο μετανεφρό. Καθώς ο νεφρός ωριμάζει, οι περισσότερες λειτουργικές μονάδες είναι επιθηλιακοί ιστοί προερχόμενοι από τον ουρητηρικό ηθμό ή από το μεσέγχυμα με επιθηλιακό μετασχηματισμό των κυττάρων που προέρχονται από το μετανεφρικό βλάστημα.

Όλοι οι επιθηλιακοί ιστοί του προ, του μεσο και του μετα νεφρού παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση της BMP-7 σε μικρό βαθμό κατά την διάρκεια της νεφρογένεσης (Εικ.6). Πάντως η απώλεια της δράσης της BMP-7 δεν οδηγεί αναγκαστικά σε αναστολή της επιθηλιακής μορφογένεσης στον μεσόνεφρο και μετανεφρό. Ανατομικά ελλείμματα του ουρητηρικού ηθμού παρατηρούνται σε νεφρούς με έλλειψη BMP-7 αν και πιστεύεται ότι αυτά τα ελλείμματα είναι αποτέλεσμα των αλλαγών του νεφρικού μεσεγχύματος, ενός κυτταρικού πληθυσμού που αλληλεπιδρά με το ουρητηρικό επιθήλιο. Εν τω μεταξύ διάφορες πειραματικές προσεγγίσεις όπου χρησιμοποιήθηκαν παρασκευάσματα νεφρικών μεσεγχυμάτων απέφεραν ουρητηρικούς ηθμούς με μη συμβατή μορφολογία με αυτή ενός φυσιολογικού νεφρού (47).

Η παραπάνω μελέτη φαίνεται να αποδεικνύει έναν πιθανό ρόλο των BMP-7 σημάτων στην μορφογένεση του ουρητηρικού ηθμού. Σε καλλιέργειες νεφρικών κυττάρων φάνηκε επίσης ένα δόσοεξαρτώμενο αποτέλεσμα της BMP-7 στην ανάπτυξη και στην ανατομική διαμόρφωση του ουρητηρικού ηθμού. Σε χαμηλές συγκεντρώσεις της BMP-7 (<0,5μM) υπάρχει μεγαλύτερου βαθμού ανάπτυξη του νεφρού και κυρίως του ουρητήρα ενώ σε υψηλότερες συγκεντρώσεις της υπάρχει ελάττωση των δύο αυτών παραμέτρων (50). Αντίθετα η BMP-2 έχει ανασταλτικά αποτελέσματα στην επιθηλιακή μορφογένεση. Είναι αξιοσημείωτο επίσης το γεγονός ότι η BMP-2 και η BMP-7 έχουν ξεχωριστούς, εν δυνάμει αντίθετους

ρόλους στην μορφογένεση των αναπτυσσομένων νεφρικών σωληναρίων. Αυτός ο εν δυνάμει ανταγωνισμός τους μπορεί να αποδεικνύεται ιδιαίτερα σημαντικός για τα αναπτυσσόμενα απω αθροιστικά σωληνάκια όπου από κοινού η BMP-2 και η BMP-7 ηπίως εκφράζονται ενώ αποτελεί αντικείμενο έρευνας κατά πόσο παρόμοιες αλληλεπιδράσεις αφορούν και άλλα μέλη της οικογένειας των BMPs.



**Εικ.6:** Σχηματική αναπαράσταση του ρόλου της BMP-7 στην νεφρογένεση (A) Ο ουρητηρικός ηθμός (UB) επάγει την ανάπτυξη του μετανεφρικού μεσεγγύματος (MM) (B) Το επαγόμενο μετανεφρικό μεσέγγυμα (iM) υπόκειται σε επιθηλιακή μορφογένεση (MET) Το μη επαγόμενο στρώμα (uS) παρέχει αυξητικούς παράγοντες όπως την BMP-7 που μεσολαβούν για την MET (C) Το επαγόμενο επιθήλιο σχηματίζει το S-σχήματος σώμα (SSB). Η BMP-7 επιδρά στην επιθηλιακή μορφογένεση και διαφοροποίηση (D) Το επιθήλιο που προέρχεται από το MM παίζει βασικό ρόλο στην γένεση των σπειραμάτων και της πλειονότητας των νεφρικών σωληναρίων

### 3.1.7 BMPs και γένεση ουρητήρα και αθροιστικού συστήματος νεφρού

Τα μοριακά σήματα που ρυθμίζουν την ανάπτυξη και τον σχηματισμό διακλαδώσεων του ουρητηρικού ηθμού, της επακόλουθης ουρητηρογένεσης και του σχηματισμού του νεφρικού αθροιστικού συστήματος δεν είναι επαρκώς καθορισμένα. Μέλη της οικογένειας των BMPs μέσω του BMP-υποδοχέα τύπου I αναστέλλουν με την δράση τους την μορφογένεση του ουρητηρικού ηθμού , του

ουρητήρα και του αθροιστικού συστήματος *in vitro*. Ειδικότερα έχει βρεθεί ότι νεφροί με απουσία του υποδοχέα τύπου I στην έναρξη της μορφογένεσης εμφανίζουν έναν μη φυσιολογικό ουρητηρικό ηθμό με αυξημένο αριθμό διακλαδώσεων. Ωστόσο, στα μεταγενέστερα στάδια της νεφρογένεσης, οι συγκεκριμένοι νεφροί εμφανίζουν ουρητηρικούς ηθμούς με λιγότερες διακλαδώσεις, σχηματισμός μικροτέρου αριθμού ουρητήρων και νεφρικών αθροιστικών συστημάτων σε σχέση με τους νεφρούς που έχουν τον BMP-υποδοχέα τύπου I. Στους νεφρούς με απουσία του BMP-υποδοχέα τύπου I υπάρχει ένας φαινότυπος νεφρικής δυσπλασίας που χαρακτηρίζεται από υποπλασία του νεφρικού μυελού, ελλειπτικό αριθμό μυελικών αθροιστικών σωληναρίων και ελλειπτική έκφραση της β-κατενίνης στα μυελικά σωληνάκια (51). Από τα παραπάνω είναι απολύτως φανερό η παρουσία του BMP-υποδοχέα τύπου I στην μορφογένεση ουρητηρικού ηθμού, ουρητήρων και αθροιστικών συστημάτων.

Στον εμβρυικό νεφρό, δύο στενά σχετιζόμενες BMPs εκφράζονται σε μη επικαλυπτόμενες περιοχές του μεσεγγύματος που περιβάλλει τον ουρητηρικό ηθμό αλλά ευρισκόμενες και γειτονικά του εμβρυικού κολοβώματος του ουρητήρα (52), όπου ο BMP 2/4 υποδοχέας εκφράζεται στον ουρητηρικό ηθμό και στο μεσέγγυμα (52). Εξωγενής χορήγηση BMP-2 ή BMP-4 στον εμβρυικό νεφρό αναστέλλει την μορφογένεση του ουρητηρικού ηθμού, του ουρητήρα και του αθροιστικού συστήματος *in vitro*, και η BMP-4 αναστέλλει την έκτοπη ύπαρξη του ουρητηριού ηθμού εκτός του Βολφανείου πόρου *in vivo*. Πάντως οι μηχανισμοί με τους οποίους οι BMP-υποδοχείς αναστέλλουν την μορφογένεση του ουρητηρικού ηθμού του ουρητήρα και του αθροιστικού συστήματος του νεφρού δεν είναι επαρκώς αποσαφηνισμένοι.

### **3.1.8 BMPs και γένεση νεφρικών σπειραμάτων(σπειραματογένεση)**

Οι BMPs εκτός από τον σπουδαίο ρόλο που έχουν στην νεφρογένεση φαίνεται ότι διαδραματίζουν κάποιο ρόλο και στην σπειραματογένεση. Πιο συγκεκριμένα,

έχει εξεταστεί ο ρόλος της BMP-4 στην σπειραματογένεση με γενετικά ανασυνδυασμένα ποντίκια (53) με εναλασσύμενη λειτουργία της BMP-4 σε σπειραματικά ποδοκύτταρα με την δημιουργία ιστο-ειδικότητας με τον υποκινητή της νεφρίνης (συστατικής πρωτεΐνης του σπειράματος). Στην διάρκεια της κύησης, τα συγκεκριμένα ποντίκια με έλλειψη της BMP-4 εμφάνιζαν σπειραματικά μικροανευρύσματα, σπειραματικά τριχοειδικά τοιχώματα σε σύμπτωση, διογκωμένες κάψες Bowman και μειωμένος αριθμός νεφικών εγγύς σωληναρίων. Αντίστοιχα ποντίκια με αυξημένη BMP-4 στα ποδοκύτταρα εμφάνιζαν ελλείμματα ανάπτυξης του σπειραματικού τριχοειδικού τοιχώματος χωρίς όμως προσβολή των ποδοκυττάρων (53). Πάντως σε *in vitro* μελέτες (54) δεν απεδείχθη ρόλος της BMP-4 επί των ποδοκυττάρων στη σπειραματογένεση. Αντίθετα, με ανοσοιστοχημεία (53) ανευρέθησαν οι Smad πρωτεΐνες, οι φωσφορυλιωμένοι μεσολαβητές των BMP-σημάτων είναι παρόντες στα ενδοθηλιακά κύτταρα ή/και στα μεσαγγειακά κύτταρα αλλά όχι και στα ποδοκύτταρα του αναπτυσσόμενου σπειράματος. Από τα παραπάνω φαίνεται ότι η BMP των ποδοκυττάρων δρά στην σπειραματογένεση μέσω μη ποδοκυτταρικών σπειραματικών κυτάρων με παρακρινικό τρόπο.

Τέλος, δημιουργήθηκαν γενετικά ανασυνδυασμένα ποντίκια με υψηλή έκφραση της ποδοκυτταρο –ειδικής *hoggin* που είναι αναστολέας της BMP-2, BMP-4 και της BMP-7 (54). Η ιστολογική ανάλυση στα παραπάνω ποντίκια ηλικίας 2 και 10 μηνών έδειξε ότι ανέπτυξαν αύξηση του μεσαγγείου και κάποια από αυτά είχαν συρρίκνωση των σπειραμάτων ή ανάπτυξη σπειραματικών κύστεων (54).

## 3.2 Εντόπιση-δραστικότητα των BMPs στον νεφρό

Στον νεφρό του ενήλικου έχουν βρεθεί πολλές BMPs σε ελάχιστα ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις (BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-6) αλλά και η BMP-7 που βρίσκεται στον νεφρό σε μεγάλες συγκεντρώσεις. Πιο συγκεκριμένα, η BMP-7 (OP-1) εκφράζεται κυρίως στο εγγύς σωληνάριο, στα μυελικά αθροιστικά σωληνάρια αλλά και στα σπειράματα, στο ουροθήλιο της νεφρικής πυέλου και στις νεφρικές αρτηρίες όπως θα αναλυθεί παρακάτω (55). Αξίζει να σημειωθεί ότι ο φυσιολογικός ρόλος των BMPs στον νεφρό δεν είναι σαφής δημιουργώντας ένα γόνιμο πεδίο ενδιαφέροντος. Πιθανές λειτουργίες τους είναι η ρύθμιση της επιθηλιακής διαφοροποίησης, της ενδοθηλιακής λειτουργίας και της ομοίωσης του οστού, λειτουργίες που πιθανόν επιτυγχάνονται με την διατήρηση σταθερών επιπέδων BMP-7 στον νεφρό (55).

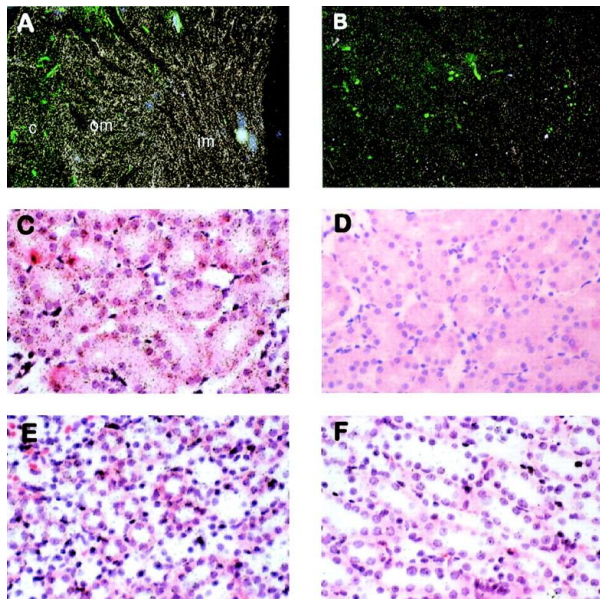
### 3.2.1 BMP-7 στο εγγύς σωληνάριο

Με ιστικές απεικονιστικές μελέτες, με *in situ* υβριδισμό και ανοσοφθορισμό με χρήση πολυκλωνικού αντισώματος έναντι τοπικά εδραζομένου υποδοχέα ανευρέθηκε υψηλή έκφραση της BMP-7 στο εγγύς σωληνάριο - κυρίως στο επιθήλιο του εγγύς εσπειραμένου σωληναρίου - αλλά και στο επιθήλιο των μυελικών αθροιστικών σωληναρίων που μάλιστα θεωρείται ότι είναι και η βασικότερη πηγή παραγωγής της BMP-7 στον νεφρό (56). Από τα παραπάνω μπορεί να υποτεθεί παρακρινικός και αυτοκρινικός ρόλος της BMP-7 στον νεφρό.

Είναι ιδιαίτερος σημαντικό να αναφερθεί ότι με ιστικές απεικονιστικές μελέτες παρατηρείται αυξημένη καθήλωση της ραδιοσημασμένης BMP-7 -που χορηγείται ενδοφλεβίως- στο S3 τμήμα του εγγύς σωληναρίου (56). Επιπλέον, με την βοήθεια του *in situ* υβριδισμού έχει δείχτεί ότι τα κύτταρα του επιθηλίου του S3 τμήματος του εγγύς σωληναρίου συνθέτουν BMP-7 mRNA. Μάλιστα, στα πλαίσια ισχαιμικής οξείας νεφρικής ανεπάρκειας που προκαλεί ισχαιμία του S3 τμήματος του εγγύς σωληναρίου, εξωγενώς χορηγηθείσα BMP-7 συνδέεται

με κυτταρικούς υποδοχείς στην συγκεκριμένη περιοχή και την προστατεύει από νέκρωση και εκτεταμένη της καταστροφή (56).

Οι μελέτες με οπτικό μικροσκόπιο (56) νεφρικών παρασκευασμάτων μετά από *in situ* υβριδισμό με BMP-7 αντιορό RNA δείχνουν μέτρια έκφραση της BMP-7 που παρουσιάζονται σαν ασημένια στρώματα στον φλοιό του νεφρού (Εικ.7 Α). Αντίθετα, στον μυελό του νεφρού βλέπουμε ισχυρότερη έκφραση της BMP-7 με την υψηλότερη έκφραση να παρουσιάζεται στον εξωτερικό μυελό (om). Ο φλοιϊκός σωληναριοδιάμεσος ιστός έχει ελλειπτική έκφραση της BMP-7 όπως φαίνεται από *in situ* υβριδισμό (Εικ.7) ενώ αξίζει να σημειωθεί ότι έχουμε έκφραση της BMP-7 στα νεφρικά σωληνάκια του έσω μυελού λιγότερο ισχυρή πάντως σε σχέση με τον έξω μυελό (Εικ.7 Ε).



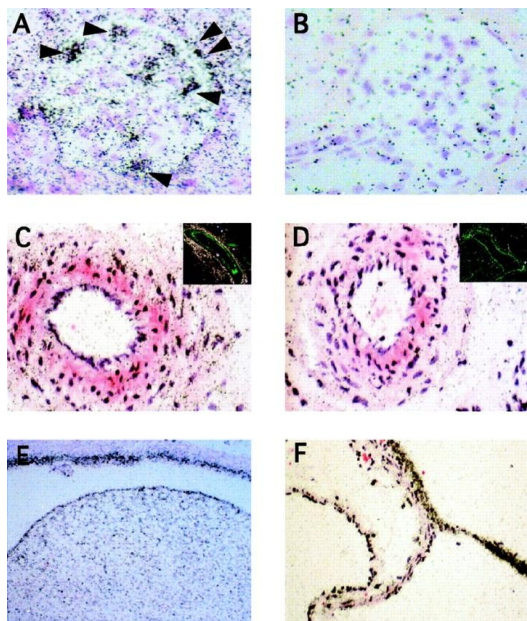
**Εικ.7:** Α και Β: ο μυελός του νεφρού σε μικρή μεγέθυνση (x 40, πράσινο φίλτρο) Σήμα υβριδισμού με χρήση BMP-7 αντιορού που φαίνεται ένα έντονα φωτεινό ασημένιο στρώμα σε όλο τον μύελό και κυρίως στον έξω μυελό. Στον σωληναριοδιάμεσο χώρο ανευρίσκεται ελλειπτική έκφραση της BMP-7 (c). Αυξημένη δε έκφραση της BMP-7 υπάρχει και στον έσω μυελό. C-D: Σήμα υβριδισμού με χρήση BMP-7 αντιορού όπου φαίνονται σαν μαύρα στίγματα στα επιθηλιακά κύτταρα των νεφρικών σωληναρίων του έξω μυελού E-F: σήμα



**υβριδισμού με χρήση BMP-7 αντιορού που δείχνει αυξημένη –αλλά λιγότερο έντονη σε σχέση με τα σωληνάρια του έξω μυελού- στα νεφρικά σωληνάρια του έσω μυελού.**

Στο σπείραμα υπάρχει υψηλή έκφραση της BMP-7 όπως φαίνεται σε σήματα υβριδισμού και πιο συγκεκριμένα στα σπειραματικά επιθηλιακά κύτταρα όπως επίσης και σε μερικά επιθηλιακά κύτταρα της κάψας του Bowman. Υπάρχει διάχυτη αλλά έντονη έκφραση της BMP-7 και στον σωληναριοδιάμεσο ιστό που περιβάλλει το σπείραμα (Εικ.8).

Υψηλή έκφραση της BMP-7 συναντάται και γύρω από τις νεφρικές αρτηρίες. Με υψηλότερη μεγέθυνση μπορεί να δείχτει ότι η πιο υψηλή έκφραση της BMP-7 συναντάται γύρω από το στέλεχος της νεφρικής αρτηρίας. Το επιθηλιακό κυτταρικό στρώμα της νεφρικής πυέλου και του ουρητήρα είναι τόπος υψηλής έκφρασης της BMP-7 ενώ πρέπει να σημειωθεί ότι το μυικό τοίχωμα της νεφρικής πυέλου και του ουρητήρα δεν εμφανίζουν καμία έκφραση της BMP-7.



*Εικ.8: A-B :Υβριδισμός με χρήση BMP-7 αντιορού δείχνει υψηλή έκφραση της BMP-7 κυρίως στα σπειραματικά επιθηλιακά κύτταρα (βέλη) όπως επίσης και σε επιθηλιακά κύτταρα της κάψας του Bowman (διπλά βέλη, ψηλά δεξιά) C-D: Υβριδισμός με χρήση BMP-7 αντιορού δείχνει υψηλή έκφραση της BMP-7 στις νεφρικές αρτηρίες και κυρίως στο στέλεχος τους ενώ το μυικό τοίχωμα και τα ενδοθηλιακά κύτταρα των αρτηριών δεν εμφανίζουν καμία έκφραση της BMP-7 E-F: Το επιθηλιακό κυτταρικό στρώμα της νεφρικής πυέλου και του ουρητήρα εμφανίζει υψηλή έκφραση της BMP-7 ενώ το μυικό τοίχωμα της νεφρικής πυέλου και του ουρητήρα δεν εμφανίζουν καμία έκφραση της BMP-7 Μεγεθύνσεις : A-F: χ 360 C,D: χ90 πράσινο φίλτρο.*

### **3.2.2: Βιολογική δραστηριότητα της ενδογενούς BMP(BMP-7) του νεφρού.**

Ενώ η έκφραση της BMP-7 είναι υψηλή στον υγιή νεφρό, τα επίπεδα έκφρασης της BMP-7 ελλοτώνονται ταχέως στην οξεία νεφρική ανεπάρκεια (βλάβη) και επανέρχονται στα φυσιολογικά επίπεδα όταν ο νεφρός επανακάμπτει από την οξεία βλάβη (55,56). Βάση των παραπάνω η έκφραση της BMP-7 είναι αυτή που καθορίζει την βιολογική δραστηριότητα της BMP-7 (56). Πάντως οι ρυθμιστικοί μηχανισμοί που εμπλέκονται στην βιολογική δραστηριότητα της BMP-7 είναι πολύ περισσότερο πολύπλοκοι : ενώ η έκφραση της BMP-7 είναι υψηλή στον υγιή νεφρό, οι χρώσεις του πυρήνα για την φωσφορυλιωμένη Smad1 (που είναι ο βασικός δείκτης ενεργότητας της BMP-7) είναι χαμηλής έντασης για τα επιθηλιακά εγγύς σωληναριακά κύτταρα (56). Επιπροσθέτως, στην χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (ΧΝΑ) τα επίπεδα έκφρασης της BMP-7 δεν συσχετίζονται με την πρόοδο της ΧΝΑ ( μπορεί να είναι ελλοτωμένα, φυσιολογικά και αυξημένα) όπως συμβαίνει στην οξεία νεφρική βλάβη, γεγονός που δείχνει ότι η έκφραση της BMP-7 δεν είναι η μοναδική υπεύθυνος για την ρύθμιση της βιολογικής δραστηριότητας της BMP-7 στον νεφρό.

Η βιολογική δραστικότητα της BMP-7 ελέγχεται σε διάφορα επίπεδα στον νεφρό . Εκκρίνεται σαν σύμπλεγμα ως ομοδιμερές αποτελούμενο από δύο κύριες προ-προ πεπτιδικές αλυσίδες που συνδεόμενη με την fibrillin-1 αποθηκεύεται στον νεφρό (56). Λίγα πράγματα είναι γνωστά για το πώς αποδομείται η προ-BMP-7 προς σχηματισμό της ώριμης BMP-7. Έχουν βρεθεί διάφορα μόρια που συνδέονται με την ώριμη BMP-7 που είναι θετικοί ή αρνητικοί ρυθμιστές της βιολογική δραστικότητας της BMP-7 (57). Οι BMP ανταγωνιστές ( Noggin, Chordin κ.λ.π) δρούν μέσω άμεσης σύνδεσής τους με τις BMPs εμποδίζοντας τις να συνδεθούν με τους υποδοχείς τους (57). Μια πρόσφατη δε μελέτη έδειξε ότι η USAG-1 ( γονίδιο σχετιζόμενο με την νευρική αγωγιμότητα του ουροποιογεννητικού συστήματος-1) λειτουργεί σαν εξειδικευμένος ρυθμιστής της βιολογικής δραστικότητας της BMP-7 στον νεφρό (58). Σε αντίθεση με τους παραπάνω αρνητικούς ρυθμιστές της βιολογικής δραστικότητας της BMP-7 στον νεφρό έχει ανακαλυφθεί η Kielin/ Chordin πρωτεΐνη που είναι μια εξωκυτάρια πρωτεΐνη που προάγει την βιολογική δραστικότητα της BMP-7 ενισχύοντας την σύνδεσή της με τους υποδοχείς της (59).

### 3.3 BMPs ΚΑΙ ΟΞΕΙΑ ΝΕΦΡΙΚΗ ΑΝΕΠΑΡΚΕΙΑ

#### 3.3.1: Εισαγωγή

Η οξεία νεφρική ανεπάρκεια (βλάβη) είναι αποτέλεσμα αιφνιδίου ελάτωσης της νεφρικής αιματικής ροής, τοξικής, αποφρακτικής προσβολής του νεφρικού σωληναρίου, φλεγμονής ή και απώλειας της αγγειακής ευενδετότητας του σωληναριοδιαμέσου ιστού ή τέλος μιάς ταχείας ελάτωσης του ρυθμού σπειραματικής διήθησης (60).

Η έναρξη της ισχαιμικής προσβολής στην οξεία νεφρική ανεπάρκεια (ONA) συμβαίνει με υποαιμάτωση και μεγάλου βαθμού ελάτωση της νεφρικής αιματικής ροής (RBF) που οδηγούν σε οξεία σωληναριακή νέκρωση κυρίως στο S3 τμήμα των εγγύς σωληναρίων (61,62). Επιπλέον η ποσοτικοποίηση της απώλειας της νεφρικής λειτουργίας γίνεται με την χρήση βιοχημικών δεικτών ορού και ούρων (ουρία, κρεατινίνη, ηλεκτρολύτες, οξεοβασική ισορροπία), η ισχαιμία ακολουθείται από την επαναιμάτωση χαρακτηρίζεται από έναν αριθμό μορφολογικών μεταβολών που διαφοροποιούνται ανάλογα με την φύση και την σοβαρότητα της προσβολής (63,64). Αυτές περιλαμβάνουν τις εξής: απώλεια του επιθηλίου της ψηκτροειδούς παρυφής των εγγύς σωληναρίων, απώλεια της πολικότητας, της επαφής κύτταρο με κύτταρο, κύτταρο με εξωκυττάρια ουσία γεγονότα που οδηγούν σε κυτταρικό θάνατο ως αποτέλεσμα νέκρωσης και απόπτωσης (65).

Εκτός από άλλες παθοφυσιολογικές μεταβολές, στην ισχαιμική προσβολή του νεφρού στην ONA υπάρχει φλεγμονώδης και κυτταροτοξική βλάβη που ενεργοποιείται στην επαναιμάτωση (65). Η αυξημένη παραγωγή προφλεγμονωδών κυτταροκινών (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8 κ.λ.π) και η αυξημένη έκφραση και παραγωγή μορίων κυτταρικής πρόσφυσης (ενδοκυττάριο μόριο πρόσφυσης ICAM-1) ωθούν τα ουδετερόφιλα να προσφυσθούν και να συναθροιστούν στα αγγεία του έξω μυελού προκαλώντας collapsing και συμφόρηση των τριχοειδών (66,67). Επιπλέον η ισχαιμική προσβολή επηρεάζει

την αγγειακή ευενδετότητα μέσω πρόκλησης διαταραχής της αγγειακής διαπερατότητας, σύμπτυξης και συμφόρησης των περισωληναριακών τριχοειδών, κενοτοπιώδους εκφύλισης των λείων μυικών κυττάρων (ΛΜΚ) οδηγώντας σε αύξηση των νεφρικών αγγειακών αντιστάσεων και ελάττωσης της νεφρικής αιματικής ροής (RBF).

Ο νεφρός με ONA μετά την ισχαιμία και επαναιμάτωση έχει την δυνατότητα να επαναφέρει πλήρως την δομή και λειτουργία του. Η επαναφορά από την ισχαιμική προσβολή προϋποθέτει ότι τα προσβεβλημένα νεφρικά σωληναριακά κύτταρα επανακτούν την πολικότητά τους, επανεγκαθιστούν την επαφή κύτταρο με κύτταρο, κύτταρο με εξωκυττάρια ουσία μέσω κυτταρικής μετανάστευσης, υπερπλασίας και διαφοροποίησης αναπαράγοντας την νεφρική οντότητα (66,67). Μια ποικιλία αυτοκρινικών και παρακρινικών πεπτιδικών αυξητικών παραγόντων (TGF- $\alpha$ , TGF- $\beta$ , EGF, HB-EGF, IGF-1) έχει δειχτεί ότι συμμετέχουν στην κυτταρική μετανάστευση, διαφοροποίηση και υπερπλασία και στην αναγέννηση του επιθηλίου των νεφρικών σωληναρίων μετά την ισχαιμική προσβολή και επαναιμάτωση (68,69).

Τα παραπάνω φαίνεται να ισχύουν για τις BMPs και ως επί το πλείστον για την BMP-7 (OP-1). Έχει δειχτεί ότι σε πειραματικά μοντέλα ποντίκια που φέρουν μετάλλαξη έλλειψης της BMP-7 πεθαίνουν από νεφρική ανεπάρκεια μέσα σε 1-2 ημέρες (70). Φαίνεται δε ότι η υψηλή έκφραση της BMP-7 στον νεφρό όπως επίσης και η παρουσία της στην νεφρική κυκλοφορία της (1000-1300 pg/ml) προσδίδουν πιθανό ρόλο – με διάφορους μηχανισμούς- στην διόρθωση της οξείας νεφρικής βλάβης όπως θα προσπαθήσουμε να δείξουμε παρακάτω.

### **3.3.2 Επίδραση της BMP-7 στην βιοχημεία και ιστολογία του νεφρού στην ONA**

Ο νεφρός στην ONA έχει την ικανότητα διόρθωσης και επαναφοράς στην πρότερη φυσιολογική κατάσταση χρησιμοποιώντας μοριακούς και κυτταρικούς μηχανισμούς της νεφρογένεσης (69). Συνεπώς η BMP-7 ως μορφογενετική πρωτεΐνη που συμμετέχει στην επαγωγή του μετανεφρικού μεσεγχύματος ,

μπορεί να επηρεάζει την μετανάστευση, υπερπλασία και διαφοροποίηση των επιθηλιακών σωληναριακών κυττάρων μετά τη ισχαιμία/επαναιμάτωση στην ONA. Έχει μάλιστα δειχτεί ότι συστηματική χορήγηση ανθρωπίνου ανασυνδυασμένης BMP-7/OP-1 σε αποτελεσματική δόση (250μg/kg) προστατεύει την δομή και λειτουργία του νεφρού, βελτιώνοντας την νεφρική λειτουργία όταν χορηγείται 1 και 16 ώρες (71) μετά την επαναιμάτωση όπως φαίνεται με την μέτρηση βιοχημικών δεικτών και ηλεκτρολυτών ορού όπως φαίνεται στον παρακάτω πίνακα (πιν.4) :

<i>Ημέρα</i>	<i>Ca</i>	<i>Ca</i>	<i>Urea</i>	<i>Urea</i>	<i>Crea</i>	<i>Crea</i>	<i>Na</i>	<i>Na</i>	<i>K</i>	<i>K</i>
	<i>Φ</i>	<i>OP-1</i>	<i>Φ</i>	<i>OP-1</i>	<i>Φ</i>	<i>OP-1</i>	<i>Φ</i>	<i>OP-1</i>	<i>Φ</i>	<i>OP-1</i>
0	9,3±1,1	9,1±1,1	97±1,5	91±1,2	3,3±1,2	3,1±1,1	14	139	5	4,5
1	9,2±1,2	9,2±1,2	93±1,2	90±1,2	3,5±1,2	3,4±1,1	14	138	5	4,8
2	9,4±0,6	9,1±1,1	90±1,2	90±1,2	3,6±1,5	3,3±1,1	14	139	5	-
3	9,4±0,6	9,0±0,9	89±1,2	87±1,2	3,3±1,4	3,4±1,1	14	138	4	4,1
4	9,3±0,5	9,0±0,8	90±1,2	86±1,2	3,3±1,4	3,1±1,1	14	139	4	3,8

**Πιν.4 :Επίδραση της OP-1 σε ουρία, κρεατινίνη και ηλεκτρολύτες ορού (mEq/liter) σε πειραματόζωα με ισχαιμική ONA (Φ:φορέας) (71)**

Τα πειραματόζωα υπέστησαν αμφοτερόπλευρη απόφραξη της νεφρικής αρτηρίας επί 60 λεπτά και στην συνέχεια κάποια από αυτά αφέθησαν να επανακάμψουν μόνα τους (φορείς) ενώ σε κάποια χορηγήθηκε ανθρώπινη ανασυνδυασμένη OP-1 (BMP-7) σε δόση 250 μg/kg βάρους σώματος.10 λεπτά,24,48,72 ώρες μετά την έναρξη της ισχαιμίας .Οι τιμές είναι μέσες τιμές ±SD P<0,001.

Βάση μελετών(72) σε νεφρούς με ONA η χορηγούμενη ραδιοσημασμένη BMP-7 –είτε χαμηλής είτε υψηλής χημικής συγγενείας- καθλώνεται στον φλοιό αλλά και στον μυελό του νεφρού. Πιο συγκεκριμένα έχει δείχτει με ιστολογικές απεικονίσεις ότι η BMP-7 καθλώνεται στο μεταβατικό επιθήλιο τωνσπειραμάτων και στο επιθήλιο των εγγύς σωληναρίων.

Η BMP-7 συνδέεται με κυτταρικές μεμβράνες του φλοιού και του μυελού (72) με τον φλοιό να έχει περισσότερες θέσεις σύνδεσης της ραδιοσημασμένης (125-I BMP-7) σε σχέση με τον μυελό. Η παρουσία BMP υποδοχέων τύπου I και κάποιου BMP υποδοχέα τύπου II στις κυτταρικές μεμβράνες του φλοιού και του μυελού πιστοποιεί την δυνατότητα (ειδικότητα) σύνδεσης τους στον νεφρό.

Σε τυπικά πειραματικά μοντέλα ισχαιμικής ONA ,τα επίπεδα ουρίας και κρεατινίνης μπορούν να αυξηθούν ακόμη και 8-10 φορές πάνω από τις φυσιολογικές τιμές 24 ώρες μετά την επαναιμάτωση. Η ενδοφλέβια χορήγηση BMP-7 μείωσε δραματικά τα ποσοστά θνητότητας(71) και ανέκοψε την άνοδο των επιπέδων της ουρίας, κρεατινίνης και καλίου σε σχέση με τα αντίστοιχα των πειραματοζώων –φορέων (πιν.4). Η χορηγούμενη δόση της BMP-7 που έδρασε αποτελεσματικά στον νεφρό με ONA φαίνεται να ποικίλλει ανάλογα με την ηλικία του πειραματοζώου, τον βαθμό σοβαρότητας της ισχαιμίας και επαναιμάτωσης σ'ένα εύρος 50-250μg/kg. Ο GFR (ρυθμός σπειραματικής διήθησης) υπολογιζόμενος 24 ώρες μετά την επαναιμάτωση ήταν στα πειραματοζώα με χορηγούμενη BMP-7  $47\pm 8$  ενώ στα πειραματοζώα-φορείς ήταν σημαντικά ελλωμένη  $25\pm 11$  ( $P<0,005$ ). Τα παραπάνω δείχνουν ότι η BMP-7 προστατεύει τους νεφρούς από την απώλεια της νεφρικής λειτουργίας στην ισχαιμική προσβολή της ONA όπως αυτό αντικατοπτρίζεται από τις τιμές ορού των βιοχημικών δεικτών.

Η ιστολογική ανάλυση νεφρικών παρασκευασμάτων σε πειραματοζώα με ONA έδειξε μορφολογικές μεταβολές στο S3 τμήμα του εγγύς σωληναρίου. . Στις 2 ώρες μετάτην επαναιμάτωση σε νεφρούς πειραματοζώων φορέων υπήρξαν σημεία συμφόρησης που οδήγησαν σε εμφάνιση μεγάλων περιοχών παρεγχυματικών εμφράκτων και νεκρώσεων στις 24,72 και 120 ώρες μετά την

επαναιμάτωση. Στα πειραματόζωα που χορηγήθηκε BMP-7 πρό της ισχαιμίας αναπτύχθηκε λίγη έως ελάχιστη αγγειακή συμφόρηση και λιγότερα έμφρακτα .

Οι ιστομορφομετρικές αναλύσεις των παραπάνω έδειξαν (72) ότι το 6 και 11% της επιφανείας των νεφρικών παρασκευασμάτων στα πειραματόζωα-φορείς και στο 0,3 και 0% στα πειραματόζωα με χορηγούμενη BMP-7 είχαν παρεγχυματικά ή αγγειακά έμφρακτα αντίστοιχα. Στην περιοχή του νεφρού που δεν εμφανίστηκαν έμφρακτα ή νέκρωση, περίπου 50% των νεφρικών σωληναρίων ήταν διατεταμένα είτε στα πειραματόζωα-φορείς ,είτε στα πειραματόζωα με χορηγούμενη BMP-7 (71,72). Οι Villanueva και συν. (73) έχουν καταγράψει την χρονική ακολουθία μεταβολής της έκφρασης της BMP-7, του Noggin, του Smad και p-Smad πρωτεϊνών δίνοντας μια παραστατική εικόνα της ανοσοκαθήλωσης ,της χρονικής ακολουθίας και της εντόπισης της BMP-7 στην ONA όπως φαίνεται παρακάτω

Η ανάλυση των λείων μυικών κυττάρων των περισωληναριακών τριχοειδών (71,72) έδειξε ότι ο πενταπλάσιος αριθμός λείων μυικών κυττάρων στα BMP-7 πειραματόζωα είχε έκφραση α-ακτίνης και IgG-μυοσίνης σε σχέση με τα πειραματόζωα-φορείς γεγονός που δείχνει την υποστηρικτική δράση της BMP-7 στις λείες μυικές ίνες των αγγείων στην ONA. Η κυτταρική υπερπλασία προσδιοριζόμενη με χρώση PCNA έδειξε αυξημένη ανάπτυξη των κυττάρων του εγγύς σωληναρίου στον φλοιό και στον έξω μυελό στα BMP-7 πειραματόζωα (71). Αξίζει να σημειωθεί ότι η χορήγηση BMP-7 μία ώρα μετά την επαναιμάτωση είχε προστατευτική δράση στην ιστολογία του νεφρού με ONA ενώ η χορήγηση 16 ώρες μετά την επαναιμάτωση επέφερε παρόμοιες δομικές και λειτουργικές βλάβες με αυτές των πειραματοζώων φορέων στις 24 ώρες μετά την επαναιμάτωση (71,72).

Καθώς έχει βρεθεί ότι η ICAM-1 διαδραματίζει σημαντικό ρόλο στην ONA έχει καθοριστεί η επίδραση της BMP-7 στην έκφραση της ICAM-1 σε διάφορα χρονικά σημεία μετά την ισχαιμία- επαναιμάτωση (68,69) Η χορήγηση BMP-7 10 λεπτά πρό στο S3 τμήμα του εγγύς σωληναρίου σε αντίθεση με τα BMP-7 πειραματόζωα όπου έχουμε σημαντική μείωση του αριθμού των ουδετεροφίλων



Όσο αφορά την κυτταρική απόπτωση , την 1<sup>η</sup> και 2<sup>η</sup> μέρα μετά την ισχαιμία δεν φαίνεται να υπάρχουν διαφορές στον αριθμό των αποπτωτικών κυττάρων μεταξύ των πειραματοζώων φορέων και των BMP-7 πειραματοζώων (70,71) ενώ την 5<sup>η</sup> μέρα έχουμε ελάτωση του αριθμού των αποπτωτικών κυττάρων στα BMP-7 πειραματοζώα, η δε BMP-7 προξένησε σημαντική ελάτωση του αριθμού των αποπτωτικών κυττάρων που εδράζονται στις βασικές μεμβράνες των φλοιικών και μυελικών σωληναρίων ενώ αντίθετα παρατηρείται συγκέντρωση μεγάλου αριθμού αποπτωτικών κυττάρων στον αυλό των νεφρικών σωληναρίων στα πειραματοζώα φορείς.

Τέλος, έχει εξεταστεί η έκφραση αυξητικών παραγόντων (BMP-7, TGF- $\beta$ , EGF, IGF-1) στην περίοδο μεταξύ 30 λεπτών μέχρι 5 ημέρες μετά την έναρξη της ONA. Ειδικότερα από τις 24 ώρες και έπειτα υπάρχει ελάτωση της BMP-7 σε όλα τα πειραματοζώα. Η BMP-7 εντοπίστηκε (70,71) κυρίως στο επιθήλιο των μυελικών αθροιστικών σωληναρίων ενώ υπάρχει σε ελάχιστη συγκέντρωση στον φλοιό. Στις 2 ώρες μετά την ισχαιμία η BMP-7 ανευρίσκεται στα σπειράματα και στα εσπειραμένα σωληνάκια του φλοιού στα πειραματοζώα-φορείς όπως επίσης και στα BMP-7 πειραματοζώα.

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 10 pt, Έντονα

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Επικεφαλίδα 3

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: +Επικεφαλίδες, 11 pt, Όχι Πλάγια, Ελληνικά (Ελλάδας)

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: +Επικεφαλίδες, 11 pt, Όχι Πλάγια, Ελληνικά (Ελλάδας)

### 3.3.3:-Επίδραση της BMP-7 στις προφλεγμονώδεις κυτοκίνες, αγγειοδραστικές ουσίες και χυμοκίνες στην ONA.

Εισαγωγή

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω η **φύση** συχνή αιτία της οξείας νεφρικής βλάβης είναι η ισχαιμία στην οποία τα εγγύς σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα (ΕΣΕΚ) διαδραματίζουν πρωταγωνιστικό ρόλο αφού αποτελούν την κύρια θέση της νέκρωσης που σχετίζεται με την ισχαιμία, ο δε βαθμός της σωληναριοδιαμέσου βλάβης που προκαλείται θεωρείται καλύτερος δείκτης έκβασης της νεφρικής λειτουργίας ακόμη και από αυτή την έκταση της σπειραματικής βλάβης που συμβαίνει στην χρόνια νεφρική ανεπάρκεια . Τα σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα (ΣΕΚ) στην ONA παράγουν έναν αριθμό προφλεγμονωδών κυτοκινών όπως τον παράγοντα νέκρωσης όγκων-α (TNF-α) και την ιντερλευκίνη-6 (IL-6), χυμοκίνες όπως η μονοκυτταρική χημειοτακτική πρωτεΐνη-1 (MCP-1), RANTES(ρυθμιστική πρωτεΐνη σε ενεργοποιημένα φυσιολογικά Τ-κύτταρα) και η ιντερλευκίνη-8 (IL-8) καθώς και κυτοκίνες όπως ο μεταγραφικός παράγοντας ανάπτυξης β-1 (TGF-β1) (74). Η έκκριση των προφλεγμονωδών κυτοκινών και των χυμοκινών από τα ΣΕΚ συμβάλλει στην επέκταση της ιστικής βλάβης στην ONA μέσω προσέλκυσης και ενεργοποίησης διηθημένων λευκοκυττάρων στον νεφρικό διαμεσοσωληναριακό ιστό (74).

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

Όπως θα εκτεθεί παρακάτω, η BMP-7 συμβάλλει στην ανάκτηση της νεφρικής λειτουργίας στην ONA ελλατώνοντας την έκφραση των προφλεγμονωδών κυτοκινών όπως της IL-6, IL-1, των χυμοκινών IL-8, MCP-1 και του αγγειοδραστικού πεπτιδίου ενδοθηλίνης-2 (ET-2). Εκτός από την BMP-7 αξίζει να σημειωθεί ότι και η BMP-6 στενά συγγενική - φαίνεται να ελλατώνει την έκφραση της IL-8 και της MCP-1.

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

### Γενετική:

Τα αποτελέσματα της χορήγησης της BMP-7 στα ΕΣΕΚ συγκρίθηκαν στην παρουσία ή απουσία μιάς προφλεγμονώδους κυτοκίνης της TNF-α στην έκφραση ενός πάνελ από 1176 γνωστά γονίδια. Το ποσοστό των γονιδίων στα διάφορα στίγματα με αυξημένη έκφραση(διπλάσια από τις τιμές αναφοράς) κυμάνθηκε μεταξύ 24% στην μη ύπαρξη BMP-7 και 29% στην παρουσία BMP-7 αντιπροσωπεύοντας 284 έως 338 γονίδια (74). Η προσθήκη BMP-7 σε κύτταρα που περιέχουν TNF-α επέφερε μια ανιχνεύσιμη μεταβολή της έκφρασης σε 40

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

γονίδια 8 από τα οποία αύξησαν την έκφρασή τους και 32 την ελάττωσαν ως απάντηση στην BMP-7. Από αυτά που αύξησαν πιο έντονα την έκφρασή τους τρία (Id1, Id2, Id3) ανήκουν σε αρνητικούς ρυθμιστές μεταγραφικών παραγόντων (75). Επιπροσθέτως, η αιμοοξυγενάση (HO-1) ένα ένζυμο που εμπλέκεται στην αγγειοδιαστολή τριπλασιάζει την έκφρασή του ως απάντηση στην BMP-7. Τα γονίδια που ταυτοποιήθηκε ότι ελατώνουν την έκφρασή τους πάνω από 1,8 φορές από τις τιμές αναφοράς ως απάντηση στην BMP-7 περιλαμβάνουν τα γονίδια που εμπλέκονται στην απάντηση στην φλεγμονή και στο οξειδωτικό στρες ήτοι τον υποδοχέα της αδενοσίνης A1 (ADORA-1), την μονοκυτταρική χημειοτακτική πρωτεΐνη-1 (MCP-1), τον παράγοντα έκκρισης κορτικοτροπίνης-1 (CRF-1) το ενδοκυττάριο μόριο πρόσφυσης-1 (ICAM-1) την IL-6, τον TNF-α. Τέλος η BMP-7 ελατώνει την έκφραση του γονιδίου της ενδοθηλίνης-2 (ET-2) και του γονιδίου της MAL μίας πρωτεΐνης που εμπλέκεται στην παρακυτταρική μεταφορά ουσιών στα επιθηλιακά κύτταρα (

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 10 pt, Έντονα

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

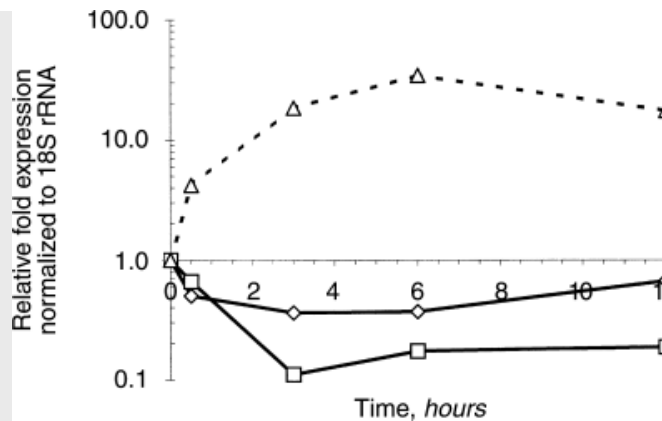
Από την στιγμή που οι μεταβολές της έκφρασης των γονιδίων που παρατηρήθηκαν 48 ώρες μετά την χορήγηση BMP-7 οφείλονται σε δευτερογενείς παράγοντες που εκκρίθηκαν ως απάντηση στην BMP-7 καταγράφηκε η χρονική ακολουθία των αποτελεσμάτων της BMP-7 σε μια επιλεγμένη ομάδα γονιδίων που ταυτοποιήθηκαν με γονιδιακή ακολουθία (76). Τα αποτελέσματα της BMP-7 στην γονιδιακή έκφραση της Id3 και του γονιδίου της ET-2 και της MCP-1 καταγράφηκαν από 0,5 μέχρι 3 ώρες μετά την χορήγηση BMP-7 αποδεικνύοντας ότι οι συγκεκριμένες μεταβολές της γονιδιακής έκφρασης είναι αποτέλεσμα άμεσης επίδρασης του BMP-7 σήματος (Εικ.9).

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt



**Εικ.9:** Χρονική ακολουθία της καταστολής της BMP-7 στην έκφραση της Id3 της ET-2 και της MCP-1 . Τα ΕΣΕΚ καλλιεργήθηκαν στην παρουσία ή απουσία BMP-7 και τα επίπεδα των παραπάνω μετρήθηκαν με real-time PCR. Οι τιμές είναι εκφρασμένες ως ποσοστό μεταβολής σε σχέση με τα ΕΣΕΚ χωρίς BMP-7.

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 10 pt, Έντονα  
**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές  
**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 10 pt, Έντονα

Η BMP-7 ελατώνει/ελαττώνει την έκφραση των γονιδίων των χημειοτακτικών, των φλεγμονωδών και των αγγειοδραστικών ουσιών στα ΕΣΕΚ στην ΟΝΑ.

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

Τα εγγύς σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα (ΕΣΕΚ) εκφράζουν BMP-υποδοχείς που απαντούν στην BMP-7 είτε στην παρουσία είτε στην απουσία της προφλεγμονώδους κυτοκίνης TNF-α. Η BMP-7 ελατώνει την αρχική αλλά και την διεγερόμενη από την TNF-α έκφραση των προφλεγμονωδών κυτοκινών IL-6 και IL-1β και των χυμοκινών MCP-1 και IL-8 (74). Δεδομένου του σημαντικού ρόλου των ΕΣΕΚ στην φλεγμονή της ΟΝΑ , οι παραπάνω μεταβολές των φλεγμονωδών παραγόντων πιστοποιούν ότι η BMP-7 μπορεί να έχει εξαιρετικά θεραπευτικά αποτελέσματα στην ΟΝΑ ,περιορίζοντας τον καταρράκτη των

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

φλεγμονωδών αντιδράσεων που πυροδοτείται από την αρχική προσβολή της ΟΝΑ.

Η επιτεινόμενη από την BMP-7 ελάτωση της έκφρασης της χυμοκίνης MCP-1 φαίνεται να έχει ιδιαίτερο ενδιαφέρον καθώς πειραματικά δεδομένα σε MCP-1 -/- ποντίκια δείχνουν ελάτωση κατά 40% της περισωληναριακής συνάθροισης μακροφάγων (77). Αν συνυπολογιστεί δε και το γεγονός ότι η BMP-7 ελατώνει την έκφραση δύο ακόμη χυμοκινών της IL-8 και του αυξητικού ογκογονιδίου-β (Gro-β) στα ΕΣΕΚ είναι σημαντικό να τονιστεί ότι οι παραπάνω δράσεις έχουν σαν αποτέλεσμα την ελάτωση της συνάθροισης μακροφάγων που παρατηρείται στην ΟΝΑ (78). Από τα παραπάνω είναι φανερό ότι αναστέλλοντας την συνάθροιση των φλεγμονωδών κυττάρων τότε θα ελατωθεί η τοπική έκκριση κυτοκινών και θα σταματήσει η εξέλιξη της φλεγμονώδους διαδικασίας.

Εκτός των σημαντικών ελατώσεων της έκφρασης των προφλεγμονωδών κυτοκινών και χυμοκινών η BMP-7 ελατώνει σημαντικά την έκφραση του υποδοχέα της αδενοσίνης A1 (ADORA-1). Οι υποδοχείς της αδενοσίνης διαδραματίζουν ρόλο στην φλεγμονώδη διαδικασία και στην νεφρική αγγειοσύσπαση που παρατηρούνται στην ΟΝΑ. Η BMP-7 ελατώνοντας την έκφραση της ADORA-1 φανερώνει έναν πιθανό μηχανισμό περιορισμού της συνάθροισης ουδετεροφίλων που παρατηρούνται στην ΟΝΑ (77). Η χορήγηση BMP-7 ίσως αυξάνει τη νεφρική αιματική ροή μέσω ελάτωσης της έκφρασης της ενδοθηλίνης-2 (ET-2) στα ΕΣΕΚ, ενώ αυξάνει την έκφραση της αιμο-οξυγενάσης-1 (HO-1) , μιάς αγγειοδιασταλτικής ουσίας ενισχύοντας την άποψη ότι η χορήγηση της BMP-7 θα μπορούσε να αυξήσει τον ρυθμό σπειραματικής διήθησης (GFR). Η ενδοθηλίνη-2 (ET-2) προκαλεί διέγερση της νεφρικής ίνωσης που συναντάται στα προχωρημένα στάδια της ΟΝΑ και επομένως η BMP-7 –με την ελάτωση της έκφρασης της ET-2 που προκαλεί- περιορίζει την νεφρική ίνωση που σημαίνει την μετάπτωση της ΟΝΑ σε ΧΝΑ (χρόνια νεφρική-νεφρική ανεπάρκεια).

Συνοψίζοντας τα παραπάνω η BMP-7 περιορίζει την βλάβη στην ΟΝΑ με τους ακόλουθους τρόπους : α) περιορίζοντας τον καταρράκτη των φλεγμονωδών

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

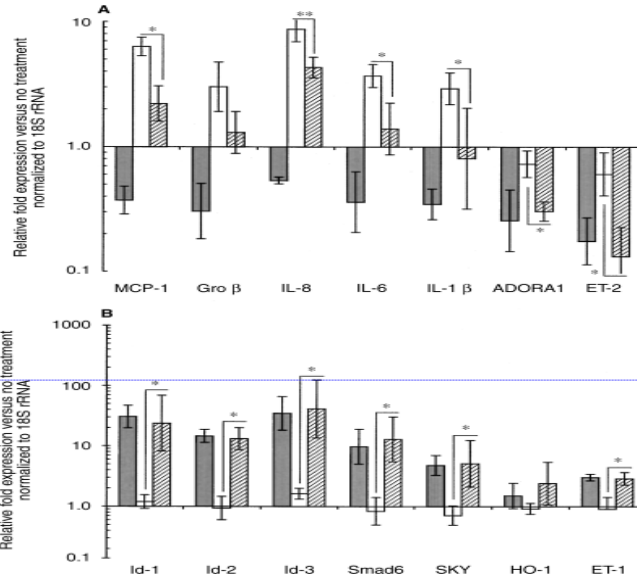
**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

αντιδράσεων και την επακόλουθη ίνωση μέσω ελάτωσης της έκφρασης των προφλεγμονωδών κυτοκινών και των χυμοκινών (εικ.10( και 2) βοηθά στην διατήρηση της νεφρικής αιματικής ροής μέσω των δράσεων της στην έκφραση της ET-2, της HO-1 και της ADORA-1. Σημαντικό είναι να τονιστεί ότι δεν είναι ακόμη γνωστό εάν οι παραπάνω μεταβολές γονιδιακής έκφρασης που παρατηρούνται υπό την επίδραση της BMP-7 in vitro παρατηρούνται και in vivo με την εξωγενή χορήγηση BMP-7 γεγονός που θα της προσέδιδε ρόλο πρόληψης της νεφρικής βλάβης.

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt



**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Εικ.10:** Ποσοτική ανάλυση της γονιδιακής έκφρασης των προ-φλεγμονωδών κυτοκινών, χυμοκινών, και αγγειοδραστικών ουσιών στα ΕΣΕΚ ως απάντηση στην BMP-7. Κυτταρική καλλιέργεια ΕΣΕΚ σε παρουσία ή απουσία BMP-7 (100 ng/mL) ή και TNF-α (2 ng/mL). Τα αποτελέσματα είναι μέσες τιμές από τρεις ανεξάρτητες μετρήσεις με χρήση real-time PCR. Τα δεδομένα είναι καταχωρημένα βάση λογαριθμικής κλίμακας με την βάση να ορίζονται

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 10 pt, Έντονα

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 10 pt, Έντονα

τα ΕΣΕΚ χωρίς BMP-7 ως 1,0. (Α) Γονίδια υποεκφραζόμενα ως απάντηση στην BMP-7. (Β) Γονίδια με αυξημένη έκφραση ως απάντηση στην BMP-7.  $P = <0.05$  και όπου  $P = <0.005$  όπως καθορίζεται από το Student t test.

### 3.3.4: BMP-7 και ONA από τοξική βλάβη του νεφρού

Πέρα από τον προστατευτικό ρόλο στην ισχαιμική οξεία νεφρική ανεπάρκεια η BMP-7 επηρεάζει και την πορεία της τοξικής νεφρικής βλάβης, in vitro, που εμφανίζεται μετά από χορήγηση υδραργυρικού χλωριδίου και cisplatinum. Η συστηματική χορήγηση της BMP-7 σε ποντικούς που έχει δοθεί υδραργυρικό χλωρίδιο ή μεγάλη δόση cisplatinum συνοδεύεται από προστασία της νεφρικής λειτουργίας και αύξηση της επιβίωσης. Το υδραργυρικό χλωρίδιο ασκεί την του τοξική δράση κυρίως στα επιθηλιακά σωληναριακά κύτταρα του S3 τμήματος του εγγύς σωληναρίου παρεμβαίνοντας στην αναπνευστική αλυσίδα και τα οξειδωτικά ένζυμα φωσφορυλίωσης των κυττάρων. In vitro μελέτες δείχνουν ότι η BMP-7 αυξάνει σημαντικά την κυτταρική επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό ανθρώπινων επιθηλιακών εγγύς σωληναριακών κυττάρων στα οποία χορηγείται υδραργυρικό χλωρίδιο(79). Με δεδομένο το γεγονός ότι η BMP-7 έχει μια χαρακτηριστική πλούσια σε κυστεΐνη περιοχή στο καρβόξυ τελικό τμήμα πολυπεπτιδικής αλυσίδας, μπορεί κανείς να πει ότι μπορεί να λειτουργεί σαν ελεύθερος εξουδετερωτής οξειδωτικών ριζών. Το εύρημα ότι η BMP-7 είναι αποτελεσματική στην αύξηση του πολλαπλασιασμού και της ζωτικότητας των νεφρικών σωληναριακών κυττάρων που προηγουμένως έχουν εκτεθεί σε επιθηλιακά

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

Μορφοποιήθηκε: Πλήρης, Εσοχή: Αριστερά: -0,63 εκ., Διάστιχο: 1,5 γραμμές

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Ελληνικά (Ελλάδα)

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Ελληνικά (Ελλάδα)

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

σωληναριακά κύτταρα του S3 τμήματος του εγγύς σωληναρίου παρεμβαίνοντας στην αναπνευστική αλυσίδα και τα οξειδωτικά ένζυμα φωσφορυλίωσης των κυττάρων. In vitro μελέτες δείχνουν ότι η BMP-7 αυξάνει σημαντικά την κυτταρική επιβίωση και τον πολλαπλασιασμό ανθρώπινων επιθηλιακών εγγύς σωληναριακών κυττάρων στα οποία χορηγείται υδραργυρικό χλωρίδιο(79). Με δεδομένο το γεγονός ότι η BMP-7 έχει μια χαρακτηριστική πλούσια σε κυστεΐνη περιοχή στο καρβόξυ τελικό τμήμα πολυπεπτιδικής αλυσίδας, μπορεί κανείς να πει ότι μπορεί να λειτουργεί σαν ελεύθερος εξουδετερωτής οξειδωτικών ριζών. Το εύρημα ότι η BMP-7 είναι αποτελεσματική στην αύξηση του πολλαπλασιασμού και της ζωτικότητας των νεφρικών σωληναριακών κυττάρων που προηγουμένως έχουν εκτεθεί σε υδράργυρο in vitro, ενώ δεν επηρεάζει τη λειτουργία κυττάρων που δεν έχουν εκτεθεί σε υδράργυρο, δείχνει μια διαφορά στην ευαισθησία ενεργοποίησης της BMP-7 στα εξωτερικά ερεθίσματα. Είναι γνωστό ότι τα νεφρικά κύτταρα έχουν μια ικανότητα επιδιόρθωσης και ανάνηψης μετά από βλάβη μέσω ενεργοποίησης των μοριακών και κυτταρικών οδών και φαινομένων που λαμβάνουν χώρα κατά τη διάρκεια της νεφρογένεσης. Φαίνεται ότι η BMP-7 μειώνει την σοβαρότητα της νεφρικής βλάβης που σχετίζεται με τη φάση ισχαιμίας και επαναιμάτωσης ή με την παρουσία νεφροτοξικών παραγόντων και μπορεί να αποτελέσει μια βάση για την θεραπεία της οξείας νεφρικής ανεπάρκειας (79).

- Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt
- Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt
- Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt
- Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt
- Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt
- Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt
- Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt
- Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt
- Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt
- Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt
- Μορφοποιήθηκε: Πλήρης, Εσοχή: Αριστερά: -0,63 εκ., Διάστημα Μετά: 0 στ., Διάστιχο: 1,5 γραμμές, Χωρίς ρύθμιση διαστήματος μεταξύ κειμένου δυτικής και ασιατικού κειμένου, Χωρίς ρύθμιση διαστήματος μεταξύ ασιατικού κειμένου και αριθμών
- Μορφοποιήθηκε: Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt
- Μορφοποιήθηκε: Πλήρης, Εσοχή: Αριστερά: -0,63 εκ., Διάστιχο: 1,5 γραμμές
- Μορφοποιήθηκε
- Μορφοποιήθηκε
- Μορφοποιήθηκε
- Μορφοποιήθηκε
- Μορφοποιήθηκε
- Μορφοποιήθηκε
- Μορφοποιήθηκε: Επικεφαλίδα 2
- Μορφοποιήθηκε
- Μορφοποιήθηκε
- Μορφοποιήθηκε
- Μορφοποιήθηκε
- Μορφοποιήθηκε
- Μορφοποιήθηκε
- Μορφοποιήθηκε

### 3.4: BMPs και χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (XNA)

#### 3.4.1: Εισαγωγή

Η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (XNA) ορίζεται –σύμφωνα με τον KDOQI/NKF (Kidney Disease Outcome Quality Index/ National Kidney Foundation ) ως η νεφρική βλάβη σε ένα χρονικό διάστημα μεγαλύτερο των 3 μηνών που χαρακτηρίζεται από δομικές ή και λειτουργικές διαταραχές του νεφρού με ή χωρίς



ελλατωμένο GFR, που στην πορεία του χρόνου καταλήγει σε ελλατωμένο GFR, εμφανίζοντας είτε παθοφυσιολογικές διαταραχές είτε αυξημένους δείκτες νεφρικής βλάβης προσδιοριζόμενοι με εξετάσεις αίματος , ούρων ή συγκεκριμένες απεικονιστικές εξετάσεις (80).

Όπως θα αναλυθεί εκτενέστερα παρακάτω οι BMPs (κυρίως η BMP-7) παίζουν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο σε παθολογικές και παθοφυσιολογικές εκδηλώσεις της ΧΝΑ ήτοι: α) νεφρική ίνωση , β)σπειραματοσκλήρυνση – πρωτεϊνουρία όπως εμφανίζονται κυρίως στην διαβητική νεφροπάθεια , την συχνότερη αιτία της ΧΝΑ , γ) δευτεροπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός (νεφρική οστεοδυστροφία) ,δ) αδυναμική οστική νόσος και ε) αγγειακές ασβεστώσεις που κυρίως εμφανίζονται στην ΧΝΑ τελικού σταδίου.

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

### 3.4.2 Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια και μοντέλο εναπομείναντος νεφρού

#### ~~ΦΤΙΑΞΕ ΤΑ SPACES NA EINAI IDIA SE OLO TO KEIMENO (1,5 LINES??)~~

Η υφολική νεφρεκτομή, αφαίρεση των 5/6 της συνολικής μάζας του νεφρικού ιστού πειραματοζώων, συνοδεύεται από γρήγορη εμφάνιση σπειραματοσκλήρυνσης και ίνωσης του διάμεσου ιστού στον εναπομείναντα νεφρό και εξέλιξη προς χρόνια νεφρική ανεπάρκεια(80). Η νεφρική παραγωγή BMP-7 mRNA είναι χαμηλή κατά τη 2<sup>η</sup> και μεταξύ 12<sup>ης</sup> και 14<sup>ης</sup> εβδομάδας μετά την νεφρεκτομή.

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

Η εξωγενής χορήγηση ανθρώπινης ανασυδασμένης BMP-7 σε πειραματόζωα που έχουν υποβληθεί σε υφολική νεφρεκτομή συνοδεύεται από σημαντική μείωση των τιμών ουρίας και κρεατινίνης εντός χρονικού διαστήματος εντός χρονικού διαστήματος δύο εβδομάδων από την έναρξη χορήγησης της (5 εβδομάδες μετά την υφολική νεφρεκτομή). Η επιβίωση των πειραματοζώων που έχουν αντιμετωπιστεί με εξωγενή χορήγηση BMP-7, 18 εβδομάδες μετά την νεφρεκτομή, ανέρχεται σε 88% συγκριτικά με 32% της ομάδας ελέγχου (81). Η BMP-7 φαίνεται ότι έχει ευεργετική επίδραση στη νεφρική λειτουργία πειραματοζώων με υφολική νεφρεκτομή, υποκινώντας τη δημιουργία νέων

δομών στον εναπομεινάντα νεφρό με αποτέλεσμα τη διατήρηση μεγαλύτερης λειτουργικής μάζας, με συνέπεια την καθυστέρηση της εξέλιξης της βλάβης προς χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (81).

### 3.4.3: Νεφρική ίνωση και BMP-7 στην ΧΝΑ

Η εξέλιξη της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας και της ίνωσης παραμένει ακόμη και σήμερα μια από τις μεγαλύτερες προκλήσεις της νεφρολογίας καθώς οδηγεί έναν μεγάλο αριθμό ασθενών σε νεφρική ανεπάρκεια τελικού σταδίου (ΧΝΑ-ΤΣ) απαιτώντας εξωνεφρική μέθοδο υποκατάστασης της νεφρικής λειτουργίας (αιμοκάθαρση, περιτοναϊκή κάθαρση).

Οι πιο συχνές παθήσεις που οδηγούν σε ΧΝΑ-ΤΣ διαφέρουν σημαντικά στους υποκείμενους πρωτοπαθείς παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς (81). Ο κυριότερος είναι οι σπειραματονεφρίτιδες, μεταβολικά νοσήματα όπως ο σακχαρώδης διαβήτης, κυστικές νεφροπάθειες όπως η πολυκυστική νόσος, η χρόνια διάμεση νεφρίτιδα και οι πρωτοπαθείς αγγειοπάθειες (81). Αν και οι παραπάνω παθήσεις διαφέρουν στους πρωτοπαθείς παθοφυσιολογικούς μηχανισμούς, όλες καταλήγουν στο νεφρό με χρόνια ίνωση (82). Η παρατήρηση ότι η χρόνια νεφρική ανεπάρκεια εξελίσσεται ανεξάρτητα της υποκείμενου νόσου έχει επικεντρώσει το ενδιαφέρον των ερευνητών στην ύπαρξη μίας κοινής παθογενετικής οδού που οδηγεί σε νεφρική ίνωση και ΧΝΑ-ΤΣ.

Οι κοινές παθογενετικές οδοί που οδηγούν σε ΧΝΑ-ΤΣ χαρακτηρίζονται από διαμεσοσωληνιακή ίνωση και σωληνιακή ατροφία (83). Η διαμεσοσωληνιακή ίνωση είναι το κύριο παθοφυσιολογικό γεγονός που σχετίζεται με νεφρική δυσλειτουργία και την ΧΝΑ-ΤΣ (83). Ως νεφρική ίνωση ορίζεται η υπερβολική εναπόθεση εξωκυτταρίου υλικού που οδηγεί σε καταστροφή του νεφρικού παρεγχύματος και έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας (84).

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστημα Μετά: 0 στ., Διάστιχο: 1,5 γραμμές, Χωρίς ρύθμιση διαστήματος μεταξύ κειμένου δυτικής και ασιατικού κειμένου, Χωρίς ρύθμιση διαστήματος μεταξύ ασιατικού κειμένου και αριθμών

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

Η ανάπτυξη της νεφρικής ίνωσης δείχνει να ακολουθεί μια παρόμοια πορεία με αυτή της επούλωσης του τραύματος (85). Πάντως σε αντίθεση με την επούλωση του τραύματος που είναι μια αυτορρυθμιζόμενη και πλήρως αναστρέψιμη διαδικασία, η νεφρική ίνωση είναι μια διαδικασία προοδευτικής χρονίας μη αναστρέψιμης ανάπτυξης ινώδους ιστού που καταλήγει σε αυξημένη εναπόθεση εξωκυτταρίου υλικού .

### -Παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί της νεφρικής ίνωσης

Έχει δείχτει ότι η χρόνια νεφρική ίνωση καθορίζεται από τρεις παράγοντες: α) μια συνεχή πρωτοπαθή προσβολή ή διέγερση, που κάνει την διαδικασία της ίνωσης γεγονός μακράς διάρκειας, β) την μετανάστευση φλεγμονωδών κυττάρων που σχετίζεται με ενεργοποίηση τοπικών κυττάρων ,γ) αυξημένη σύνθεση κολλαγόνου και εξωκυτταρίου υλικού.

Η έναρξη της νεφρικής ίνωσης συμβαίνει με φλεγμονώδη αντίδραση με είσοδο μονοκυττάρων στον διάμεσο ιστό (86). Τα διηθούμενα κύτταρα εκκρίνουν προδρόμους της ίνωσης αυξητικούς παράγοντες που διεγείρουν τοπικούς ινοβλάστες και σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα (87). Στην δεύτερη φάση της νεφρικής ίνωσης γνωστή ως φάση σύνθεσης φλεγμονώδους υλικού, οι ινοβλάστες συνθέτουν εξωκυτταριο υλικό (87). Η δε τρίτη φάση χαρακτηρίζεται από συνεχιζόμενη σύνθεση εξωκυτταρίου υλικού (86,87). Αξίζει τέλος να σημειωθεί ότι ανιχνεύονται ινοβλάστες στον σχηματισμένο ινώδη ιστό γεγονός που υποδηλώνει την μη αναστρεψιμότητα της διαδικασίας της νεφρικής ίνωσης (87).

**:- ΟΙ ΑΠΟΣΤΑΣΕΙΣ ΤΟΥ ΚΕΙΜΕΝΟΥ ΣΟΥ ΔΕΞΙΑ ΚΑΙ ΑΡΙΣΤΕΡΑ ΤΗΣ ΣΕΛΙΔΑΣ ΝΑ ΕΙΝΑΙ ΙΔΙΕΣ ΣΕ ΟΛΟ ΤΟ ΚΕΙΜΕΝΟ**

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Ελληνικά (Ελλάδας)

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, Έντονα, Ελληνικά (Ελλάδας)

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, Έντονα, Ελληνικά (Ελλάδας)

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, Έντονα, Ελληνικά (Ελλάδας)

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, Έντονα, Ελληνικά (Ελλάδας)

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, Έντονα, Ελληνικά (Ελλάδας)

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, Έντονα, Ελληνικά (Ελλάδας)

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, Έντονα, Ελληνικά (Ελλάδας)

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, Έντονα, Ελληνικά (Ελλάδας)

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, Έντονα, Ελληνικά (Ελλάδας)

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, Έντονα, Ελληνικά (Ελλάδας)

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, Έντονα, Ελληνικά (Ελλάδας)

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, Έντονα, Ελληνικά (Ελλάδας)

**Μορφοποιήθηκε** ...

**Μορφοποιήθηκε** ...

**Μορφοποιήθηκε** ...

**Μορφοποιήθηκε** ...

## Ο ρόλος των σωληναριακών επιθηλιακών κυττάρων στην χρόνια νεφρική ίνωση

Το βασικό κυτταρικό γεγονός που διευκολύνει την σωληναριοδιάμεση ίνωση είναι η ενεργοποίηση των ινοβλαστών και σωληναριακών επιθηλιακών κυττάρων (87). Τα σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα έχει δείχτει ότι είναι τα κύτταρα που συμμετέχουν κυρίως στην νεφρική ίνωση (86). Πιο συγκεκριμένα μεσολαβούν στην έναρξη της φλεγμονής του διαμέσου ιστού μέσω έκκρισης χυμοκινών, προδρόμων αυξητικών παραγόντων της χρόνιας νεφρικής ίνωσης κυριότερος των οποίων είναι ο TGF-β1 . Μετά την έναρξη της νεφρικής ίνωσης τα σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα με την βοήθεια κυρίως των αυξητικών παραγόντων υφίστανται καταρράκτη κυτταρικών αντιδράσεων που οδηγούν στην σωληναριακή ατροφία (88).

Σε προχωρημένες φάσεις της νεφρικής ίνωσης τα σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα μετατρέπονται από επιθηλιακά σε μεσεγγυματικά (epithelial to mesenchymal transition-EMT) ή/και απόπτωση που οδηγούν από κοινού σε σωληναριακή ατροφία (89,90). Κατά την διάρκεια της EMT, τα ενεργοποιημένα σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα (ΣΕΚ) χάνουν την επαφή τους με γειτονικά κύτταρα και την σωληναριακή βασική μεμβράνη αποκτώντας φαινοτυπικά χαρακτηριστικά ινοβλαστών εισβάλλοντας στον διάμεσο ιστό (89,90)

Οι διάμεσοι ινοβλάστες έχουν σημαντικά λειτουργικά χαρακτηριστικά όπως αυξημένη υπερπλαστική ικανότητα, αυξημένη παραγωγή εξωκυτταρίου υλικού όπως φιβρονεκτίνη και κολλαγόνο τύπου I και αυξημένη ικανότητα μετανάστευσης (91). Είναι τα κύτταρα που χαρακτηρίζουν με την παρουσία τους την χρόνια νεφρική ίνωση και σηματοδοτούν το σημείο της μη αναστρεψιμότητας της συγκεκριμένης διαδικασίας.

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Εσοχή: Αριστερά: 0,63 εκ., Διάστιχο: 1,5 γραμμές, Χωρίς κουκκίδες ή αρίθμηση

## 2004 - BMP-7 και χρόνια νεφρική ίνωση σε κυτταρικό επίπεδο

Βάση πειραματικών μοντέλων μελέτης της ΧΝΑ έχει πλέον δειχτεί ότι η BMP-7 ασκεί προστατευτικό ρόλο στην διατήρηση της ακεραιότητας των νεφρικών σωληναρίων (92).

Οι Gould και συν. (74) έδειξαν ότι η εξωγενής χορήγηση BMP-7 μαζί με την ενδογενή BMP-7 στα εγγύς σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα ελάττωσε προφλεγμονώδεις ουσίες που πιθανόν παίζουν ρόλο μοριακών σημάτων -που ξεκινούν από τα συγκεκριμένα κύτταρα- στην χρόνια νεφρική ίνωση. Πιο συγκεκριμένα η BMP-7 ελάττωσε τον TNF-α, περιόρισε την αύξηση του mRNA της ιντερλευκίνης-1, της ιντερλευκίνης-6, της ιντερλευκίνης-8 και της μονοκυτταρικής χημειοτακτικής πρωτεΐνης-1. Επίσης στην ίδια μελέτη αποδείχτηκε ότι ο TGF-β1, ο κύριος πρόδρομος αυξητικός παράγοντας της νεφρικής ίνωσης ελατώνει την έκφραση της ενδογενούς BMP-7 στα εγγύς σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα συντελώντας στην εξέλιξη της χρόνιας νεφρικής ίνωσης.

Σε άλλη μελέτη (93) δείχτηκε ότι η BMP-7 είχε σημαντικά μειωμένη έκφραση σε πειραματόζωα με διαβητική νεφροπάθεια επιτευνόμενη από χορήγηση στρεπτοζοτοκίνης που συνεπώς είχαν προχωρημένη νεφρική ίνωση. Η αδρανοποίηση δε της BMP-7 στα εγγύς σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα αύξησε την έκφραση της φιμπρονεκτίνης και του κολλαγόνου τύπου I οδηγώντας στο συμπέρασμα ότι η απώλεια της ενδογενούς BMP-7 αυξάνει τον βαθμό της νεφρικής ίνωσης.

Τα μεσαγγειακά κύτταρα είναι ο κύριος τύπος κυττάρων στο σπείραμα στα οποία συσσωρεύονται οι πρωτεΐνες του εξωκυτταρίου υλικού στην εξελισσομένη σπειραματική ίνωση σε πολλές σπειραματοπάθειες που οδηγούν σε χρόνια νεφρική ανεπάρκεια, όπως η φιμπρονεκτίνη και το κολλαγόνο τύπου I δημιουργώντας τον ινώδη σπειραματικό ιστό. Σε πειραματικές μελέτες έχει δειχτεί ότι η BMP-7 αναστέλλει σε σημαντικό βαθμό την δράση της TGF-β1 που επιτείνει την νεφρική ίνωση όπως επίσης και την συσσωρευση εξωκυτταρίων πρωτεϊνών

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές, Χωρίς κουκκίδες ή αρίθμηση

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

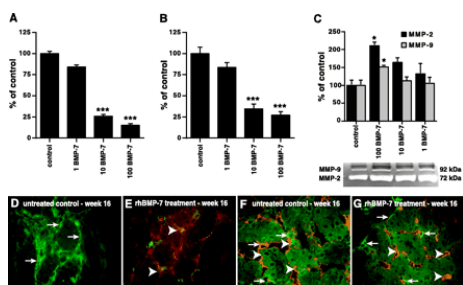
**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Εσοχή: Αριστερά: 0 εκ., Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

στα μεσαγγειακά κύτταρα μέσω ανταγωνισμού της δράσης της TGF-β1 που συνίσταται σε μείωση της έκφρασης της MMP-2 (matrix-metalloproteinase-2) και αύξηση της μεταγραφής και έκκρισης του PAI-1 (plasminogen-activator inducer-1) και συνεπώς αναστέλλει την εξέλιξη της ίνωσης στα μεσαγγειακά κύτταρα (94). Οι Zeisberg και συν.(95) σε μια σημαντική πειραματική μελέτη έδειξαν ότι η BMP-7 δρα και στους ενεργοποιημένους διάμεσους ινοβλάστες –στην νεφρική ίνωση- αναστέλλοντας την ανάπτυξή τους. Συγκεκριμένα η αυξημένη έκφραση της MMP-2 από την δράση της BMP-7 έχει ως αποτέλεσμα αυξημένη αποδόμηση του εξωκυτταρίου ινώδους υλικού και επομένως ελάττωση του σχηματισμού ινωτικού ιστού στον νεφρικό διάμεσο χώρο. Η δε δράση της TGF-β1 σε αυτή την μελέτη φαίνεται να αναστέλλεται από την BMP-7 και στους διάμεσους ινοβλάστες. Τα παραπάνω φαίνονται στο παρακάτω σχήμα και ουσιαστικά ο μηχανισμός δράσης της BMP-7 είναι παρόμοιος και στα άλλα είδη νεφρικών κυττάρων στην χρόνια νεφρική ίνωση (Εικ. 11).

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt



**Εικ.11:** Η BMP-7 έχει δράσεις κατά της νεφρικής ίνωσης στους νεφρικούς διάμεσους ινοβλάστες. A–C: Η BMP-7 χορηγήθηκε σε TK-173 διάμεσους ινοβλάστες και λήφθηκαν δείγματα κυτταρικών καλλιιεργειών για την μελέτη της έκκρισης του κολλαγόνου τύπου I και της φιβρονεκτίνης με χρήση ELISA (A and B)

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: 11 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 10 pt, Έντονα

και για την έκκριση των μεταλλοπρωτεϊνών (MMPs) με χρωματογραφία (C). Συνοψίζονται αποτελέσματα τριών ανεξάρτητων πειραμάτων. A: collagen ELISA. Η έκκριση του κολλαγόνου τύπου I ελαττώθηκε μετά χορήγηση rhBMP-7 ( $15.2 \pm 1.9\%$  συγκρινόμενο με ομάδα ελέγχου). B: φιβρονεκτίνη ELISA. Μετά 48 h, η φιβρονεκτίνη ήταν σημαντικά ελαττωμένη μετά χορήγηση rhBMP-7 ( $27.1 \pm 5.1\%$  συγκρινόμενο με ομάδα ελέγχου). C: χρωματογραφία. Κορυφή: Η πυκνομετρική ανάλυση έδειξε ότι η MMP-2 και MMP-9 αυξήθηκαν σε ινοβλάστες που εκτίθενται σε rhBMP-7 ( $210.5 \pm 10.27$  και  $151.2 \pm 4.3\%$ , αντιστοίχως, συγκρινόμενο με ομάδα ελέγχου). Βάση: αντιπροσωπευτική γέλη. D and E: διπλή χρώση για MMP-2 [rhodamine (κόκκινη)] και α-smooth muscle actin [α-SMA; FITC (πράσινη)]. Δείγματα νεφρικού ιστού με χορηγουμένη rhBMP-7 και MRL/MpJ<sup>pr/pr</sup> ποντίκια μετά το πέρας της μελέτης (16 εβδομάδες). Η MMP-2 ήταν απύσχα στους μυοινοβλάστες σε MRL/MpJ<sup>pr/pr</sup> ποντίκια (βέλη). Η χορήγηση της rhBMP-7 είχε σαν αποτέλεσμα αυξημένη MMP-2 χρώση (βέλη). F and G: διπλή χρώση για MMP-2

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 10 pt, Έντονα

[rhodamine (κόκκινη)] και  $\alpha$ -smooth muscle actin [ $\alpha$ -SMA; FITC (πράσινη)].  $\times 400$ .  $*P < 0.05$ ;  $***P < 0.0001$ .

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: Όχι Πλάγια

## -Ο ρόλος της BMP-7 στην μετατροπή των επιθηλιακών σε μεσεγχυματικά κύτταρα (EMT-epithelial to mesenchymal transition) στην χρόνια νεφρική ίνωση

**Μορφοποιήθηκε:** Παράγραφος λίστας1, Διάστιχο: 1,5 γραμμές, Ρύθμιση διαστήματος μεταξύ κειμένου δυτικής γραφής και ασιατικού κειμένου, Ρύθμιση διαστήματος μεταξύ ασιατικού κειμένου και αριθμών

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

Η EMT –όπως έχει αναφερθεί- είναι το φαινόμενο όπου πλήρως διαφοροποιημένα επιθηλιακά κύτταρα μετατρέπονται σε μεσεγχυματικά δίνοντας γένεση στους ινοβλάστες και μυοινοβλάστες που παίζουν σημαντικό ρόλο στην νεφρική ίνωση που ακολουθεί την επιθηλιακή βλάβη. Ο TGF- $\beta$ 1 , έχει δείξει ότι μεσολαβεί για την EMT σε διάφορα είδη επιθηλιακών κυττάρων περιλαμβανομένων των επιθηλιακών κυττάρων του νεφρού όπως των σωληναριακών επιθηλιακών κυττάρων-π.χ εγγύς σωληναριακά κύτταρα.

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

Η απάντηση της EMT στον TGF- $\beta$ 1 γίνεται κυρίως μέσω Smad –εξαρτωμένων παθογενετικών οδών (96). Σε αυτές τις παθογενετικές οδούς, τα TGF- $\beta$ 1 σήματα επάγονται από διαμεμβρανικούς υποδοχείς τύπου I και II τύπου κινασών. Μετά την διέγερση του TGF- $\beta$ 1 οι υποδοχείς εγκλείονται σε ενδοσώματα όπου οι Smad πρωτεΐνες ρυθμίζουν τον σχηματισμό ALK-5 με Smad2 ή Smad3 πρωτεϊνών. Τα παραπάνω συμπλέγματα αλληλεπιδρούν με άλλους μεταγραφικούς παράγοντες στους πυρήνες των κυττάρων προκειμένου να ρυθμίσουν την μεταγραφή των TGF- $\beta$ 1 προϊόντων όπως CTGF,  $\alpha$ -SMA, κολλαγόνου τύπου 1 και αναστολέα ενεργοποιητή πλασμινογόνου (PAI-1).

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

Η BMP-7 αναστέλλει την EMT που επιτείνεται από τον TGF- $\beta$ 1 μέσω άμεσης ανταγωνιστικής της δράσης στην Smad3 –εξαρτώμενη EMT (96,97). Ο

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

υποκείμενος μηχανισμός φαίνεται να είναι η επαγωγή των Id πρωτεϊνών που αναστέλλονται από τον TGF-β1 που προάγει την EMT (104). Ο CTGF, ο PAI-1 και η θρομβοσποντίνη-1 είναι μεταξύ των TGF-β1 προϊόντων που υπορυθμίζονται από την BMP-7 (105). Η μείωση έκφρασης των TGF-β1 προϊόντων από την BMP-7 έχει σαν αποτέλεσμα την αυξημένη έκφραση της MMP-2 που ενισχύει την αποδόμηση του ινώδους εξωκυτταρίου υλικού (97).

Η BMP-7 αναστέλλει την EMT στην χρόνια νεφρική ίνωση με έναν ακόμη μηχανισμό που είναι η αυξημένη επαγωγή της E-cadherin που είναι επιθηλιακό μόριο πρόσφυσης -κλειδί μέσω άμεσου ανταγωνιστικής δράσης που εμπλέκει Smad παθογενετικές οδούς όπως φαίνεται από την συνύπαρξη Smad 2/3 και Smad 1 στον κυτταρικό πυρήνα.

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

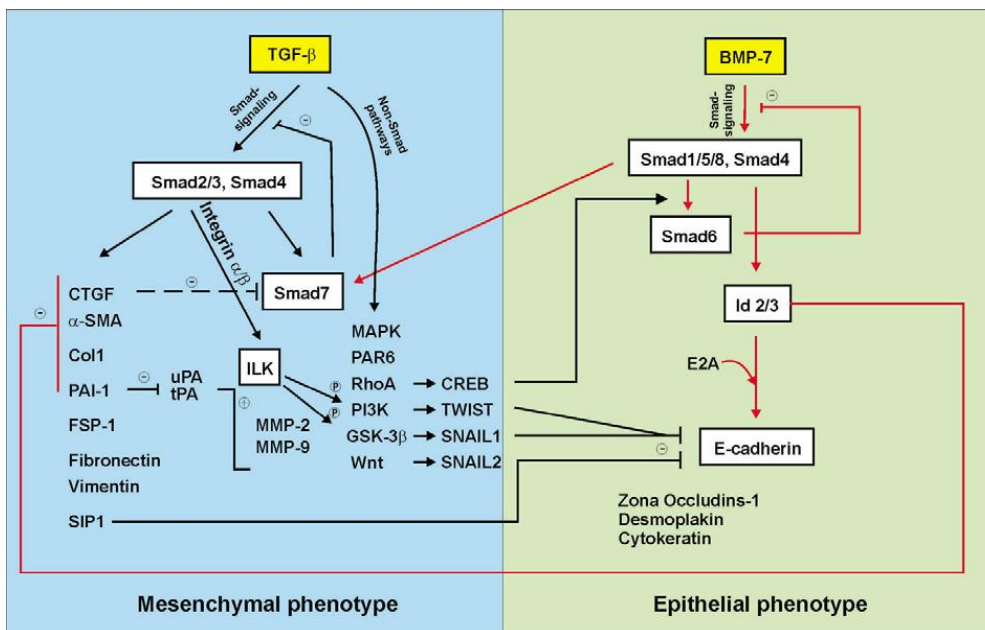
**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt



Εικ.12: Αλληλεπίδραση TGF-β και BMP-7 στην EMT

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 10 pt, Έντονα



## - Η BMP-7 ως θεραπευτικός παράγοντας κατά της νεφρικής ίνωσης

Η χρησιμοποίηση της BMP-7 σε διάφορα μοντέλα νεφρικής ίνωσης έδειξαν ότι έχει σημαντική θεραπευτική αποτελεσματικότητα χωρίς σημαντικές παρενέργειες ή τοξικότητα in vivo. Έτσι, η νεφρική ίνωση συνεπεία απόφραξης ουρητήρων εμποδίστηκε μετά την συστηματική χορήγηση r BMP-7 (98). Σε ένα άλλο πειραματικό μοντέλο με ποντίκια με διαβητική νεφροπάθεια φάνηκε θεραπευτικό όφελος από την χρήση BMP-7 (94). Τα ποντίκια κατέστησαν διαβητικά με την χρήση στρεπτοζοκίνης και ανέπτυξαν σπειραματική υπερτροφία και διαμεσοσωληναριακή ίνωση. Η συστηματική θεραπεία των ποντικών με χορήγηση r BMP-7 εμπόδισε την πρόοδο της διαβητικής νεφροπάθειας όπως αποδεικνύεται από την αναστολή της σπειραματικής υπερτροφίας και της διαμεσοσωληναριακής ίνωσης, ελάττωση του κολλαγόνου τύπου IV και ελάττωση της κρεατινίνης ορού αντανακλώντας την επαναφορά της νεφρικής λειτουργίας.

Η αποτελεσματικότητα της BMP-7 έναντι της νεφρικής ίνωσης έχει φανεί και σε άλλα μοντέλα νεφρικής ίνωσης (99,100) όπου ουσιαστικά η δράση της συνίσταται σε αναστολή της σπειραματοσκλήρυνσης, της διαμεσοσωληναριακής ίνωσης και της συσσώρευσης εξωκυτταρίου ινώδους υλικού.

Πειραματικές μελέτες έδειξαν ότι οι υποκείμενοι παθογενετικοί μηχανισμοί που ρυθμίζουν την ενδογενή σχέση μεταξύ TGF-β1 και BMP-7 σημάτων καθορίζεται ενδοκυτταρίως από τις Id2, Id3 και Smad6 (101). Συγκεκριμένα έδειξαν ότι η

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Εσοχή: Αριστερά: -0,63 εκ., Προεξοχή: 0,63 εκ., Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Εσοχή: Αριστερά: 0 εκ., Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

BMP-7 αυξάνει την έκφραση των Id2, Id3 και Smad 6 πρωτεϊνών-πρωτεϊνών που οδηγούν σε άμεση αναστολή της έκφρασης του κολλαγόνου.

Τέλος είναι αξιοσημείωτο να τονιστεί ότι τα θεραπευτικά αποτελέσματα στην χρόνια νεφρική ίνωση σε πειραματικά ζωικά μοντέλα δεν έχουν μέχρι σήμερα μεταφερθεί στην κλινική πράξη σε ασθενείς με χρόνια νεφρική ανεπάρκεια.

## -BMP-2 και νεφρική ίνωση

Σε πρόσφατη μελέτη (102) βρέθηκε ότι η BMP-2 ( είτε η εξωγενώς χορηγηθείσα rBMP-2 , είτε η ενδογενώς παραγομένη BMP-2) εμφανίζεται να αναστέλλει σε σημαντικό βαθμό την επαγομένη από την TGF-β1 αύξηση των επιπέδων της φιλμπρονεκτίνης στους νεφρικούς ινοβλάστες. Αυτή η παρατήρηση είναι παρόμοια με τα συμπεράσματα των μελετών που εκτέθηκαν παραπάνω γι'α την δράση της BMP-7 στην διόρθωση της νεφρικής βλάβης στην νεφρική ίνωση. Στην διάρκεια της μελέτης χορηγήθηκε σε θηλαστικά rBMP-2(70 μg/kg) μια φορά την ημέρα επί 7 ημέρες όπου ως αποτέλεσμα δεν υπήρξε έκτοπη οστεοποίηση του νεφρού, ούτε μεταβολή της συγκέντρωσης του φωσφόρου, του ασβεστίου και της δραστηριότητας της αλκαλικής φωσφατάσης αποτελώντας πιθανό θεραπευτικό παράγοντα για την χρόνια νεφρική ίνωση.

Η δοσοεξαρτημένη θεραπεία με BMP-2 καταστέλλει σημαντικά την έκφραση του TGF-β1 σε νεφρικούς ινοβλάστες . Τα παραπάνω δείχνουν σαφώς ότι η εξωγενής BMP-2 πιθανόν αναστέλλει την κυτταρική ίνωση αναστέλλοντας την έκφραση των TGF-β1 υποδοχέων. Η συγκεκριμένη παρατήρηση σαφώς δηλώνει την αποτελεσματικότητα της BMP-2 έναντι της νεφρικής ίνωσης. Όσον αφορά τους υποκείμενους μηχανισμούς δράσης της BMP-2 στην χρόνια νεφρική ίνωση, ο TGF-β1 επέτεινε την αύξηση του pSmad2/3 και μια ελάτωση του Smad7 και την BMP-2 να αναστρέφει τις παραπάνω λειτουργίες σε σημαντικό βαθμό .

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Εσοχή: Αριστερά: 0 εκ., Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

### 3.4.4 : BMP-7 και διαβητική νεφροπάθεια

#### - Επίπεδα BMP-7 και διαβητική νεφροπάθεια

Η διαβητική νεφροπάθεια είναι η πιό συχνή αιτία της ΧΝΑ τελικού σταδίου όπου τα σωληναριακά κύτταρα υπόκεινται σε έναν αριθμό φαινοτυπικών μεταβολών που συμμετέχουν στην έναρξη και εξέλιξη της διαμεσοσωληναριακής ίνωσης. Στα αρχικά στάδια της διαβητικής νεφροπάθειας, τα σωληναριακά κύτταρα ξεκινούν να εκφράζουν TGF-β, που πιθανόν εν μέρει επιτείνεται από την χρόνια υπεργλυκαιμία όπως επίσης και από άλλους λιγότερο κατανοητούς μηχανισμούς (93). Η συγκεκριμένη κυτοκίνη αυξάνει την έκφραση των διαμεσοσωληναριακών πρωτεϊνών του εξωκυτταρίου υλικού στά σωληναριακά κύτταρα.

Η BMP-7 σαν μέλος της υπεροικογένειας των συγκεκριμένων κυτοκινών, έχει ήδη βρεθεί, όπως ελέχθη παραπάνω, ότι έχει δράσεις εναντίον της χρόνιας νεφρικής ίνωσης και ανταγωνίζεται τις δράσεις του TGF-β όπως έχει μελετηθεί σε μοντέλα της χρόνιας νεφρικής νόσου.

Η έκφραση της νεφροσωληναριακής BMP-7 ελατώνεται από τα αρχικά ακόμη στάδια της διαβητικής νεφροπάθειας (100) για να εξαφανιστεί σχεδόν κατά την εξέλιξη της νόσου. Επιπροσθέτως, μεταβάλλονται κάποιοι ρυθμιστές της βιοδραστικότητας της BMP-7 στην εξέλιξη της διαβητικής νεφροπάθειας. Αυτοί περιλαμβάνουν ελατωμένη έκφραση των BMP-υποδοχέων τύπου II και μερικών BMP-υποδοχέων τύπου I στον νεφρό και αυξημένη έκφραση των εκκρινόμενων BMP ανταγωνιστών.

Οι μεταβολές της έκφρασης της BMP-7 στον νεφρό καθώς και των υποδοχέων και των ανταγωνιστών της συνυπάρχουν με αυτήν της TGF-β, δίνοντας έναυσμα

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

**Μορφοποιήθηκε:** Πλήρης, Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

στο να υποθεθεί ότι ο TGF-β υποεκφράζει την BMP-7 γεγονός που μπορεί να αποτελεί και τον κύριο μηχανισμό δράσης της (93,100).

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

Σε καλλιέργειες νεφρικών σωληναριακών κυττάρων, όπως φάνηκε σε μελέτη (100), ο TGF-β ελατώνει την έκφραση της BMP-7 που υποδεικνύει ότι μια αύξηση των επιπέδων του TGF-β στα νεφρικά σωληνάκια στην εξέλιξη της διαβητικής νεφροπάθειας συμβάλλει αιτιολογικά στην απώλεια της BMP-7(εικ.13). Το αντίθετο γεγονός ότι η επιτεινομένη από τη BMP-7 καταστολή της έκφρασης του TGF-β δεν φαίνεται να ισχύει, αφού υπήρξαν αρνητικά αποτελέσματα στο αντίστοιχο πειραματικό μοντέλο (100).

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

Σε μοριακό επίπεδο, η BMP-7 ενεργοποιεί την Smad5 πρωτεΐνη και έχει δείξει ότι ο TGF-β δεν ανταγωνίζεται την BMP-7 επαγομένη σερίνο-φωσφορυλίωση της Smad5, η δε ενεργοποίηση της μπορεί να συμβεί με μεσολάβηση των BMP υποδοχέων τύπου I.

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

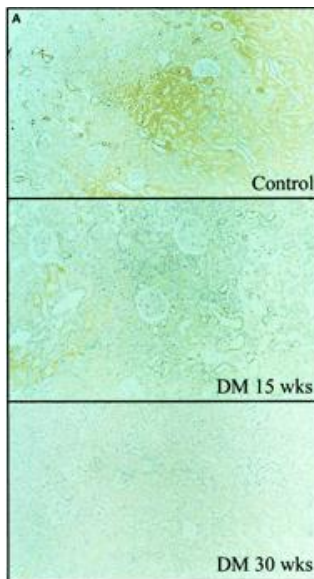
**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

Η BMP-7 φωσφορυλιώνει ταχέως την Erk-1 και την Erk-2 στα εγγύς σωληναριακά κύτταρα και ο TGF-β επίσης ενεργοποιεί την Erk-1 και την Erk-2 στα εγγύς σωληναριακά κύτταρα στην διαβητική νεφροπάθεια (100). Τα παραπάνω αποτελούν έναν πιθανό μηχανισμό με τον οποίο η BMP-7 αναστέλλει την επιτεινόμενη από τον TGF-β αύξηση της παραγωγής του εξωκυτταρίου υλικού.

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: Όχι Πλάγια



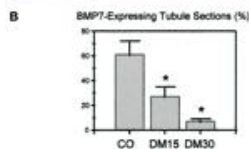
**Εικ.13** Ανοσοδραστική οστική μορφογενετική πρωτεΐνη-7\* (BMP-7) σε νεφρούς διαβητικών και ομάδας ελέγχου πειραματοζώων. (A) Αντιπροσωπευτικές μικροφωτογραφίες στις 15 και 30 εβδομάδες αντιστοίχως. (B Ποσοστό έκφρασης της BMP-7 στα νεφρικά σωληνάκια. \* $P < 0.05$ . Μεγέθυνση,  $\times 100$ .

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 10 pt, Έντονα

**Μορφοποιήθηκε:** Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: 11 pt

### -BMP-7 και βιοχημικοί δείκτες νεφρικής λειτουργίας στην διαβητική νεφροπάθεια



Στα αρχικά στάδια της διαβητικής νεφροπάθειας

αρχίζει να εμφανίζεται η πρωτεϊνουρία (μικρολευκωματουρία). Σε μελέτη (103), τα διαβητικά ποντίκια όπως επίσης και τα BMP-7 διαβητικά ποντίκια ανέπτυξαν πρωτεϊνουρία μετά την 10<sup>η</sup>- 16<sup>η</sup> εβδομάδα από την έναρξη της διαβητικής νεφροπάθειας, η δε πρωτεϊνουρία επιδεινώθηκε με πολύ μεγαλύτερο ρυθμό στα διαβητικά ποντίκια σε σχέση με τα BMP-7 διαβητικά ποντίκια, και μάλιστα μετά την πάροδο 1 χρόνου αυτός ο ρυθμός ήταν 4,5 φορές μεγαλύτερος. Αντίθετα με τα μη διαβητικά και τα BMP-7 μη διαβητικά ποντίκια, και οι δύο κατηγορίες διαβητικών ποντικίων ήταν πολύ ουραιμικά σε 1 χρόνο (αυξημένη ουρία αίματος).

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Εσοχή: Αριστερά: 0 εκ., Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

Τα παραπάνω αντανακλούν πιθανή χρόνια νεφρική ανεπάρκεια με δεδομένη την ωσμωτική διούρηση που προκαλείται από την υπεργλυκαιμία. Τα επίπεδα της κρεατινίνης ορού τείνουν επίσης να αυξάνονται έντονα στα διαβητικά ποντίκια με στατιστικά σημαντική διαφορά μόνο στα διαβητικά και όχι στα BMP-7 διαβητικά ποντίκια. Η αύξηση των επιπέδων κρεατινίνης ορού σαφώς και είναι στα πλαίσια της εξέλιξης της διαβητικής νεφροπάθειας όπου στην περίπτωση των BMP-7 διαβητικών ποντικίων είναι σημαντικά μικρότερη γεγονός που δείχνει πιθανό προστατευτικό ρόλο της BMP-7 στην νεφρική λειτουργία.

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Εσοχή: Αριστερά: 0 εκ., Δεξιά: -0,59 εκ., Διάστιχο: 1,5 γραμμές

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

## - BMP-7 και ποδοκύτταρα στην διαβητική νεφροπάθεια

Σε διαγονιδιακά ποντίκια έχει παρατηρηθεί από την δράση της BMP-7 διατήρηση του αριθμού των ποδοκυττάρων και ελάτωση της λευκωματουρίας γεγονός που οδήγησε στον χαρακτηρισμό της ενδογενούς BMP-7 ως παράγοντα επιβίωσης των ποδοκυττάρων (104).

Η διαβητική νεφροπάθεια χαρακτηρίζεται ιστολογικά από πάχυνση της βασικής μεμβράνης και αύξηση της εξωκυτταρίας θεμέλιας ουσίας του μεσαγγείου ενώ συνυπάρχει λάβη στα ποδοκύτταρα και στις σχισμές διήθησης. Η υπεργλυκαιμία και η αυξημένη ενδοσπειραματική πίεση ευθύνονται κυρίως για τη εμφάνιση της σπειραματικής βλάβης στην διαβητική νεφροπάθεια, η δε BMP-7 εκτός από τα σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα εκφράζεται και στα ποδοκύτταρα.

Σε καλλιέργειες ποδοκυττάρων σε υπεργλυκαιμικό περιβάλλον εκτιμήθηκε η παρουσία της BMP-7, της συναπτοποδίνης και της ποδοσίνης βασικών πρωτεϊνών της σχισμής διήθησης που είναι απαραίτητες για την σηματοδότηση της νεφρίνης που είναι σημαντική για την ακεραιότητα του σπειραματικού ηθμού (104,105). Παρατηρήθηκε δραματική μείωση της έκφρασης της BMP-7 στα

ποδοκύτταρα ενώ η χορήγηση ανασυνδυσασμένης BMP-7 αποκαθιστά την παραγωγή της συναπτοποδίνης και της ποδοσίνης (104). Οι φαινοτυπικές αλλαγές των ποδοκυττάρων στα αρχικά στάδια της νόσου εμφανίζουν ιδιαίτερο ενδιαφέρον λόγω της δυνατότητας αναστρεψιμότητας της βλάβης. Η εξωγενής χορήγηση BMP-7 βρέθηκε να οδηγεί σε μερική υποστροφή της υπερτροφίας των σπειραμάτων, αναστροφή της βλάβης στα ποδοκύτταρα και βελτίωση της σωληναριακής φλεγμονής και ίνωσης που έχουν ως αποτέλεσμα την επαναφορά της φυσιολογικής σπειραματικής διήθησης και ελάτωση της πρωτεϊνουρίας (104,105)

### **3.4.5 BMP-7 και νεφρική οστεοδυστροφία στην ΧΝΑ**

#### **-Δευτεροπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός(νεφρική οστεοδυστροφία υψηλού μεταβολισμού )**

Ο όρος «νεφρική οστεοδυστροφία» χρησιμοποιείται για να περιγράψει ένα ευρύ φάσμα σκελετικών διαταραχών που συναντώνται σε ασθενείς που οριοθετούνται από την οστική νόσο υψηλού μεταβολισμού καθώς και την οστική νόσο χαμηλού μεταβολισμού (αδυναμική οστική νόσο) (106).

Ιστολογικά, η νεφρική οστεοδυστροφία υψηλού μεταβολισμού, συχνά αναφερομένη και ως κυστική ινώδης οστεΐτιδα, χαρακτηρίζεται από αυξημένη έκκριση παραθορμόνης, αυξημένο αριθμό οστεοβλαστών, αυξημένο σχηματισμό νέου οστού και αυξημένη συσσώρευση οστεοειδούς. Ταυτόχρονα, υπάρχει αυξημένος αριθμός της οποίας δεν έχει βρεθεί (108) οστεοκλαστών και αυξημένη οστική απορρόφηση(107). Εκτός των παραπάνω υπάρχει ίνωση του μυελού των σπογγωδών οστών, αιτιολογία

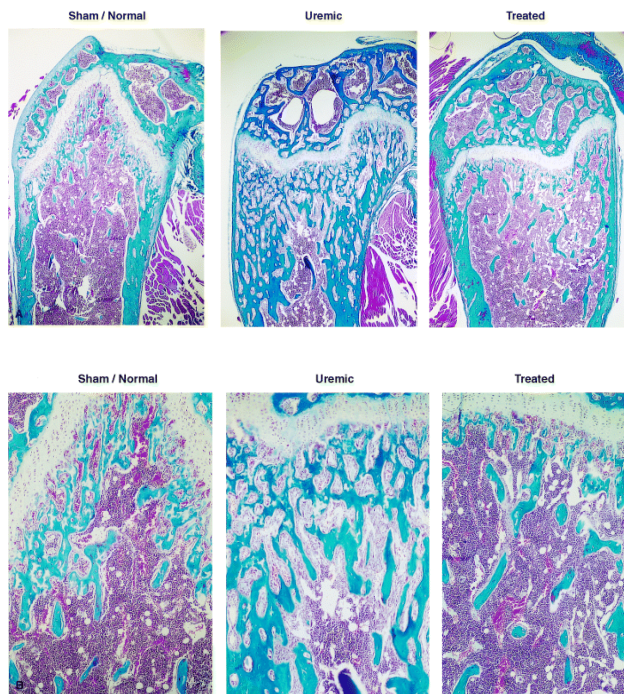
Σε φυσιολογικές συνθήκες, οι ινοβλάστες του μυελού των οστών πιθανόν προέρχονται από πολυδύναμα μεσεγχοματικά κύτταρα που δίνουν γένεση σε

έναν αριθμό συγκεκριμένων κυτταρικών σειρών που περιλαμβάνουν λιποκυτταρα, μυϊκά κύτταρα, οστεοβλάστες καθώς και ινοβλάστες ΄Στην νεφρική οστεοδυστροφία υψηλού μεταβολισμού, υπάρχει διαταραχή των παθογενετικών οδών που οδηγούν σε διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και ινοβλαστών με αποτέλεσμα αυξημένη άθροιση των κυττάρων του μυελού των οστών που εκκρίνουν κολλαγόνο.

Οι οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs) είναι ρυθμιστές-κλειδιά της ανάπτυξης των οστεοβλαστών ευνοώντας την ανάπτυξη τους από προγονικά κύτταρα . Η κυριότερη οστική μορφογενετική πρωτεΐνη, η BMP-7 με την υψηλότερη έκφραση στον νεφρό έχει δείξει ότι επάγει την ανάπτυξη και διαφοροποίηση των οστεοβλαστών , γεγονός που δηλώνει πιθανό σημαντικό ρόλο της BMP-7 έναντι του δευτεροπαθούς υπερπαραθυρεοειδισμού όπως θα εκτεθεί παρακάτω.

Η ιστολογική ανάλυση των οστικών τεμαχίων έδειξε ότι πειραματόζωα με ΧΝΝ ανέπτυξαν σημαντική οστεοδυστροφία. Στα οστά ποντικών με δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό της ΧΝΝ υπήρχε λιγότερο φλοιώδες οστόν συγκρινόμενο με ομάδα ελέγχου (109), αυξημένο σπογγώδες οστόν και ελλατωμένος μυελός των οστών . Επιπλέον, υπήρχε επακόλουθη ίνωση του μυελού των οστών που περιέβαλλε το σπογγώδες οστόν με ινώδη κύτταρα να συναθροίζονται στον μυελό των οστών. Τα πειραματόζωα με δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό που ελάμβαναν BMP-7 διέφεραν στο ότι σε σχέση με τα αντίστοιχα χωρίς BMP-7 οι παρατηρούμενες μεταβολές του σπογγώδους οστού, του φλοιώδους οστού όπως και η ίνωση του μυελού ήταν πολύ μικροτέρου βαθμού (Εικ.14).





**Εικ.14:** Αποτέλεσμα της BMP-7 στην ιστολογία του οστού με ποντίκια με δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό με ΧΝΝ. Αντιπροσωπευτικά οστικά τεμάχια από την πρόσθια επιφάνεια κνήμης από ποντίκια ομάδας ελέγχου, ποντίκια με δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό της ΧΝΝ και ποντίκια με δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό της ΧΝΝ με χορηγουμένη BMP-7 (×50 και ×100 μεγέθυνση σε Α και Β, αντιστοίχως). Σημειώνεται το αυξημένο σπογγώδες οστόν (μπλέ) και ο ελατωμένος μυελός οστών (κόκκινο) καθώς και η ίνωση του μυελού των οστών στα ποντίκια με ΧΝΝ χωρίς BMP-7. Οι αντίστοιχες ιστολογικές ανωμαλίες ήταν πολύ μικροτέρου βαθμού

Η νεφρική οστεοδυστροφία υψηλού μεταβολισμού (δευτεροπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός) χαρακτηρίζεται από σημαντικά αυξημένη επιφάνεια οστεοειδούς α), αυξημένη επιφάνεια οστεοκλαστών, αυξημένη διαβρωμένη επιφάνεια του οστού και αυξημένο αριθμό οστεοκλαστών. Επιπλέον, ο δευτεροπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός χαρακτηρίζεται από ελατωμένη επιφάνεια μεταλλοποίησης και ελατωμένο περίοστεο.

Η εξωγενής χορήγηση BMP-7 (109) φαίνεται να αύξησε την επιφάνεια των οστεοβλαστών , και να ελλάτωσε την διαβρωμένη επιφάνεια του οστού . Επιπλέον η BMP-7 σχεδόν ανέστειλε την σημαντική αύξηση της επιφάνειας και του αριθμού των οστεοκλαστών .Ταυτόχρονα η BMP-7 μετέβαλε την μεταλλοποίηση του σπογγώδους οστού αυξάνοντας την επιφάνεια μεταλλοποίησης, την επιφάνεια του περιostίου και την επιφάνεια του οστεοειδούς ενώ αυξάνει τον ρυθμό σχηματισμού νέου οστού .

Τέλος , μιά σημαντική ίνωση του μυελού του σπογγώδους οστού είναι παρούσα στα πειραματόζωα με δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό η οποία προλαμβάνεται (σχεδόν αναστέλλεται) σε μεγάλο βαθμό με τη χορήγηση BMP-7.

#### - **BMP-7 και αδυναμική οστική νόσος**

Η νεφρική οστεοδυστροφία χαμηλού μεταβολισμού συνίσταται στην έλλειψη της ικανότητας παραγωγής και μεταλλοποίησης οστικής θεμέλιας ουσίας και έχει δύο κύριες ιστολογικές μορφές: την οστεομαλακία και την αδυναμική οστική νόσο (AON). Η AON είναι μια σημαντική επιπλοκή της ΧΝΑ που χαρακτηρίζεται από υψηλή συχνότητα οστικών καταγμάτων , διαταραχές σκελετικής ανάπτυξης και αυξημένη πιθανότητα αγγειακών ασβεστώσεων (110).

Σύμφωνα με τις περισσότερες θεωρίες που ισχύουν σήμερα η αυξημένη καταστολή της έκκρισης PTH θεωρείται η βασική αιτία εμφάνισης της AON . Έχει βρεθεί ότι η ΧΝΑ ελλατώνει τους σκελετικούς αναβολικούς παράγοντες, διεγείρει τους αναστολείς της λειτουργίας των οστεοβλαστών ή κάνει και τα δύο ταυτόχρονα (111). Η AON εμφανίζεται όταν τα επίπεδα της PTH είναι σε καταστολή σε αιμοκαθαιρομένους ασθενείς με υψηλό ασβέστιο διαλύματος αιμοκάθαρσης και θεραπεία με ενδοφλέβια καλσιτριόλη (111). Το ουραιμικό οστού αντιστέκεται στην δράση της PTH που ορίζεται ως η έκκριση του ασβεστίου από τον σκελετό μετά την χορήγηση PTH (110) . Πάντως, η PTH θεωρείται φτωχός δείκτης οστεοβλαστικής διαφοροποίησης και η αυξημένη

έκκριση PTH οδηγεί σε συσσώρευση ινώδους κυτταρικού ιστού στο σπογγώδες οστό και αυξημένη οστική παραγωγή αλλά και ταυτόχρονα μεγαλύτερη οστική καταστροφή. Συνεπώς στη ΧΝΑ και στην ΧΝΑ-ΤΣ η PTH δεν είναι ικανοποιητικός αναβολικός δείκτης και γι αυτό έχουν γίνει πειραματικές μελέτες με την BMP-7 ως φυσιολογικού αναβολικού παράγοντα για την θεραπεία της αδυναμικής οστικής νόσου (112).

Στις παραπάνω μελέτες δημιουργήθηκε ένα πειραματικό μοντέλο χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας με σύντηξη του ενός νεφρού και ετερόπλευρη νεφρεκτομή και στην συνέχεια τα πειραματόζωα υπεβλήθησαν σε περιορισμό της πρόσληψης φωσφόρου για την πρόληψη της υπερφωσφαταιμίας και σε χορήγηση καλσιτριόλης για την πρόληψη της ανεπάρκειας καλσιτριόλης δημιουργώντας ένα μοντέλο χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας που συνίσταται σε περιορισμό του φωσφόρου και χορήγηση καλσιτριόλης. Σε αυτό το πειραματικό μοντέλο πρέπει να σημειωθεί ότι ο ρυθμός οστικής παραγωγής, μεταλλοποίησης του οστού και της επιφάνειας των οστεοβλαστών ελατώνονται αποτελώντας ένα πειραματικό μοντέλο αδυναμικής οστικής νόσου (Εικ.15)

**Murine CKD with Adynamic Renal Osteodyst**



**Εικ.15: Αδυναμική οστική νόσος**

Στα συγκεκριμένα πειραματικά μοντέλα χρησιμοποιήθηκαν πέντε ομάδες πειραματοζώων ήτοι υγιή πειραματόζωα (sham), πειραματόζωα με χαμηλό φωσφορο(sham with low phosphate), πειραματόζωα με αδυναμική οστική νόσο και ΧΝΑ (adynamic) , πειραματόζωα με αδυναμική οστική νόσο, ΧΝΑ που χορηγείται BMP-7 ( adynamic BMP-7), πειραματόζωα με ΧΝΑ (CKD). Η

χορήγηση BMP-7 επέφερε μια τάση ελάτωσης της οστικής μάζας (bone volume) , του μεγέθους του σπογγώδους οστού (trabecular number) , του διαχωρισμού του σπογγώδους οστού ( trabecular separation ) ενώ δεν φάνηκε να μεταβάλλεται ο όγκος του οστεοειδούς (osteoid volume).

Στην ομάδα των πειραματοζώων με αδυναμική οστική νόσο υπάρχει σημαντική ελάτωση του αριθμού των οστεοβλαστών, της περιμέτρου των οστεοβλαστών ενώ υπάρχει αυξημένη οστεοκλαστική δραστηριότητα και ταυτόχρονη ελατωμένη οστεοβλαστική δραστηριότητα ενώ όταν σε αυτά χορηγείται BMP-7 φαίνεται μια τάση ελάτωσης της έκτασης των παραπάνω συμβάντων ..

Τέλος το κλειδί για την επίδραση της BMP-7 στην αδυναμική οστική νόσο φαίνεται να είναι η μείωση της οστικής παραγωγής και η επαναφορά της στο φυσιολογικό όταν στα πειραματόζωα με αδυναμική οστική νόσο χορηγηθεί BMP-7. Επίσης στα πειραματόζωα έχουμε μείωση των μονάδων οστικής ανακατασκευής που ενεργοποιούνται ανά μονάδα χρόνου (adjusted apposition rate) και η χορήγηση BMP-7 σε αυτά επαναφέρει το παραπάνω μέγεθος στα φυσιολογικά επίπεδα .

### **3.4.6: BMPs και αγγειακές ασβεστώσεις στην ΧΝΑ**

#### **-Εισαγωγή**

Οι αγγειακές ασβεστώσεις που συναντώνται στην ΧΝΑ και κυρίως στην ΧΝΑ τελικού σταδίου συνδέονται με μεγάλη νοσηρότητα και θνησιμότητα. Έχουν αναγνωριστεί τέσσερις τύποι αγγειακών ασβεστώσεων οι οποίοι περιλαμβάνουν τις ασβεστώσεις του έσω χιτώνα των αγγείων, τις ασβεστώσεις του μέσου χιτώνα των αγγείων, τις ασβεστώσεις των καρδιακών βαλβίδων και την αγγειακή καλσιφύλαξη. Οι ασβεστώσεις του μέσου χιτώνα των αγγείων που ονομάζεται επίσης αθηροσκληρυνση Mönckeberg, σχετίζεται με την ηλικία, την ύπαρξη διαβήτη και τη χρόνια νεφρική ανεπάρκεια (ΧΝΑ). Η παθοφυσιολογία των

ασβεστώσεων μπορεί να διαφέρει ανάλογα με τον τύπο των ασβεστώσεων, αλλά η εξέταση των ασβεστωμένων αγγείων κατέδειξε πολλές ομοιότητες μεταξύ των ασβεστώσεων του έσω και του μέσου χιτώνα των αγγείων. Πρόσφατα, η εξέταση των ασβεστωμένων αγγείων σε ασθενείς οδήγησε στην ανακάλυψη της έκφρασης των οστεοβλαστικών μεταγραφικών παραγόντων Runx2/Cbfa1, Osterix και *MSX2* καθώς και του χονδροκυτταρικού μεταγραφικού παράγοντα του Sox9 (113). Επιπλέον, αυτά τα ασβεστοποιημένα αγγεία επίσης εμφάνιζαν αυξημένη έκφραση πρωτεϊνικών δεικτών οστεογένεσης και χονδρογένεσης (113). Σε πειραματικά μοντέλα βρέθηκε ότι η έκφραση των παραπάνω μεταγραφικών παραγόντων είναι αναγκαία για τον σχηματισμό νέου οστού (114). Τα παραπάνω ευρήματα οδήγησαν στην παρατήρηση ότι οι αγγειακές ασβεστώσεις ρυθμίζονται εν μέρει από μια διαδικασία παρόμοια με τον σχηματισμό νέου οστού (114).

Υπάρχουν 2 τύποι οστικού σχηματισμού : η ενδοχόνδρια οστεοποίηση η οποία περιλαμβάνει τον σχηματισμό ενδοχόνδριου οστού και διαμέσου χόνδρου και η ενδομεμβρανώδης οστεοποίηση η οποία περιλαμβάνει άμεση διαφοροποίηση των μεσεγχυματικών κυττάρων σε οστεοβλάστες. Επιγραμματικά στις αγγειακές ασβεστώσεις φαίνεται να διαδραματίζεται το γεγονός κατά το οποίο κύτταρα με φαινότυπο οστεοβλαστών να επιμεταλλώνουν μια συγκεκριμένου τύπου εξωκυττάρια -παρόμοια με την οστική θεμέλια- ουσία. Οι ασβεστώσεις του έσω χιτώνα των αγγείων μοιάζουν σαν διαδικασία με την ενδοχόνδρια οστεοποίηση ενώ οι ασβεστώσεις του μέσου χιτώνα μοιάζουν αντιστοίχως με την ενδομεμβρανώδη οστεοποίηση.

Η προέλευση των κυττάρων που μοιάζουν με οστεοβλάστες είναι αμφισβητούμενη. Μία πιθανότητα είναι να προέρχονται από το ίδιο το αγγειακό τοίχωμα. Σε καλλιέργειες κυττάρων μέσου χιτώνα βοείου αορτής βρέθηκε ότι κάποιοι υποπληθυσμοί αυτών των κυττάρων αυτομάτως ασβεστοποιούνται (115). Αυτά τα κύτταρα ονομάστηκαν ασβεστοποιημένα αγγειακά κύτταρα (CVCs-calcifying vascular cells). Τα συγκεκριμένα κύτταρα έχουν την δυνατότητα να δίνουν πολλαπλές μεσεγχυματικές κυτταρικές σειρές περιλαμβανομένων και οστεοβλαστών (116).

Άλλοι ερευνητές έχουν προτείνει ότι η μετανάστευση περικυτάρων ή μυοινοβλαστών μέσα στο αγγειακό τοίχωμα ευθύνεται για τον επιμεταλλωμένο κυτταρικό πληθυσμό που εμφανίζεται στις ασβεστώσεις του μέσου χιτώνα των αρτηριών στον διαβήτη. Αν και η έρευνα για τον επιμεταλλωμένο κυτταρικό πληθυσμό συνεχίζεται είναι απαραίτητο να κατανοηθεί το ερέθισμα που οδηγεί σε αυτόν. Ένα πιθανό ερέθισμα είναι οι οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs) που θεωρούνται από τους πιο σπουδαίους αναβολικούς παράγοντες της οστεοποίησης και ρυθμιστές της οστικής επιμετάλλωσης. Από τα παραπάνω είναι φανερό ότι μπορεί να θεωρηθεί ότι οι BMPs μπορούν να παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθοφυσιολογία των αγγειακών ασβεστώσεων. Παρόλο ότι η παραπάνω υπόθεση είναι υπό διερεύνηση, υπάρχουν σοβαρές ενδείξεις -όπως θα αναλυθεί παρακάτω- ότι οι BMPs και κυρίως η BMP-2 και η BMP-7 που έχουν από όλες μελετηθεί καλύτερα σχετίζονται με την παθοφυσιολογία των αγγειακών ασβεστώσεων.

### **- BMP-2 και αγγειακές ασβεστώσεις**

Τα λεία μυϊκά κύτταρα των αγγείων (vascular smooth muscle cells- VSMCs) σε φυσιολογικές συνθήκες εδρεύουν στον μέσο χιτώνα του τοιχώματος των αγγείων σε ένα καθεστώς διαφοροποίησης όπου με την σύσπασή τους ρυθμίζουν τον αγγειακό τόνο. Πάντως ο φαινότυπος των VSMCs χαρακτηρίζεται από την ικανότητά τους να εισέρχονται σε ένα αναστρέψιμο καθεστώς υπερπλασίας και ταυτόχρονης παραγωγής εξωκυτταρίου ουσίας(117). Η μετάβαση σε αυτό το καθεστώς σχετίζεται με απώλεια δεικτών συσπαστικότητας των λείων μυϊκών κυττάρων (smooth muscle cells- SMC) (118). Αυτή η μετάβαση θεωρείται ότι παίζει ρόλο στην παθογένεια της αθηροσκλήρωσης και της αθηροσκλήρωσης Mönckeberg επειδή και οι δύο σχετίζονται με ελατωμένη έκφραση των SMC δεικτών σε αθηροσκληρωτικές πλάκες και περιοχές ασβεστώσεων. Οι BMP-2, BMP-4 και BMP-6 ανευρίσκονται σε περιοχές των αγγειακών ασβεστώσεων με

την BMP-2 να έχει μελετηθεί καλύτερα ο ρόλος της στην παραπάνω μετάβαση (114,117).

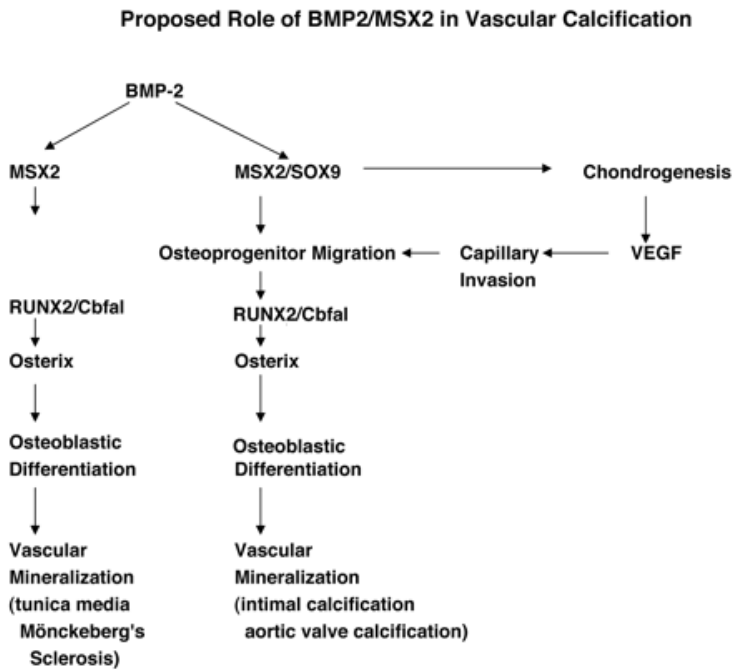
Έχει δειχτεί ότι η BMP-2 αναστέλλει την υπερπλασία των λείων μυικών κυττάρων των αγγείων όταν διεγείρεται από αυξητικούς παράγοντες *in vitro* (119). Η αναστολή της παραπάνω υπερπλασίας μπορεί εν μέρει να προκαλείται από αναστολή των κινασών σχετιζομένων με τη κυκλίνη από την p21 και στην επακόλουθη διακοπή του κυτταρικού κύκλου (120). Παρόλα αυτά, η BMP-2 ελλιώνει την έκφραση των SMC δεικτών *in vitro* μετά την επαγωγή της αναστολής της κυτταρικής αύξησης (120). Τα παραπάνω δείχνουν ότι η BMP-2 μπορούν να έχουν διάφορα αποτελέσματα στα λεία μυικά κύτταρα των αγγείων *in vitro* που εξαρτάται από το καθεστώς υπερπλασίας. Μια άλλη πιθανότητα είναι ότι τα αποτελέσματα της δράσης της BMP-2 είναι συνέπειες μιάς σειράς γεγονότων. Δηλαδή, την στιγμή που η BMP-2 επάγει την διακοπή του κυτταρικού κύκλου, περαιτέρω έκθεση στην BMP-2 καταλήγει σε απώλεια των SMC δεικτών και στην έκφραση ενός γονιδίου οστεοβλαστικού προφίλ πιθανά σχετιζομένου με την διέγερση του Msx2, ενός μεταγραφικού παράγοντα που προάγει τη έκφραση των οστεογεννητικών γονιδίων που κωδικοποιούν την αλκαλική φωσφατάση, την οστεοποντίνη κ.τ.λ (120)

Οι δράσεις της BMP-2 πιθανόν αυξάνουν την απόπτωση. Μελέτες έχουν δείξει ότι η ρύθμιση του κυτταρικού κύκλου από την p21 είναι στενά συνδεδεμένη με τον κυτταρικό θάνατο και απόπτωση (120)

Η απόπτωση εμφανίζεται να είναι βασικός παράγοντας για την έναρξη και συντήρηση των ασβεστώσεων των CVCs (120). Όχι μόνο η απόπτωση εμφανίζεται να αυξάνει τον σχηματισμό ασβεστωμένων όζων στα CVCs αλλά και η αναστολή της απόπτωσης εμφανίζεται να ελλιώνει τις ασβεστώσεις *in vitro*. Η απόπτωση παίζει ρόλο στις ασβεστώσεις ενώ δεν έχει γίνει πλήρως σαφής ο ρόλος της απόπτωσης που επάγεται από την δράση της BMP-2.

Η BMP-2 εκφράζεται από κύτταρα σε αθηροσκληρωτικές βλάβες και σε μυοινοβλάστες και κύτταρα του μέσου χιτώνα (121). Η επαγωγή της BMP-2 των αγγείων μπορεί να σχετίζεται με οξειδωτικό στρες, φλεγμονή και υπεργλυκαιμία .

Η BMP-2 είναι ένας ισχυρός οστικός μορφογενετικός παράγοντας που η έκφρασή της μπορεί να επιδρά σε μεταγραφικά προγράμματα σε όλο το αγγειακό δίκτυο. Η BMP-2 επάγει από κοινού τους Msx-2 και Runx/Cbfa1 στα VSMCs (Εικ.16). Ο Msx-2 απαιτείται για την ενδομεμβρανώδη οστεοποίηση και ο Cbfa1 είναι βασικός στην διαφοροποίηση των οστεοβλαστών, στην ενδοχόνδρια οστεοποίηση και στην νεοαγγείωση (121).



*Εικ.16: Πιθανός ρόλος της BMP2/MSX2 στις αγγειακές ασβεστώσεις. Η BMP2 μπορεί να διεγείρει ένα πλάνο παρόμοιο με ενδομεμβρανώδη οστεοποίηση ή ένα πλάνο παρόμοιο με τη ενδοχόνδρια οστεοποίηση, η διαφορά έγκειται στο ότι εάν ενεργοποιείται ή όχι ο SOX9.*



Ο ρόλος της BMP-2 στις αγγειακές ασβεστώσεις μπορεί να ρυθμιστεί από τις δράσεις της Gla πρωτεΐνης (matrix Gla protein- MGP) που είναι αναστολέας των ασβεστώσεων (122). Επίσης, τα VSMCs προερχόμενα από αορτές ποντικών με έλλειψη Gla πρωτεΐνης εμφάνιζαν χονδροποιητική και οστεοποιητική διαφοροποίηση όταν ήταν υπο θεραπεία με BMP-2, ενώ τα VSMCs της ομάδας ελέγχου δεν τα εμφάνιζαν (123).

Επειδή η BMP-2 έχει μόνο περιγραφεί σε ασβεστωμένα αγγεία, οι αγγειακές ασβεστώσεις μπορούν να συμβούν με δράση της BMP-2, εν μέρει δευτεροπαθώς στην απώλεια της έκφρασης της MGP. Παρόμοια είναι τα αποτελέσματα που συμβαίνουν με την αναστολή της δράσης του γονιδίου του Smad 6 (123). Πιο συγκεκριμένα, η παρακάλυψη της λειτουργίας του Smad 6 δημιούργησε αορτική οστεοποίηση και υπέρταση σε ενήλικα ποντίκια. Οι αγγειακές ασβεστώσεις συνέβησαν σε περιοχές όπου η έκφραση του Smad 6 ήταν σε φυσιολογικά επίπεδα γεγονός που δείχνει ότι η δράση μελών της υπερικογένειας των TGF-β όπως αυτές είναι οι BMPs μπορούν να οδηγήσουν σε δημιουργία αγγειακών ασβεστώσεων. Επιπροσθέτως, οι αγγειακές ασβεστώσεις που σχετίζονται με τον Smad 6 και την έλλειψη του MGP επέφεραν μεταπλασία του συζευκτικού χόνδρου οδηγώντας στην θεώρηση ότι οι BMPs ίσως επιφέρουν αλλαγές στον φαινότυπο των VSMCs.

### **-BMP-7 και αγγειακές ασβεστώσεις**

Η BMP-7, σε αντίθεση με την BMP-2, έχει δείξει ότι προάγει την ανάπτυξη του φαινοτύπου των VSMCs(124). Αυτό συμβαίνει λόγω της επαγωγής του p21 καθώς και αυξημένης ρύθμισης των ανασταλτικών Smad 6 και 7. Φαίνεται να είναι δύσκολο να δεχθεί κανείς πως δύο τόσο συγγενικές πρωτεΐνες μεταξύ τους η BMP-2 και η BMP-7 που χρησιμοποιούν ίδιους ή παρόμοιους υποδοχείς και ενεργοποιούν τις ίδιες ρυθμιστικές Smads θα μπορούσαν να έχουν τόσο διαφορετικά αποτελέσματα στα VSMCs. Όλα δείχνουν ότι υπάρχουν πολλαπλοί μηχανισμοί των δράσεων των BMP-2 και BMP-7 στα VSMCs που χρειάζεται να

διαλευκανθούν. Κάποιοι από αυτούς περιλαμβάνουν την endoglin (ένας τύπου III TGFβ υποδοχέας), που συνδέεται με τη BMP-2 και όχι με την BMP-7, ένας άλλος πιθανόν είναι μια πρόσφατα ανακαλυφθείσα μορφή υποδοχέων των BMPs που είναι ειδικό είτε για την μία είτε για την άλλη BMP, ενώ ένας τρίτος μηχανισμός αφορά ένα σύμπλεγμα υποδοχέων ευαίσθητο μόνο στην μία ή μόνο στην άλλη BMP.

Συνεπώς από τα παραπάνω μπορεί να θεωρηθεί ότι μεμονωμένα Smad σήματα με εξειδίκευση για τις BMPs μπορεί να αποτελούν την βάση για την εξήγηση των διαφορετικών δράσεων των BMPs στα VSMCs στις αγγειακές ασβεστώσεις στην ΧΝΑ.

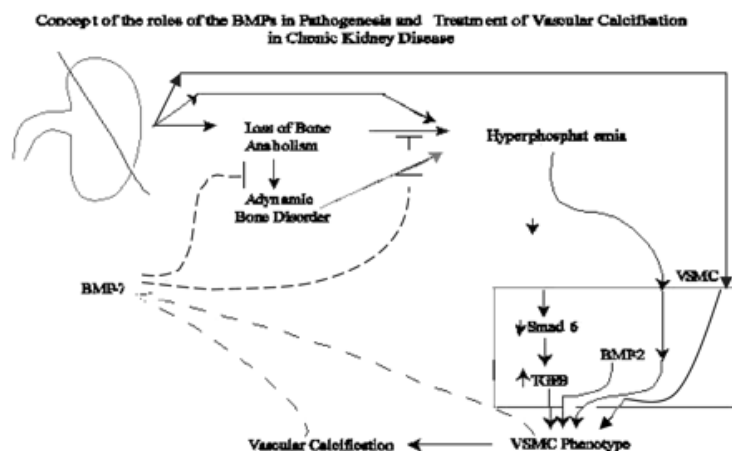
Σε μια αναδρομική μελέτη (125), εξετάστηκαν τα αποτελέσματα της ΧΝΑ στις αγγειακές ασβεστώσεις σε γενετικά ανασυνδυασμένα ποντίκια με έλλειψη του υποδοχέα της λιποπρωτεΐνης χαμηλής πυκνότητας (LDLR  $-/-$ ) που ήταν σε δίαιτα πλούσια σε λιπαρά. Τα ποντίκια ανέπτυξαν διαβήτη, παχυσαρκία, σημαντική αθηροσκλήρυνση και αγγειακές ασβεστώσεις. Τα συγκεκριμένα ποντίκια υπεβλήθησαν σε 5/6 νεφρεκτομή, ανέπτυξαν ΧΝΑ και εξετάστηκαν τα αποτελέσματα των αγγειακών ασβεστώσεων.

Τα LDLR  $-/-$  ποντίκια με δίαιτα υψηλή σε λιπαρά που ήταν σε ΧΝΑ ανέπτυξαν πιο εκτεταμένες αγγειακές ασβεστώσεις του έσω και του μέσου χιτώνα των αγγείων σε σχέση με τα αντίστοιχα ποντίκια χωρίς ΧΝΑ. Στην συνέχεια, έδειξαν ότι η δίαιτα υψηλή σε λιπαρά σε LDLR  $-/-$  ποντίκια χωρίς ΧΝΑ έχει σαν αποτέλεσμα αύξηση του φωσφόρου και ότι η ΧΝΑ επιδεινώνει την υπερφωσφαταιμία. Ο αυξημένος φώσφορος πιθανόν αποτελεί τον συνδετικό κρίκο ανάμεσα στις αγγειακές ασβεστώσεις και στα LDLR  $-/-$  ποντίκια που ήταν σε δίαιτα υψηλή σε λιπαρά. Επίσης, σε *in vitro* μελέτες έχειδειχτεί ότι ο φώσφορος αυξάνει τις ασβεστώσεις των VSMCs τα οποία στην συνέχεια υφίστανται οστεογενετική διαφοροποίηση (146). Η συγκεκριμένη φαινοτυπική μεταβολή που ενισχύεται από τον φώσφορο εμφανίζεται να εμπλέκει έναν νάτριο-φώσφορο συμμεταφορέα (Pit-1) (146) Αξίζει να σημειωθεί ότι δεν είναι

μέχρι σήμερα γνωστό εάν ο φώσφορος ενισχύει τη έκφραση της BMP-2 στις αγγειακές ασβεστώσεις στα VSMCs

Οι αυξήσεις του φωσφόρου ορού στα LDLR  $-/-$  ποντίκια που ήταν σε δίαιτα υψηλή σε λιπαρά με ή χωρίς ΧΝΑ πιθανόν συμβαίνουν ως αποτέλεσμα μεταβολών της οστικής ανακατασκευής ενώ έχειδειχτεί ότι η δίαιτα υψηλή σε λιπαρά ελατώνει σημαντικά την οστική παραγωγή, μια διαδικασία που επιδεινώνεται στη ΧΝΑ παρόλη την ανάπτυξη του δευτεροπαθούς υπερπαραθυρεοειδισμού, που σημαίνει με άλλα λόγια ότι τα LDLR  $-/-$  ποντίκια που ήταν σε δίαιτα υψηλή σε λιπαρά με ΧΝΑ έχουν την αδυναμική οστική νόσο

Επιπλέον, η θεραπεία των LDLR  $-/-$  ποντικίων που ήταν σε δίαιτα υψηλή σε λιπαρά με BMP-7 επαναφέρει την οστική ανακατασκευή σε φυσιολογικές συνθήκες, αναστρέφοντας την υπερφωσφαταιμία χωρίς μεταβολή της νεφρικής απέκκρισης του φωσφόρου και προλαμβάνει ή ακόμη και αναστρέφει τις αγγειακές ασβεστώσεις (125). Η ελάτωση του φωσφόρου ορού με χρήση φωσφοροδεσμευτικών επίσης ελατώνει σε σημαντικό βαθμό τις αγγειακές ασβεστώσεις αλλά όχι στον βαθμό που το κάνει η BMP-7. Συνεπώς, η BMP-7 μπορεί εν μέρει να εμποδίσει την ανάπτυξη των αγγειακών ασβεστώσεων στα LDLR  $-/-$  ποντίκια που ήταν σε δίαιτα υψηλή σε λιπαρά λόγω ελατώσεως του φωσφόρου ορού μέσω αυξημένης σκελετικής εναπόθεσης φωσφόρου (Εικ.17). Τέλος σε αυτό το πειραματικό μοντέλο βρέθηκε μια σημαντική αντιστρόφως ανάλογη σχέση μεταξύ του ρυθμού επιμετάλλωσης του οστού και των αγγειακών ασβεστώσεων της αορτής



*Εικ.17:Μηχανισμοί των αγγειακών ασβεστώσεων στην ΧΝΑ. Η ΧΝΑ προκαλεί ελάτωση του οστικού αναβολισμού και οδηγεί στην αδυναμική οστική νόσο και στην υπερφωσφαταιμία. Καθώς η ΧΝΑ εξελίσσεται, ελατώνεται η νεφρική απέκκριση φωσφόρου και επιτείνεται η υπερφωσφαταιμία. Τα παραπάνω δημιουργούν ερέθισμα που προκαλεί φαινοτυπικές μεταβολές στα VSMC και επομένως την ανάπτυξη των αγγειακών ασβεστώσεων . Η BMP-7 ελατώνει την απώλεια του οστικού αναβολισμού και της υπερφωσφαταιμίας. Η BMP-7 επίσης διεγείρει την αγγειοσύσπαση των VSMC και αναστέλλει τις αγγειακές ασβεστώσεις .*

Η σχέση μεταξύ αγγειακών ασβεστώσεων και της αδυναμικής οστικής νόσου στην ΧΝΑ είναι σημείο που αποκτά εξαιρετικό ενδιαφέρον στην σύγχρονη έρευνα. Μια σχετικά πρόσφατη μελέτη κατέδειξε σημαντική συσχέτιση ανάμεσα στην αδυναμική οστική νόσο και στις αγγειακές ασβεστώσεις (126). Αυτή η σχέση πιθανόν να βρίσκει μερική εξήγηση στην ανικανότητα του οστού να ρυθμίσει τα διαιτητικά φορτία ασβεστίου και φωσφόρου και μάλιστα το ασβέστιο έχει δείχτει ότι αυξάνει το Pit-1 mRNA στα VSMCs in vitro (127). Έτσι φαίνεται να κερδίζει έδαφος η υπόθεση ότι το αδυναμικό οστόύν μπορεί παρομοίως να καθίσταται ανίκανο να ρυθμίσει τον φώσφορο ορού προάγοντας την ανάπτυξη αγγειακών ασβεστώσεων. Έτσι λοιπόν από τα παραπάνω γίνεται σαφές ότι η BMP-7 μπορεί να εμποδίσει την ανάπτυξη των αγγειακών ασβεστώσεων μέσω αύξησης της

αγγειοσύσπασης των VSMCs, αυξημένης ρύθμισης των ανασταλτικών Smad και στην δε περίπτωση της ΧΝΑ και της αδυναμικής οστικής νόσου μια αυξημένη ικανότητα ρύθμισης του φωσφόρου ορού και του ασβεστίου που προέρχεται από τον σκελετό (Εικ.17).

## 3.5 ΟΙ BMPs ΣΕ ΑΛΛΕΣ ΝΟΣΟΥΣ ΤΩΝ ΝΕΦΡΩΝ

### 3.5.1: BMP-7 και αποφρακτική νεφροπάθεια

Η αποφρακτική νεφροπάθεια (ουροπάθεια) είναι από τις πιο συχνές αιτίες νεφρικής βλάβης και χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας . Ενώ οι πρόσφατες χειρουργικές τεχνικές είναι ικανές να λύσουν τις αποφράξεις του ουροποιητικού, η πιθανότητα εγκατάστασης μη αναστρέψιμης νεφρικής βλάβης ακόμη και με την λύση της απόφραξης είναι σχετικά υψηλή . Συνεπώς η ανάπτυξη στοχευμένων θεραπειών έναντι της νεφρικής βλάβης που ακολουθεί την απόφραξη του ουροποιητικού καθίσταται επιτακτική.

Σε πειραματικό μοντέλο ετερόπλευρης αποφρακτικής ουροπάθειας διαπιστώθηκε σημαντική μείωση της δράσης της BMP7 στον σύστοιχο νεφρό ενώ η συστηματική ανά διήμερο εξωγενής χορήγηση της rh BMP7 συνοδεύταν από μείωση της φλεγμονώδους αντίδρασης και ίνωσης στο διάμεσο χώρο, μείωση του βαθμού σωληναριακής ατροφίας και κυτταρικής απόπτωσης (98).

Ενώ η ανάπτυξη της νεφρικής βλάβης έχει γίνει καλά κατανοητή,η διαδικασία ανάκτησης της νεφρικής λειτουργίας που πρέπει να ακολουθηθεί είναι πολύ λιγότερο αποσαφηνισμένη. Ο ώριμος νεφρός έχει την ικανότητα από μόνος του να ανακτά την δομή και λειτουργία του μετά τη βλάβη αν και αυτή η ικανότητά του ελλιώνεται σε μεγάλο βαθμό μετά από πιο σοβαρή βλάβη (98). Είναι προφανές ότι κατανοώντας τις λειτουργίες που προάγουν την ανάκτηση της νεφρικής λειτουργίας και την ρύθμισή τους σε μοριακό επίπεδο ίσως θα είναι εφικτή η ανάπτυξη θεραπευτικών στρατηγικών που θα ενισχύσουν τους νεφρικούς μηχανισμούς βλάβης συνεπεία απόφραξης του ουροποιητικού.

Σε μοριακό επίπεδο, η ενεργοποίηση του TGF-β διαδραματίζει κεντρικό ρόλο στην παθογένεια της νεφρικής βλάβης προκαλώντας απόπτωση, τον

μετασχηματισμό από επιθηλιακό σε μεσεγχυματικό τύπο κυττάρων, αυξημένη σύνθεση εξωκυτταρίου υλικού και άλλα συμβάντα πρόδρομα της ινώσεως που οδηγούν σε διαταραχές της δομής και λειτουργίας του νεφρού . Επομένως η εξουδετέρωση του TGF-β πιθανόν να εμποδίζει την εξέλιξη της νεφρικής βλάβης συνεπεία απόφραξης ουροποιητικού (128). Η BMP-7 , που όπως ελέχθη παραπάνω, είναι μέλος της υπερικογενείας των TGF-β έχει την ιδιότητα να αναστέλλει τις βιολογικές λειτουργίες του TGF-β. Ο TGF-β και η BMP-7 έχουν εν μέρει διαφορετικές λειτουργίες αφού προάγουν την ενεργό φωσφορυλίωση διαφορετικών Smad πρωτεϊνών. Ο TGF-β ενεργοποιεί τις Smad 2/3 ενώ η BMP-7 ενεργοποιεί τις Smad 1/5/8 (128). Ενώ οι παθογενετικές οδοί των BMP-7 και TGF-β σημάτων φαίνεται να έχουν διαλευκανθεί σχεδόν πλήρως ο τρόπος με τον οποίο η BMP-7 ανταγωνίζεται την δράση του TGF-β στον νεφρό δεν έχει επαρκώς διερευνηθεί.

Η θεραπεία της αποφρακτικής νεφροπάθειας (ουροπάθειας) έγκειται στην αναστολή της νεφρικής ίνωσης, στην διόρθωση των λειτουργικών βλαβών του νεφρού και επομένως στην ανάκτηση της νεφρικής λειτουργίας που έχει προσβληθεί λόγω της απόφραξης του ουροποιητικού.

Σε μια πρόσφατη μελέτη , βρέθηκε ότι το σύμπλεγμα BMP-7–Smad1/5/8 ενεργοποιείται κατά την διάρκεια της ανάκτησης της νεφρικής λειτουργίας μετά την οξεία αναστρέψιμη βλάβη συνεπεία απόφραξης του ουροποιητικού. Πιο συγκεκριμένα, η ενεργοποίηση του συμπλέγματος BMP-7–Smad1/5/8 ενισχύει την λύση της νεφρικής ίνωσης και την ανάκτηση της αρχιτεκτονικής του νεφρού, ενώ φαίνεται ότι εκτός των νεφροπροστατευτικών δράσεων της BMP-7 –που έχουν εκτεθεί παραπάνω- το σύμπλεγμα BMP-7–Smad1/5/8 μπορεί να επιτείνει την διόρθωση των εγκατεστημένων βλαβών στον νεφρό στην διάρκεια της λύσης της απόφραξης (155). Είναι σημαντικό να τονιστεί ότι στην ίδια μελέτη (155) δεν είχαμε ιδιαίτερα θεραπευτικά αποτελέσματα από χορήγηση μόνο εξωγενούς BMP-7 έναντι της αποφρακτικής νεφροπάθειας και της ακόλουθης ανάκτησης της νεφρικής λειτουργίας σε αντίθεση με παλιότερες μελέτες (128) όπου δεν λαμβανόταν υπόψη η ύπαρξη του συμπλέγματος BMP-7–Smad1/5/8 .

Σε μοριακό επίπεδο, η επαναφορά των επιπέδων της BMP-7 στα φυσιολογικά που ακολουθεί την διόρθωση της απόφραξης σχετίζεται με την ενεργοποίηση των πρωτεϊνών –στόχων τις Smad1/5/8. Η ενεργοποίηση αυτών των πρωτεϊνών ανταγωνίζεται τις δράσεις του TGF- $\beta$  στον προσβεβλημένο νεφρό μεσω αναστολής του σχηματισμού του συμπλέγματος TGF- $\beta$  Smad2/3 - Smad4 μεταγραφικού παράγοντα οπότε εμποδίζουν τη περαιτέρω εξέλιξη της νεφρικής βλάβης.

Από τα παραπάνω μπορεί να εξαχθεί το συμπέρασμα ότι η BMP-7 μπορεί να αποτελέσει θεραπευτικό παράγοντα έναντι της αποφρακτικής νεφροπάθειας όχι μόνο με την εξωγενή χορήγησή της αλλά και με την ενεργοποίηση του συμπλέγματος BMP-7–Smad1/5/8 που επιτείνει την ανάκτηση της νεφρικής λειτουργίας που έχει προσβληθεί από την απόφραξη του ουροποιητικού. Μελλοντικές έρευνες ασφαλώς και απαιτούνται προς τη ανάδειξη της παραπάνω κατεύθυνσης.

### **3.5.2: Η BMP-7 σε οξεία σπειραματονεφρίτιδα και στην νεφρίτιδα του λύκου**

Σε μοντέλο πρόκλησης σπειραματονεφρίτιδας (129) μετά από χορήγηση νεφροτοξικού ορού διαπιστώθηκε ότι εξωγενής χορήγηση της ανθρώπινης ανασυνδυασμένης BMP-7 οδήγησε σε βελτίωση της νεφρικής λειτουργίας και περιορισμό της ίνωσης του σωληναριοδιαμέσου ιστού που οφείλεται στην αυξημένη παραγωγή του TGF – $\beta$ , και την ενεργοποίηση των Smad2 & Smad3 στον πυρήνα των κυττάρων και της  $\epsilon$  – καντχερίνης που παρεμβαίνει στη διαφοροποίηση των σωληναριακών επιθηλιακών κυττάρων σε μεσεγχυματικά κύτταρα.

Στο παραπάνω πειραματικό μοντέλο η BMP-7 φάνηκε να περιορίζει και την προϋπάρχουσα ίνωση του διαμέσου ιστού. Μειωμένη δραστηριότητα της BMP-7 διαπιστώθηκε στα επιθηλιακά σωληναριακά κύτταρα σε ποντικούς με έλλειψη της  $\alpha 3$  –αλυσίδα τύπου IV κολλαγόνου και σε ποντικούς με MRL λύκο κατά την διάρκεια της εξέλιξης της νεφρικής νόσου (130).



Η εξωγενής χορήγηση ανασυνδυσασμένης BMP-7 οδήγησε σε βελτίωση της νεφρικής λειτουργίας και περιορισμό της διάμεσης ίνωσης και σωληναριακής ατροφίας.

Μειωμένη παραγωγή κολλαγόνου τύπου I και ινονεκτίνης και αυξημένη δραστηριότητα της μεταλλοπρωτεϊνάσης-2 (MMP2) διαπιστώθηκαν με τη χορήγηση BMP-7.

### **3.5.3 BMP-7 και υπερτασική νεφροσκλήρυνση**

Η BMP-7 ασκεί νεφροπροστατευτική δράση όπως έχει δείχτεί παραπάνω σε μοντέλα οξείας και χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας αλλά επίσης φαίνεται ενδιαφέρων και ένας ανάλογος ρόλος της στην υπερτασική νεφροσκλήρυνση.

Όπως έχει λεχθεί στα προηγούμενα κεφάλαια, η BMP-7 στον φυσιολογικό νεφρό εκφράζεται κυρίως στο επιθήλιο του άπω σωληναρίου, στα αθροιστικά σωληνάκια και λιγότερο στο εγγύς σωληνάριο. Στην υπερτασική νεφροσκλήρυνση, η εντόπιση της BMP-7 δεν αλλάζει αλλά φαίνεται να υπάρχει σημαντική ελάτωση της έκφρασης της όπως αυτή έχει προσδιοριστεί με ανοσοφθορισμό και real-time PCR (131).

Η χορήγηση αναστολέα των υποδοχέων της αγγειοτασίνης II τελμισαρτάνης επέφερε αύξηση της έκφρασης της BMP-7 στους νεφρούς γεγονός που εξηγεί εν μέρει τα νεφροπροστατευτικά αποτελέσματα των συγκεκριμένων φαρμάκων (131). Τα παραπάνω έρχονται σε ευθεία συμφωνία και με άλλες μελέτες αν και σε αυτές οι ερευνητές είχαν επικεντρωθεί κυρίως στην ελάτωση των φλεγμονωδών κυτοκινών και λιγότερο στο τι συμβαίνει με τους αυξητικούς παράγοντες συνεπεία της δράσης της τελμισαρτάνης .

Από τα παραπάνω –αν και ακόμη απαιτούνται περισσότερες μελλοντικές μελέτες- φαίνεται ότι στην υπερτασική νεφροσκλήρυνση υπάρχει ελατωμένη έκφραση της BMP-7 που πιθανόν επιφέρει απώλεια της νεφροπροστασίας και της αναγεννητικής δυναμικής του νεφρού συνθήκες απαραίτητες για την καταπολέμηση της συγκεκριμένης νόσου. Η ελάτωση της έκφρασης της BMP-7 μπορεί εν μέρει να εμποδιστεί μετά την χορήγηση τελμισαρτάνης που είναι

αναστολέας της αγγειοτασίνης II, γεγονός που δημιουργεί κάποιες πρώτες ενδείξεις για πιθανό ρόλο της BMP-7 στο σύστημα ρενίνης-αγγειοτασίνης

### **3.5.4 BMP-5 και υπερτασική νεφροσκλήρυνση**

Όπως έχει λεχθεί σε προηγούμενα κεφάλαια, η BMP-5 έχει σημαντικό ρόλο στην νεφρογένεση αλλά σε πρόσφατη μελέτη βρέθηκε ότι έχει ρόλο και στην υπερτασική νεφροσκλήρυνση (132).

Πιο συγκεκριμένα προσδιορίστηκε η έκφραση της BMP-5 με ανοσοφθορισμό και real time PCR η οποία και βρέθηκε ιδιαίτερα ελλειπτική σε νεφρούς με υπερτασική νεφροσκλήρυνση. Η BMP-5 εντοπίστηκε κυρίως στο εγγύς σωληνάριο ενώ και η διέγερση των εγγύς σωληναριακών κυττάρων με TGF- $\beta$ , TNF- $\alpha$  και AT-II είχε σαν αποτέλεσμα σημαντική ελάττωση της έκφρασης της BMP-5 και των υποδοχέων της. Αξίζει να σημειωθεί ότι η BMP-5 καταστέλλει την EMT( μετασχηματισμός των επιθηλιακών σε μεσεγχυματικά κύτταρα στα σωληνάκια) που επάγεται από τον TGF- $\beta$  , την κυτταρική αποπτωση που επάγεται από τον TNF- $\alpha$  και εμφανίζει αντιφλεγμονώδεις δράσεις αφού εμποδίζει την συνάθροιση των μονοκυττάρων.

Συνεπώς από τα παραπάνω είναι φανερό ότι η BMP-5 εκφράζεται κυρίως στο εγγύς σωληνάριο, η δε μειωμένη της έκφραση στην υπερτασική νεφροσκλήρυνση σε συνδυασμό με τις αναγεννητικές της ικανότητες της στα εγγύς σωληναριακά κύτταρα πιθανόν δείχνουν κάποιο προστατευτικό της ρόλο έναντι της υπερτασικής νεφροσκλήρυνσης.

## 3.6 ΑΓΩΝΙΣΤΕΣ-ΑΝΤΑΓΩΝΙΣΤΕΣ ΤΩΝ BMPs ΚΑΙ ΝΕΦΡΟΣ

### 3.6.1: Αγωνιστές των BMPs και νεφρός

Η ευεργετική επίδραση της BMP-7 ευοδώνεται ή περιορίζεται από την παρουσία ορισμένων πρωτεϊνών. Αναφέρθηκε η USAG-1 mRNA αλλά πρόσφατα αναγνωρίστηκε και η kielin/chordin-like (KPC) που βελτιώνει την απελευθέρωση της BMP. Αντίθετα με την BMP-7 και το USAG-1, η KPC κυριαρχεί στα εγγύς σωληνάκια. Σε μοντέλο οξείας ανεπάρκειας και σε αποφρακτική νεφροπάθεια, η βαρύτητα της νεφρικής βλάβης ήταν μεγαλύτερη στα ποντίκια χωρίς KPC με χαρακτηριστικό τα χαμηλά επίπεδα των φωσφορυλιωμένων Smad 1 ως συνέπεια της μειωμένης δραστηριότητας της BMP- 7.

Η πρόσφατα αναγνωρισμένη πρωτεΐνη KCP δρα με παρακρινή τρόπο προωθώντας τους δεσμούς της BMP-7 με τους υποδοχείς της τύπου I και οδηγεί σε αύξηση της ενδοκυττάριας συγκέντρωσης του φωσφορυλιωμένου Smad 1 και της μεταγραφής των Smad1-διαμέσων μορφών. Πειραματόζωα με αδυναμία παραγωγής KCP είναι βιώσιμα, δεν εμφανίζουν νεφρική παθολογία , εμφανίζουν όμως μερικές διαφοροποιήσεις στην έκφραση των αναπτυξιακών ρυθμιστικών γονιδίων (133). Σε δυο πειραματικά μοντέλα νεφρικής βλάβης (ετερόπλευρη απόφραξη ουρητήρα και οξεία νεφρική ανεπάρκεια μετά από χορήγηση φολικού οξέος) τα πειραματόζωα αυτά παρουσίαζαν μειωμένα επίπεδα φωσφορυλίωσης της Smad1.

Σε πειραματόζωα με ετερόπλευρη απόφραξη ουρητήρα χωρίς αδυναμία παραγωγής της KCP παρατηρείται εκ νέου ρύθμιση της φωσφορορυλίωσης της Smad1 πράγμα το οποίο δεν συμβαίνει σε αυτά με αδυναμία παραγωγής KCP τα οποία εμφανίζουν σοβαρότερου βαθμού διάμεση ίνωση τόσο στον νεφρό με την ουρητηρική απόφραξη όσο και στον άλλο νεφρό. νεφρό. Σε όλα τα πειραματόζωα διαπιστώθηκε παρουσία μυο-ινοβλαστών, ινοβλαστών και

διαμεσο-σωληναριακή ίνωση περίπου ένα μήνα μετά την πρόκληση της βλάβης. Τα ευρήματα αυτά υποδηλώνουν κάποιο προστατευτικό ρόλο της πρωτεΐνης KCP η οποία συνδυάζεται με μειωμένα επίπεδα της BMP-7 και ενδεχομένως συμβάλει στην επαγωγή της BMP-7 και της πρόσδεσης με τους υποδοχείς τύπου I. Τα ευρήματα αυτά μπορούν να οδηγήσουν στην ανάπτυξη ειδικών θεραπευτικών μέσων για τον περιορισμό της ίνωσης, είτε μέσω προώθησης της δραστηριότητας της BMP είτε μέσω καταστολής της δράσης του TGF-β.

### **3.6.2: Ανταγωνιστές των BMPs και νεφρός**

Η χρήση των ειδικών ανταγωνιστών της BMP έχει συνεισφέρει στην κατανόηση του ρόλου της στη νεφρογένεση. Η γκρεμλίνη είναι μια πρωτεΐνη που ανταγωνίζεται τη δράση των BMP-2, BMP-4 και BMP-7 εμποδίζοντας τη δέσμευση και αλληλεπίδραση των BMPs με τους υποδοχείς τους(162).

Από πειραματικές μελέτες προκύπτουν ενδείξεις συμμετοχής της γκρεμλίνης στη νεφρογένεση, στη μετανεφρική ανάπτυξη για την δημιουργία του ουρητήρα αλλά και στην παθογένεση της διαβητικής νεφροπάθειας (134).

Η ανταγωνιστική δράση μεταξύ USAG-1 και BMP-7 στο επίπεδο θέσεων πρόσδεσης στους υποδοχείς φαίνεται να έχει ενδιαφέρον. Το USAG-1 δεσμεύεται άμεσα στα BMPs και αναστέλλει την δράση τους(135). Ο TGF-β μειώνει την έκφραση BMP-7 και *alk3*, αυξάνει την έκφραση της γκρεμλίνης και δεν αναστέλλει την επαγόμενη από την BMP-7 ενεργοποίηση των Smad 5 ή Erk 1,2 (135). Η εξουδετέρωση της BMP-7 σε καλλιέργειες των εγγύς σωληναριακών κυττάρων έχει ως συνέπεια την αυξημένη παραγωγή ινονεκτίνης και του κολλαγόνου III(135). Η αναγνώριση ρυθμιστικών πρωτεϊνών, όπως η USAG – 1, σχετιζόμενων με τη δράση της BMP –7, αποτελεί σημαντικό βήμα στην ανάπτυξη νέων παραγόντων για την προστασία των νεφρικών κυττάρων έναντι βλαπτικών ερεθισμάτων.

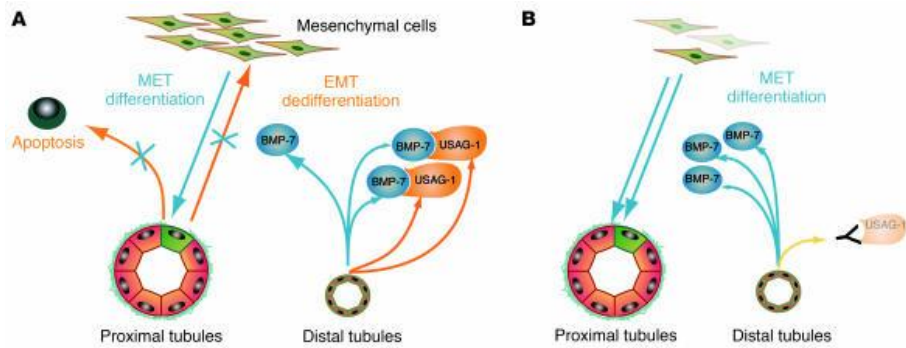
## **-BMP-7 και USAG-1 στις νεφρικές παθήσεις**

Σε μια σχετικά πρόσφατη μελέτη από τους Yanagita και συν.(136) διαπιστώθηκε ότι το γονίδιο USAG-1 (uterine sensitisation- associated gene – 1 ) εκφραζόταν στα άπω εσπειραμένα σωληναριακά κύτταρα στην ίδια περιοχή που παράγεται η BMP-7. Οι ερευνητές παρατήρησαν ότι USAG-1 knockout ποντίκια δεν παρουσίαζαν την αναμενόμενη νεφρική βλάβη μετά από προκαλούμενη οξεία νεφρική ανεπάρκεια ή ετερόπλευρη ουρητηρική απόφραξη (136), και αυτό οφειλόταν σε καλύτερη σηματοδότηση για παραγωγή BMP-7, επί πλέον διαπιστώθηκε ότι τα επίπεδα των φωσφορυλιωμένων Smads 1, 5 και 8 ήταν σημαντικά υψηλότερα στα ποντίκια που είχαν έλλειψη του USAG- 1 και ότι η ευνοϊκή επίδραση της εξάλειψης του USAG-1 δεν συνέχιζε να υφίσταται όταν η δράση της BMP-7 αποκλειόταν με τη χορήγηση εξουδετερωτικού αντισώματος.

Ο βαθμός απόπτωσης των επιθηλιακών σωληναριακών κυττάρων και της έκφρασης των  $\alpha$ -SMA (+) κυττάρων του διάμεσου χώρου όπως και τα επίπεδα έκφρασης των γονιδίων των TNF- $\alpha$  , ιντερλευκίνης-1 , MCP-1 (monocyte chemoattractant protein 1) και TGF  $-\beta$  ήταν σημαντικά μειωμένα.

Είναι αξιοσημείωτο ότι οι αλλαγές που παρατηρήθηκαν στο νεφρικό φλοιό και στα εγγύς σωληνάκια ήταν εντυπωσιακές, παρότι η παρουσία της BMP-7 περιορίστηκε στα σωληνάκια της μυελώδους μοίρας. Δεν είναι ακόμα γνωστή η ακριβής αλληλεπίδραση μεταξύ USAG-1 και BMP-7 αλλά υπάρχουν ενδείξεις ότι αυτή υφίσταται στο επίπεδο θέσεων πρόσδεσης στους υποδοχείς.

Με βάση τα ευρήματα των Yanagita και συν. (136) φαίνεται ότι το USAG-1 δρα ως ανταγωνιστής της BMP- 7 ενώ υπάρχουν ενδείξεις ότι η BMP-7 μπορεί να δράσει και ως μοριακή «παγίδα» για το USAG-1. Τα παραπάνω ευρήματα υπογραμμίζουν το σημαντικό ρόλο της BMP –7 στην εμφάνιση και εξέλιξη τόσο της οξείας όσο και της χρόνιας νεφρικής ανεπάρκειας(Εικ.18)



**Εικ.18 .Μοντέλο του ρόλου της BMP-7 και του USAG-1 στις νεφρικές παθήσεις.**

(Α)Στην νεφρική βλάβη ,τα επιθηλιακά κύτταρα του εγγύς σωληναρίου έχουν υποστεί βλάβη και έχουν υποβληθεί σε EMT παίρνοντας την μορφή μεσεγχυματικών κυττάρων, που μοιάζουν με ινοβλάστες. Η BMP-7 που εκκρίνεται στο άπω σωληνάριο αναστέλλει την EMT και την απόπτωση των επιθηλιακών κυττάρων του εγγύς σωληναρίου . Ο USAG-1 εκκρίνεται επίσης από το άπω σωληνάριο και συνδέεται με την BMP-7, αναστέλλοντας την νεφροπροστατευτική της δράση. (Β) Θεραπευτική εμπλοκή του USAG-1. Η μείωση της δραστηριότητας του USAG-1 για παράδειγμα , μέσω αντισώματος που την εξουδετερώνει αναστέλλει την πρόσδεση του USAG-1 στην BMP-7, με αποτέλεσμα την ενδυνάμωση της νεφροπροστατευτικής δράσης της BMP-7.

### 3.7 ΜΕΛΛΟΝΤΙΚΕΣ ΠΡΟΟΠΤΙΚΕΣ ΤΩΝ BMPs

Εκτός από την BMP-7 , άλλες BMPs εκφράζονται στον αναπτυσσόμενο και στον ενήλικα νεφρό. Παρά το γεγονός ότι ο ρόλος τους στην προγεννητική ανάπτυξη έχει εν μέρει διερευνηθεί, η λειτουργία τους στην ομοίωση του νεφρού μετά την γέννηση παραμένει άγνωστη. Η BMP-6 είναι η πιο αποτελεσματική στην μείωση της έκφρασης των προφλεγμονωδών κυτταροκινών (137). Η μείωση της παραγωγής και ενεργοποίησης διαφόρων κυτταροκινών και αυξητικών παραγόντων αποτελεί σημαντικό βήμα στην αντιμετώπιση της οξείας αλλά και της χρόνιας νεφρικής βλάβης και για το λόγο αυτό οι BMPs μπορεί να έχουν θέση στη μελλοντική θεραπεία της χρόνιας νεφρικής νόσου. Η κατανόηση των ειδικών μηχανισμών δράσης των BMPs στους νεφρούς μπορούν να οδηγήσουν στην ανάπτυξη νέων θεραπευτικών μέσων.

#### **-Μπορούν οι BMPs να αναστρέψουν την νεφρική ίνωση;**

Νέες θεραπευτικές προσεγγίσεις απαιτούνται για να υπάρξει καθυστέρηση της εξέλιξης της χρόνιας νεφρικής νόσου. Η αποδόμηση των πρωτεϊνών της θεμέλιας ουσίας στον διάμεσο χώρο είναι δυνητικά εφικτή, ειδικά πριν οργανοποιηθεί η ουλή του διαμέσου χώρου με τη χρήση ειδικών πρωτεασών. Ο περιορισμός της νεφρικής ίνωσης προϋποθέτει την απομάκρυνση των μυοινοβλαστών του διαμέσου χώρου, που αποτελούν την κύρια πηγή των συστατικών της θεμέλιας ουσίας.

Στην χρόνια διαμεσο-σωληναριακή βλάβη δεν είναι η συνάθροιση της εξωκυττάριας θεμέλιας ουσίας per se που οδηγεί σε έκπτωση της νεφρικής λειτουργίας, αλλά κυρίως τα καταστροφικά της αποτελέσματα στα γειτονικά

κύτταρα. Πρόσφατες εξελίξεις σε διάφορα επιστημονικά πεδία έρευνας όπως είναι η βιολογία της θεμέλιας ουσίας ,η μοριακή βιολογία, η αγγειογένεση και η βιολογία των βλαστικών κυττάρων, έχουν αναγνωρίσει νέους στόχους έναντι των οποίων μπορεί να χρησιμοποιηθούν ειδικά θεραπευτικά μέσα με σκοπό την αναστροφή της νεφρικής ίνωσης.



#### 4.ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΑ- ΒΑΣΙΚΑ ΣΗΜΕΙΑ

Η κατανόηση της φυσιολογίας του οστίτη ιστού και της παθογένειας των μεταβολικών νοσημάτων των οστών απαιτεί την καλή γνώση της διαδικασίας της οστικής ανακατασκευής. Η οστική ανακατασκευή είναι η δυναμική διαδικασία ανανέωσης των μικρομονάδων των οστών με διαδοχική ενεργοποίηση και λειτουργία των οστεοκλαστών και των οστεοβλαστών με σκοπό την ανανέωση του σκελετού, την επιδιόρθωση των μικροφθορών, την ομοιοστασία του ασβεστίου και την καλύτερη προσαρμογή στις μηχανικές ανάγκες του οστού. Η ρύθμιση της ομότιμης συνεργασίας μεταξύ των κυτταρικών σειρών που ονομάζεται φαινόμενο σύζευξης υπόκειται τόσο σε συστηματικό έλεγχο όσο και έλεγχο από τοπικούς παράγοντες . Οι τοπικοί μηχανισμοί ενεργούν με την διαμεσολάβηση αυξητικών παραγόντων και κυτοκινών.

Οι βασικότεροι αυξητικοί παράγοντες είναι ο IGF-1 (ινσουλινοειδής αυξητικός παράγοντας), οι TGF(μετατρεπτικός αυξητικός παράγων) β1 και β2 και οι *BMPs* (οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες)

Οι οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs) είναι αυξητικοί παράγοντες που ανήκουν στην υπεροικογένεια των TGF-β και παράγονται στην θεμέλια ουσία του οστού. Αρχικά θεωρήθηκαν ως αυξητικοί παράγοντες που επάγουν (αυξάνουν) την μορφοποίηση(σχηματισμό) του οστού και του χόνδρου ενώ σήμερα οι BMPs θεωρούνται ότι είναι τα προωθητικά μορφογενετικά σήματα που διαμορφώνουν την ιστική αρχιτεκτονική διαφόρων οργάνων. Σπουδαίος είναι ο ρόλος των BMPs στην επαγωγή σχηματισμού νέου οστού ως και στην συντήρησή του. Λόγω δε της οστεογεννητικής δράσης τους οι BMPs έχουν αποκτήσει μεγάλο ενδιαφέρον όσον αφορά την θεραπευτική τους συμβολή στην πωρωση οστικών καταγμάτων, στην πρόληψη της οστεοπόρωσης, στην θεραπεία οδοντικών βλαβών και στην προαγωγή σχηματισμού νέου οστού γύρω από εμφυτευμένα οστικά αλλομοσχεύματα.

Οι οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs) είναι μέλη της υπερκοικογένειας των TGF-β που περιλαμβάνει μεγάλο αριθμό αυξητικών παραγόντων, Έχουν απομονωθεί περίπου 20 είδη BMPs από τις οποίες 10 είναι οι κύριες που έχουν μελετηθεί καλύτερα. Από αυτές η BMP-1 είναι μεταλλοπρωτεάση , ενώ έξι ( η BMP-2 ,BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-6, BMP-7) ανήκουν στις TGF-β και οι υπόλοιπες δεκατρείς ανήκουν σε διάφορες κατηγορίες. Η BMP-7 είναι η κυρίως δρώσα BMP στους νεφρούς. Οι BMPs είναι διμερή μόρια που αποτελούνται από πολυπεπτιδικές αλυσίδες που συνδέονται μεταξύ τους με δισουλφιδικούς δεσμούς με τον δομικό τους σκελετό όμοιο σε ποσοστό 40-50% με αυτό των TGF-β. Ο ακριβής ρόλος της BMP-7 στην γένεση και ανάπτυξη του νεφρού (νεφρογένεση) δεν είναι απόλυτα διευκρινισμένος αλλά θεωρείται ότι επειδή παίζει πρωταρχικό ρόλο στην μορφογενετική επέκταση κατά την διάρκεια της ανάπτυξης των νεφρών. Κατά την φυσιολογική νεφρική ανάπτυξη, η BMP-7 εκφράζεται αρχικά την 11<sup>η</sup> εμβρυική ημέρα στον ουρητήρα και η έκφρασή του διατηρείται σε όλη την διάρκεια της ανάπτυξης. Η BMP-7 εκφράζεται και στο μεσέγχυμα από το οποίο θα προέλθουν τα σπειράματα και τα περισσότερα τμήματα του σωληναρίου τα σπειράματα και τα περισσότερα τμήματα του σωληναρίου. Η BMP-7 πιθανόν δρά επαγωγικά , προωθώντας σήμα που ενεργοποιεί την διαφοροποίηση του μετανεφρικού μεσεγχύματος. Δρά επίσης ως παράγοντας επιβίωσης του μετανεφρικού μεσεγχύματος αναστέλλοντας αποπτωτικά σήματα. Οι νεφροί με ελλειπωμένη BMP-7 εμφανίζουν σημαντικού βαθμού ελάτωση της νεφρογένεσης, με μείωση του μεγέθους του ουρητηρικού ηθμού, απώλεια του μετανεφρικού μεσεγχύματος .

Στον νεφρό του ενήλικου έχουν βρεθεί πολλές BMPs σε ελάχιστα ανιχνεύσιμες συγκεντρώσεις (BMP-2, BMP-3, BMP-4, BMP-5, BMP-6) αλλά και η BMP-7 που βρίσκεται στον νεφρό σε μεγάλες συγκεντρώσεις. Πιο συγκεκριμένα, η BMP-7 (OP-1) εκφράζεται κυρίως στο εγγύς σωληνάριο, στα μυελικά αθροιστικά σωληνάκια αλλά και στα σπειράματα, στο ουροθήλιο της νεφρικής πυέλου και στις νεφρικές αρτηρίες όπως θα αναλυθεί παρακάτω . Αξίζει να σημειωθεί ότι ο φυσιολογικός ρόλος των BMPs στον νεφρό δεν είναι σαφής δημιουργώντας ένα

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια, Εκθέτης

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

γόνιμο πεδίο ενδιαφέροντος. Πιθανές λειτουργίες τους είναι η ρύθμιση της επιθηλιακής διαφοροποίησης, της ενδοθηλιακής λειτουργίας και της ομοιόστασης του οστού, λειτουργίες που πιθανόν επιτυγχάνονται με την διατήρηση σταθερών επιπέδων BMP-7 στον νεφρό .

Η βιολογική δραστικότητα της BMP-7 ελέγχεται σε διάφορα επίπεδα στον νεφρό . Εκκρίνεται σαν σύμπλεγμα ως ομοδιμερές αποτελούμενο από δύο κύριες προ-προ πεπτιδικές αλυσίδες που συνδεόμενη με την fibrillin-1 αποθηκεύεται στον νεφρό . Λίγα πράγματα είναι γνωστά για το πώς αποδομείται η προ-BMP-7 προς σχηματισμό της ώριμης BMP-7. Έχουν βρεθεί διάφορα μόρια που συνδέονται με την ώριμη BMP-7 που είναι θετικοί ή αρνητικοί ρυθμιστές της βιολογική δραστικότητας της BMP-7 . Οι BMP ανταγωνιστές ( Noggin, Chordin κ.λ.π) δρουν μέσω άμεσης σύνδεσής τους με τις BMPs εμποδίζοντας τις να συνδεθούν με τους υποδοχείς τους . Μια πρόσφατη δε μελέτη έδειξε ότι η USAG-1 ( γονίδιο σχετιζόμενο με τηνευαισθητοποίηση του ουροποιογεννητικού συστήματος-1) λειτουργεί σαν εξειδικευμένος ρυθμιστής της βιολογικής δραστικότητας της BMP-7 στον νεφρό . Σε αντίθεση με τους παραπάνω αρνητικούς ρυθμιστές της βιολογικής δραστικότητας της BMP-7 στον νεφρό έχει ανακαλυφθεί η Kielin/ Chordin πρωτεΐνη που είναι μια εξωκυττάρια πρωτεΐνη που προάγει την βιολογική δραστικότητα της BMP-7 ενισχύοντας την σύνδεσή της με τους υποδοχείς της. Μελέτες που έχουν γίνει σε πειραματόζωα με οξεία νεφρική ανεπάρκεια που οφειλόταν σε ισχαιμία έχουν δείξει ότι η έκφραση της BMP-7 σε επίπεδο mRNA και πρωτεΐνης στο νεφρικό ιστό (φλοιός και εξωτερικό μέρος μεελώδους μοίρας) υπολείπεται σημαντικά 6 ώρες μετά την αρχική προσβολή και παραμένει μειωμένη για 4 περίπου μέρες και η μείωση αυτή συμπίπτει με αυξημένη παραγωγή του TGF – β. Η εξωγενής χορήγηση της BMP –7 είχε ευεργετικά αποτελέσματα στον περιορισμό της έκτασης της βλάβης και στην «αναγέννηση» των επιθηλιακών σωληναριακών κυττάρων, εύρημα που υποδηλώνει ότι η BMP –7 μπορεί να είναι σημαντική για την αναγέννηση του νεφρού. Μελέτες με in situ υβριδοποίηση σε φυσιολογικό νεφρό, έχουν δείξει την παραγωγή BMP-7 mRNA στα επιθηλιακά σωληναριακά κύτταρα της έξω μεελώδους μοίρας και σε μερικά σπειραματικά κύτταρα γύρω από την

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

περιφέρεια του σπειράματος. Τα άφθονα σχετικά σημεία που εγκαθίσταται η BMP-7 στις μεμβράνες του φλοιού είναι αρκετά περισσότερα από αυτά που εγκαθίστανται στην περιοχή του μυελού. Μελέτες βιοδιαθεσιμότητας έχουν δείξει ότι η εξωγενώς χορηγούμενη ανθρώπινη BMP-7 έχει χρόνο ημίσειας ζωής περίπου 30 λεπτά, και ότι σημαντικά ποσά ραδιενεργού <sup>125</sup>I-BMP-7 μπορεί να αναβρεθούν τόσο στη φλοιώδη όσο και στη μυελώδη μοίρα του νεφρού μετά την ενδοφλέβια χορήγηση. Η ευεργετική επίδραση της BMP-7 στην πορεία της ισχαιμικής ONA σχετίζεται με τον περιορισμό του ρυθμού κυτταρικής απόπτωσης και της ενεργοποίησης των μορίων προσκόλλησης ICAM (intracellular adhesion molecule) με συνέπεια τη μείωση της συσσώρευσης των ουδετεροφίλων. Στην ισχαιμική κυρίως ONA η BMP-7 περιορίζει την νεφρική βλάβη με τους ακόλουθους τρόπους : α) περιορίζοντας τον καταρράκτη των φλεγμονωδών αντιδράσεων και την επακόλουθη ίνωση μέσω ελάττωσης της έκφρασης των προφλεγμονωδών κυτοκινών και των χυμοκινών και 2) βοηθά στην διατήρηση της νεφρικής αιματικής ροής μέσω των δράσεων της στην έκφραση της ET-2, της HO-1 και της ADORA-1. Σημαντικό είναι να τονιστεί ότι δεν είναι ακόμη γνωστό εάν οι παραπάνω μεταβολές γονιδιακής έκφρασης που παρατηρούνται υπό την επίδραση της BMP-7 in vitro παρατηρούνται και in vivo με την εξωγενή χορήγηση BMP-7 γεγονός που θα της προσέδιδε ρόλο πρόληψης της νεφρικής βλάβης. Φαίνεται επίσης ότι κυρίως η BMP-7 μειώνει την σοβαρότητα της νεφρικής βλάβης που σχετίζεται με τη φάση ισχαιμίας και επαναιμάτωσης ή με την παρουσία νεφροτοξικών παραγόντων ( π.χ έκθεση των νεφρικών σωληαρίων σε υδράργυρο) και μπορεί να αποτελέσει μια βάση για την θεραπεία της οξείας νεφρικής ανεπάρκειας. Οι BMPs (κυρίως η BMP-7) παίζουν ιδιαίτερα σημαντικό ρόλο σε παθολογικές και παθοφυσιολογικές εκδηλώσεις της ΧΝΑ ήτοι: α) νεφρική ίνωση, β)σπειραματοσκλήρυνση – πρωτεϊνουρία όπως εμφανίζονται κυρίως στην διαβητική νεφροπάθεια , την συχνότερη αιτία της ΧΝΑ, γ) δευτεροπαθής υπερπαραθυρεοειδισμός (νεφρική οστεοδυστροφία) ,δ) αδυναμική οστική νόσος και ε) αγγειακές ασβεστώσεις που κυρίως εμφανίζονται στην ΧΝΑ τελικού σταδίου.

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

Βάση πειραματικών μοντέλων μελέτης της ΧΝΑ έχει πλέον δειχτεί ότι κυρίως η BMP-7 (και λιγότερο η BMP-2 ) έχει ενεργό ρόλο στην επιβράδυνση της εξέλιξης της νεφρικής ίνωσης με ελλάτωση της εναπόθεσης εξωκυτταρίου ινώδους υλικού ενώ σε κυτταρικό επίπεδο η BMP-7 ασκεί προστατευτικό ρόλο στην διατήρηση της ακεραιότητας των νεφρικών σωληναρίων με δράση στα εγγύς σωληναριακά επιθηλιακά κύτταρα όπου ελατώνει τις προ-φλεγμονώδεις ουσίες που είναι πρόδρομες της νεφρικής ίνωσης , στα μεσαγγειακά κύτταρα ελατώνει την δράση της φιμπρονεκτίνης και στους ενεργοποιημένους διάμεσους ινοβλάστες – στην νεφρική ίνωση- αναστέλλοντας την ανάπτυξή τους.

Ο βασικός ρόλος της BMP-7 στην χρόνια νεφρική ίνωση σε κυτταρικό επίπεδο συνίσταται στην μετατροπή των επιθηλιακών σε μεσεγχυματικά κύτταρα (EMT-epithelial to mesenchymal transition) στην χρόνια νεφρική ίνωση Η BMP-7 αναστέλλει την EMT στην χρόνια νεφρική ίνωση με έναν ακόμη μηχανισμό που είναι η αυξημένη επαγωγή της E-cadherin που είναι επιθηλιακό μόριο πρόσφυσης -κλειδί μέσω αμέσου ανταγωνιστικής δράσης . Η αποτελεσματικότητα της BMP-7 έναντι της νεφρικής ίνωσης έχει φανεί σε μοντέλα νεφρικής ίνωσης (απόφραξη ουρητήρα, διαβητική νεφροπάθεια) και η δράση της ουσιαστικά συνίσταται σε αναστολή της σπειραματοσκλήρυνσης, της διαμεσοσωληναριακής ίνωσης και της συσσώρευσης εξωκυτταρίου ινώδους υλικού. Στην διαβητική νεφροπάθεια που είναι η πιο συχνή αιτία της ΧΝΑ που χαρακτηρίζεται από σπειραματοσκλήρυνση και πρωτεинуρία η υπεργλυκαιμία , η αυξημένη ενδοσπειραματική πίεση, αποτελούν τους κυριότερους παράγοντες που ενοχοποιούνται για την εμφάνιση σπειραματικής βλάβης στην εξέλιξη της οποίας συμμετέχει ο αυξητικός παράγοντας TGF-β.41,98,99 Σε πειραματικά μοντέλα πρόκλησης διαβητικής νεφροπάθειας μειώνεται σημαντικά η νεφρική παραγωγή της BMP-7 mRNA και των υποδοχών της τύπου I και II. Η εξωγενής χορήγηση BMP-7 βρέθηκε να οδηγεί σε μερική υποστροφή της υπερτροφίας των σπειραμάτων, αναστροφή της βλάβης στα ποδοκύτταρα και βελτίωση της σωληναριακής φλεγμονής και ίνωσης που έχουν ως αποτέλεσμα την επαναφορά της φυσιολογικής σπειραματικής διήθησης και ελάτωση της πρωτεинуρίας.

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Χρώμα γραμματοσειράς: Αυτόματο

Μειωμένη παραγωγή και έκφραση της BMP-7 μπορεί να οδηγήσει σε μείωση του οστικού μεταβολισμού και μειωμένη διαφοροποίηση οστεοβλαστών με συνέπεια την αύξηση των επιπέδων της παραθορμόνης (PTH) . Η παραθορμόνη προάγει την εμφάνιση ενός φαινότυπου των οστεοβλαστών με χαρακτηριστικά ινοβλάστη που οδηγεί σε συσσώρευση θεμέλιας ουσίας και ίνωση του μυελού των οστών. Η εξωγενής χορήγηση BMP-7 εξουδετερώνει την εμφάνιση των κυττάρων αυτών και ακόμα και επί παρουσίας υψηλών επιπέδων PTH, η BMP-7 προάγει την αναδιοργάνωση και αύξηση την παραγωγής του οστού. Στην αδυναμική νόσο των οστών και οξεία νεφρική ανεπάρκεια στους οποίους χορηγείται BMP-7 παρατηρείται

σημαντική μείωση των επιπέδων του φωσφόρου ορού. Η παραπάνω δράση της BMP-7 μαζί με την επίδρασή της στον φαινότυπο των αγγειακών λείων μυικών κυττάρων των αγγείων ( VSMC) την καθιστά ικανή να αναστέλλει την διαδικασία των αγγειακών ασβεστώσεων στην ΧΝΑ σε αντίθεση με την BMP-2 που δρα αντίθετα επιτείνοντας τις αγγειακές ασβεστώσεις.

Τέλος, σε πειραματικά μοντέλα έχουν δειχτεί θεραπευτικές δράσεις κυρίως της BMP-7 στην ΟΝΑ, στην ΧΝΑ, σε μοντέλα πρόκλησης αποφρακτικής ουροπάθειας , οξείας σπειραματονεφρίτιδας, νεφρίτιδας του λύκου και υπερτασικής νεφροσκλήρυνσης που δημιουργούν ελπιδοφόρες προοπτικές για το μέλλον. Αξίζει να σημειωθεί ότι η ρύθμιση της δράσης της BMP-7 (όπως μέσω USAG-1, KCP κτλ)

ίσως προσφέρει εναλλακτική προσέγγιση για την ανάπτυξη και προσθήκη νέων νεφροπροστατευτικών παραγόντων , στη φαρέτρα του κλινικού νεφρολόγου στο μέλλον.

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά: (Προεπιλεγμένη) Arial, 12 pt, Όχι Πλάγια

## 5.ΒΙΒΛΙΟΓΡΑΦΙΑ

1. **Γ.Π Λυρίτης** : Μεταβολικά νοσήματα των οστών 4<sup>η</sup> έκδοση (2007): Αθήνα.
2. **Takeda S**: Central control of bone remodeling. *Biochem Biophys Res Commun* (2005) 328(3) p.697-699.
3. **Bleuming SA**, He XC, Kodach LL, Hardwick JC, Koopman FA, Ten Kate FJ, van Deventer SJ, Hommes DW, Peppelenbosch MP, Offerhaus GJ, Li L, van den Brink GR. "Bone morphogenetic protein signaling suppresses tumorigenesis at gastric epithelial transition zones in mice.". *Cancer Research* (2007):67 (17) p. 8149–55.
- 4.**Kodach LL**, Wiercinska E, de Miranda NF, Bleuming SA, Musler AR, Peppelenbosch MP, Dekker E, van den Brink GR, van Noesel CJ, Morreau H, Hommes DW, Ten Dijke P, Offerhaus GJ, Hardwick JC. (2008). "The bone morphogenetic protein pathway is inactivated in the majority of sporadic colorectal cancers.". *Gastroenterology* 134 (2008). (5) p.1332–41
- 5.**Milano F**, van Baal JW, Buttar NS, Rygiel AM, de Kort F, DeMars CJ, Rosmolen WD, Bergman JJ, Van Marle J, Wang KK,

**Μορφοποιήθηκε:** Γραμματοσειρά:  
(Προεπιλεγμένη) Arial, Ελληνικά  
(Ελλάδας)

Peppelenbosch MP, Krishnadath KK . "Bone morphogenetic protein 4 expressed in esophagitis induces a columnar phenotype in esophageal squamous cells.". *Gastroenterology*(2007) 132 (7 ) p. 2412–21.

**6.EbaraV**, Sohei MD, Nakayama, Kohzo P. (2002) " Mechanisms for the action of bone morphogenetic proteins and regulation of their activity " *Bone* (2002) vol.27 - issue 16 – p. 10-15.

**7.Hofbauer L**, Dunstan C, Spelsberg T et al."Osteoprotegerin production by human osteoblast lineage cells is stimulated by vitamin D, bone morphogenetic protein-2, and cytokines " *Biochem. Biophys. Res* (1998). p.819-823.

**8.Miyazono K**, Maeda S, Imamura T " BMP receptor signaling transcriptional targets, regulation of signals and signaling cross talk " *Cytokine and Growth Reviews* (2005) " vol.16 issue 3 p.251-263.

**9. Guiqian Chen**, Chuxia Deng, Yi-Ping Li' "TGF- $\beta$  and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation" *Int J Biol Sci*, (2012) 8(2) p.272-288.

**10. Sykaras N**, Opperman LA Bone morphogenetic proteins: how do they function and what do they offer to the clinician *J. Oral Sci* (2003) Jun 45 (2) p.57-73.

**11.Senn, N.** "On the healing of aseptic bone cavities by implantation of antiseptic decalcified bone". *American Journal of the Medical Sciences*. (1889) 98 (3).



**12. Lacroix, P.** (1945). "Recent investigation on the growth of bone". Nature **156** (3967): 576.

**13.Urist, Marshall R.** . "Bone: formation by autoinduction". Science . (1965). 12:150 (698): 893–899.

**14.Sampath, T.K, Reddi,A.H.**"Dissociative Extraction and Reconstitution of Bone Matrix Components Involved in Local Bone Differentiation". PNAS (1983). **78** (12): 7599–7603.

**15.Johnson EE, Urist MR, Finerman GA** : Resistant nonunions and partial or complete segmental defects of long bones. Treatment with implants of a composite of human bone morphogenetic protein (BMP) and autolyzed, antigen–extracted, allogeneic(AAA) bone Clin Orthop (1992) 277 p.229-237.

**16. Schmitt JM, Hwang K, Winn SR, et al** : Bone morphogenetic proteins: an update on basic biology and clinical relevance. J Orthop Res (1999) 17 p.269-278.

**17. Constam DB & Robertson EJ** . Regulation of bone morphogenetic protein activity by prodomains and proprotein convertases. Journal of Cell Biology(1999), 144: 139-149.

**18.Spinella-Jaegle S, Roman-Roman S, Faucheu C et al.** . Opposite effects of bone morphogenetic protein-2 and transforming growth factor-beta1 on osteoblast differentiation. Bone(2001), 29 p. 323-330.

**19. Griffith DL, Keck PC, Sampath TK et al. .** Three-dimensional structure of recombinant human osteogenic protein 1: structural paradigm for the transforming growth factor beta superfamily. Proceedings of the National Academy of Sciences, USA,(1996) 93: 878-883.

**20. Tabas JA, Zasloff M, Wasmuth JJ et al. .** Bone morphogenetic protein: chromosomal localization of human genes for BMP1, BMP2A, and BMP3. Genomics,(2001) 9: 283-289.

**21.M. B. Ruzinova, and R. Benezr .** Id proteins in development, cell cycle and cancer Trends Cell Biol (2003) 13, p.410-418.

**22.T. López-Rovira, E. Chalaux, J. Massagué, J. L.Rosa. and F. Ventura** Direct binding of Smad1 and Smad4 to two distinct motifs mediates bone morphogenetic protein-specific transcriptional activation of Id1 gene. J. Biol Chem (2002) 277 p. 3176-3185.

**23. A. von Bubnoff, D. A. Peiffer, I. L. Blitz, T. Hayata,S. Ogata, Q. Zeng, M.Trunnell, and K. W. Cho** Phylogenetic footprinting and genome scanning identify vertebrate BMP response elements and new target genes Dev Biol(2005) 281, p.210-226.

**24. Sila- Asna M. Bunyaratvej A,Sakan M, Hiromichi K,** Osteoblast differentiation and bone formation gene expression in strontium-bone marrow mesenchymal stem cell Kobe J. Med. Sci.(2007), Vol. 53 p.25-35

**25. Israel DI, Nove J, Kerns KM et al. (2006).** Heterodimeric bone morphogenetic proteins show enhanced activity in vitro and in vivo. *Growth Factors*(2006), 13 p. 291-300.

**26. Groppe J, Greenwald J, Wiater E et al. .** Structural basis of BMP signalling inhibition by the cystine knot protein noggin. *Nature* (2002), 420 p. 636-642.

**27. Bahamonde ME & Lyons KM .** BMP3: to be or not to be a BMP. *Journal of Bone and Joint Surgery*,(2001) 83-A (Suppl 1) p. 56-S62.

**28.Carrington JL, Chen P, Yanagishita M et al. .** Osteogenin (bone morphogenetic protein-3) stimulates cartilage formation by chick limb bud cells in vitro. *Developmental Biology*(2001), 146: 406-415.

**29. Wang EA, Israel DI, Kelly S et al. .** Bone morphogenetic protein-2 causes commitment and differentiation in C3H10T1/2 and 3T3 cells.*Growth Factors* (2003), 9 p. 57-71.

**30.Chen TL, Bates RL, Dudley A et al. .** Bone morphogenetic protein-2b stimulation of growth and osteogenic phenotypes in rat osteoblast-like cells: comparison with TGF-beta 1. *Journal of Bone and Mineral Research* (2001), 6 p. 1387-1393.

**31. Sampath TK,** Maliakal JC, Hauschka PV et al. . Recombinant human osteogenic protein-1 (HOP-1) induces new bone formation in vivo with a specific activity comparable with natural bovine osteogenic protein and stimulates osteoblast proliferation and differentiation in vitro. *Journal of Biological Chemistry* (2002), 267 p. 20352-20362.

**32. Chen P,** Vukicevic S, Sampath TK et al. . Bovine articular chondrocytes do not undergo hypertrophy when cultured in the presence of serum and osteogenic protein-1. *Biochemical and Biophysical Research Communications* (1993), 197 p. 1253-1259.

**33. Kaneko H,** Arakawa T, Mano H et al. . Direct stimulation of osteoclastic bone resorption by bone morphogenetic protein (BMP)-2 and expression of BMP receptors in mature osteoclasts. *Bone* (2000) , 27 p. 479-486.

**34. R E Godin,** E J Robertson and A T Dudley . Role of BMP family members during kidney development *Int J Dev Biol* (1999), 43(5) p. 405-11.

**35. Jones CM,** Smith MS .Establishment of a BMP4 morphogen gradient by long range inhibition *Dev Biol* (2008) p.12-17.

**36.Vukisevic S.,** Latin V., Chen, P., Batorsky R., Reddi A.H. and Sampath K ., Localization of osteogenic protein-1 (Bone morphogenetic protein 7) during human embryonic development: high

affinity binding to basement membranes. *Biochem. Biophys. Res. Commun* (1994) 198 p. 693-700.

**37. Dewulf N.**, Verschueren, K., Lonhou O., Moren , A., Grimsby S., Van de Spiege K., Miyazono K., Huyelobroeck, D. and Ten Djike P. Distinct spatial and temporal expression patterns of two type I receptors for bone morphogenetic proteins during mouse embryogenesis. *Endocrinology* (1995) 136 p. 2652-2663.

**38. Ikeda T.**, Takahashi H., and Yoshiki S. . Cloning of rat type I receptor cDNA for bone morphogenetic protein-2 and bone morphogenetic protein-4, and the localization compared with that of the ligands. *Dev. Dynamics* (2006) 206 p. 318-329.

**39 Roelen B.A.J.**, Goumans M.-J., Van Rooijen M.A. and Mummery C.L. (2007). Differential expression of BMP receptors in early mouse development. *Int. J. Dev. Biol.* (2007) 41 p. 541-549.

**40. Dick A.**, Risau W. and Drexler, H. (1998). Expression of Smad 1 and Smad 2 during embryogenesis suggests a role in organ development. *Dev. Dynamics* (1998) 211 p. 293-305.

**41. Feijen A.**, Goumans M.-J., Van Rooijen M.A. Expression of activin subunits, activin receptors and follistatin in postimplantation mouse embryos suggests specific developmental functions for different activins. *Development* (2004) 120: 3621-3637.

**42. Orr-Urtreger A.**, Givol D., Yayon, A., Yarden, Y. and Lonai, P. Developmental expression of two murine fibroblast growth factor receptors, flg and bek. *Development* (2011) 113 p.1419-1434.

**43. Leif Oxburgh**, Aaron C. Brown, Jennifer Fetting, and Beth Hill BMP signaling in the nephron progenitor niche *Pediatr Nephrol.* (2011) 26(9)p.1491–1497.

**44. Obara- Isihara T**, Kuhlman J, Niswander L, Herzlinger D. The surface ectoderm is essential for nephric duct formation in intermediate mesoderm *Development* (2009) 126 p. 1103-1108.

**45. Davies J.A.** . Mesenchyme to epithelium transition during development of the mammalian kidney tubule. *Acta. Anat.* (1996) 156 p.187-201.

**46. Vukisevic S.**, Kopp J.B., Luyten F.P. and Sampath T.K. . Induction of nephrogenic mesenchyme by osteogenic protein1 (bone morphogenetic protein7). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* (2006) 93: 9021-9026.

**47. Dudley A.T.**, Godin R.E and Robertson E.J . Interaction between FGF and BMP signaling pathways regulates development of metanephric mesenchyme. *Genes Dev* (1999) . 13 p.1601-1613.

**48. Godin R.E.**, Takaesu N., Robertson E.J. and Dudley A.T. . Regulation of Bmp7 expression during kidney development. *Development* (1998) 125 p. 3473-3482

**49.Dudley A.T.**, Lyons K.M. and Robertson E.J. . A requirement for bone morphogenetic protein-7 during development of the mammalian kidney and eye. *Genes Dev* (1995) . 9 p. 2795- 2807.

**50.Piscione T.D.**, Yager T.D., Gupta I.R., Grinfield B., Pei Y., Attisano BMP2 and OP1 exert direct and opposite effects on renal branching morphogenesis. *Am. J. Physiol.* (1997) 273 p. 961-975.

.

**51.Miyazaki Y.**, Oshima, K., Fogo A., Hogan B.L. and Ichikawa I. Bone morphogenetic protein 4 regulates the budding site and elongation of the mouse ureter. *J. Clin. Invest.* (2000) 105 p. 863-873.

**52. Raatikanen-A Hokan A.**, Hytonen M., Tenhunen A., Sainio K. . BMP-4 affects the differentiation of metanephric mesenchyme and reveals an early anterior-posterior axis of the embryonic kidney. *Dev. Dyn.* (2000) 217 p. 146-158.

**53. Ueda H,MiyazakiY ,MatusakaT, UtsunomiyaY, KawamuraT, HosoyaT, and Ichikawa I** . Bmps in podocytes is essential for normal glomerular capillary formation *JASN* (2008) 19 (4) p.685-694.

**54.Cain J**, Hartwig S, Bertram J, Rosenblum N Bone morphogenetic protein signaling in the developing kidney: present and future (2008) Vol. 76, Issue 8, p. 831–842.

**55.J. Kopp** BMP- receptors in the kidney *Kidney International* (2000) 58,p. 2237–2238.

**56. Simon M.** Maresh J., Harris S., Hernandez J., Arar M., Expression of bone morphogenetic protein-7 mRNA in normal and ischemic adult rat kidney *Am J Physiology* (1999) 276(3) p.382-389.

**57.Nakamura J.** BMP modulators in kidney disease *Discovery Medicine John Hopkins* (2012) issue 1 p. 606-609.

**58.Tanaka M,** Endo S, Okuda T, Economides AN, Valenzuela DM, Murphy AJ, Robertson E, Sakurai T, Fukatsu A, Yancopoulos GD, Kita T, Yanagita M Expression of BMP-7 and USAG-1 (a BMP antagonist) in kidney development and injury *Kidney Int.* (2008) 73(2) p.181-91.

**59. Michael Zeisberg** Bone morphogenic protein-7 and the kidney: current concepts and open questions *Nephrology Dialysis and Transplantation* (2007) vol.21 issue 3,p. .568-573.

**60.Thadhani,** R., M. Pascual, and J.V. Bonventre. Acute renal failure *N. Engl. J. Med.* (2006) 334 p.1448–1460.

**61. Conger,** J.D., M.F. Schultz, F. Miller, and J.B. Robinette. . Responses to hemorrhagic arterial pressure reduction in different ischemic renal failure models. *Kidney Int.* (2004) 46 p.318–323.



**62. Witzgall, R., D. Brown, C. Schwarz and J.V. Bonventre.** Localization of proliferating cell number antigen, vimentin, c-Fos and clusterin in the post ischemic kidney: evidence for a heterogenous genetic response among nephron segments, and a large pool of mitotically active and differentiated cells J. Clin. Invest.(2004) 93 p.2175–2188.

**63. Brady, H.R., and G.G. Singer.** Acute renal failure Lancet. (2005) 346 p. 1533-1540.

**64. Racusen, L.C. .** Pathology of acute renal failure structure/function Correlations . Adv. Ren. Replace. Ther. (1997) 4 p.3–16.

**65. Racusen, L.C., B.A. Fivush, Y.-L. Li, I. Slatnick, and K. Solez. .** Dissociation of tubular cell detachment and tubular cell death in clinical and experimental “acute tubular necrosis”. Lab. Invest. (2001) 64 p.546–556.

**66. Springer, T.A.** Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multiple paradigm. Cell. (2004) 76 p.301–314.

**67. Klausner, J.M., F.S. Paterson, G. Goldman, L. Kobzik, C. Rodzen, R. Lawrence, C.R. Valeri, D. Shapiro, and H.B. Hechtman. .** Postischemic renal injury is mediated by neutrophils and leukotrienes. Am. J. Physiol. (1999) 256: p.794-802.

- 68. Hammerman, M.R., and S.B. Miller.** . Therapeutic use of growth factors in renal failure. *J. Am. Soc. Nephrol.* (2004) 5 p.1–11.
- 69. Harris, R.C.** . Growth factors and cytokines in acute renal failure. *Adv. Ren. Replace. Ther.* (1997) 4 p. 43–53.
- 70.Helder, M.N., E. Ozkaynak, T.K. Sampath, F.P. Luyten, V. Latin, H.,Oppermann, and S. Vukicevic.** . Expression pattern of osteogenic protein-1(bone morphogenetic protein-7) in human and mouse development. *J. Cytochem.* 43 (1995) p.1035–1043.
- 71.Slobodan Vukicevic, Vanja Basic, Dunja Rogic, Nikolina Basic, Mei-Shu Shih, Alyssa Shepard, Don Jin, Bosukonda Dattatreyamurty, William Jones, Haimanti Dorai, Susan Ryan, Denise Griffiths, James Maliakal, Mislav Jelic, Maria Pastorcic, Ana Stavljenic, and T. Kuber Sampath** Osteogenic Protein–1 (Bone Morphogenetic Protein–7) reduces severity of injury after ischemic acute renal failure in rat *Am. J. Clin. Invest.* (1998) 102(1) p.202-214.
- 72. Ozkaynak, E., P.N.J. Schnegelsberg, and H. Oppermann.** . Murine osteogenic protein-1 (OP-1): high levels of mRNA in kidney . *Biochem. Biophys. Res. Commun.*(2001) 179 p. 116–123.
- 73. Villanueva S., Cespedes C., Gonzalez A., Vio C.,** bFGF induces an earlier expression of nephrogenic proteins after ischemic acute renal failure *JASN* (2006) vol.291 (6) p.1677-1687.

**74. Stephen E Gould,** Maria Day, Simon S Jones and Haimanti Dora  
BMP-7 regulates chemokine, cytokine, and hemodynamic gene  
expression in proximal tubule cell- *Kidney International* (2012) 61, p.  
51–60.

**75. Norton JD,** Deed RW & Craggs G et al. Id helix-loop-helix  
proteins in cell growth and differentiation. *Trends Cell Biol* (2008),8  
p. 58–65.

**76. Kitten AM,** Kreisberg JI & Olson MS. Expression of osteogenic  
protein-1 mRNA in cultured kidney cells. *J Cell Physiol* (2009) 181  
p. 410–415.

**77. Tesch GH,** Schwarting A & Kinoshita K et al. Monocyte  
chemoattractant protein-1 promotes macrophage-mediated tubular  
injury, but not glomerular injury, in nephrotoxic serum nephritis. *J  
Clin Invest* (2009) 103 p. 73–80.

**78. Safirstein R,** DiMari J & Megyesi J et al. Mechanisms of renal  
repair and survival following acute injury. *Semin Nephrol* (2008) 18  
p. 519–522.

**79. Bonventre J.,** Weineberg J., recent advances in the  
pathophysiology of acute renal injury *JASN* (2003) (14) p.2199-  
2210.

**80. KDQI/NKF** (2009) Definition and classification of CKD.

**81. Hruska K.**, The role of BMP-7 in chronic renal disease (2012) Research Grants Labome.org USA p.15-19.

**82. Kalluri P.**, Zeiseberg M., Exploring the connection between chronic renal fibrosis and bone morphogenetic protein -7 Histol Histopathol (2003) (18) p.217-224.

**83. Remuzzi G. and Bertani T.** Pathophysiology of progressive nephropathies. N. Engl. J. Med. 339 (1998) p.1448-1456.

**84. Mutsaers S.E.**, Bishop J.E., McGrouther G. and Laurent G.J. Mechanisms of tissue repair: from wound healing to fibrosis. Int. J. Biochem. Cell Biol. (2007) 29 p. 5-17.

**85. Nodder S. and Martin P.** Wound healing in embryos: a review. Anat Embryol (Berl) 195 (2007) p. 215-228.

**86.Strutz F.** and Muller G.A. . Interstitial pathomechanisms underlying progressive tubulointerstitial damage. Kidney Blood Press. Res. (2009) 22, p.71-80.

**87.Zeisberg M.**, Strutz F. and Muller G.A. . Role of fibroblast activation in inducing interstitial fibrosis. J. Nephrol. 13 Suppl 3, (2000) p.111-120.

**88. Segerer S.,** Nelson P.J. and Schlondorff D. Chemokines, chemokine receptors, and renal disease: from basic science to pathophysiologic and therapeutic studies. J. Am. Soc. Nephrol. (2000) 11,p. 152-176.

**89. Strutz F. and Muller G.A.** Interstitial pathomechanisms underlying progressive tubulointerstitial damage. Kidney Blood Press. Res. (2009) 22, p.71-80.

**90. Okada H.,** Inoue T., Suzuki H., Strutz F. and Neilson E.G. (2000). Epithelial-mesenchymal transformation of renal tubular epithelial cells in vitro and in vivo. Nephrol Dial Transplant (2000) 15,p. 44-46.

**91. Hay E.D.** and Zuk A. . Transformations between epithelium and mesenchyme: normal, pathological, and experimentally induced.Am. J. Kidney Dis. (2005) 26, p. 678-690.

**92.Morrissey J.,** Hruska K., Guo G., Wang S., Chen Q. and Klahr S. Bone morphogenetic protein-7 improves renal fibrosis and accelerates the return of renal function. J. Am. Soc. Nephrol. 13 Suppl 1, (2002) p.14-21.

**93.Wang S.N.,** Lapage J. and Hirschberg R. Loss of tubular bonemorphogenetic protein-7 in diabetic nephropathy.J.Am. Soc.Nephrol. (2001) 12,p. 2392-2399.

**94. Wang. S,** Hirschberg R., BMP-7 antagonizes TGF- $\beta$ -dependent fibrogenesis in mesangial cells AJP (2003) vol.284,issue 5,p. 1006-1013

.

**95. Zeisberg M.,** Maeshima Y., Mosterman B. and Kalluri R. Renal fibrosis: extracellular matrix microenvironment regulates migratory behavior of activated tubular epithelial cells. Am. J. Pathol. (2002) 160,p. 2001-2008.

**96.Ralf Weiskirchen,** Steffen K. Meurer, Olav A. Gressner, Jens Herrmann, Erawan Borkham-Kamphorst, Axel M.Gressner BMP-7 as antagonist of organ fibrosis Frontiers in Bioscience (2009) 14, p. 4992-5012.

**97.S. Saika,** S. Kono-Saika, Y. Ohnishi, M. Sato,Y.Muragaki,A. Ooshima, K. C. Flanders, J. Yoo, M. Anzano, C.Y. Liu, W. W. Kao, and A.B. Roberts : Smad3 signaling is required for epithelial-mesenchymal transition of lens epithelium after injury. Am J Pathol (2004) 164,p. 651–663.

**98. K. A. Hruska,** G. Guo, M. Wozniak, D. Martin, S.Miller, H. Liapis, K. Loveday, S. Klahr, T. K. Sampath and J. Morrissey(2000): Osteogenic protein-1 prevents renal fibrogenesis associated with ureteral obstruction. Am J Physiol Renal Physiol (2000) 280, p. 130-143.

**99. M. Zeisberg, C. Bottiglio, N. Kumar, Y. Maeshima, F. Strutz, G. A. Müller and R. Kalluri :** Bone morphogenetic protein-7 inhibits progression of chronic renal fibrosis associated with two genetic mouse models. *Am J Physiol Renal Physiol* 285, p.1060-1067.

**100. H. Sugimoto, G. Grahovac, M. Zeisberg and R. Kalluri :** Renal fibrosis and glomerulosclerosis in a new mouse model of diabetic nephropathy and its regression by bone morphogenetic protein-7 and advanced glycation end product inhibitors. *Diabetes* (2007) 56, p. 1825-1833.

**101. T. López-Rovira, E. Chalaux, J. Massagué, J. L. Rosa, and F. Ventura** Direct binding of Smad1 and Smad4 to two distinct motifs mediates bone morphogenetic protein-specific transcriptional activation of Id1 gene. *J Biol Chem* (2002) 277, p.3176-3185.

**102. Yang H** BMP-2 suppresses renal interstitial fibrosis by regulating epithelial-mesenchymal transition *J. Cell. Biochem* (2011), 112(9) p. 2558-65.

**103. Wang S, Caestecker M, Kopp J, Mitu G, Lapage J, Hirschberg R.** Renal bone morphogenetic protein-7 protects against diabetic nephropathy. *J Am Soc Nephrol* (2006) 17:p.2504-2512.

**104. 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 p.3442- 3450.

**105.Mitu G**, Hirschberg R. Bone morphogenetic protein-7 (BMP7) in chronic kidney disease. *Front Biosci* (2008)13 p. 4726-4739.

**106. Hamdy NA.** The spectrum of renal bone disease. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10 Suppl 4 p. 37-43.

**107. Nomura S**, Ogawa Y & Osawa G. et al Myelofibrosis secondary to renal osteodystrophy. *Nephron* 1996; 72: p. 683-687.

**108. Rao DS**, Shih MS & Mohini R. Effect of serum parathyroid hormone and bone marrow fibrosis on the response to erythropoietin in uremia. *N Engl J Med* 1993; 328: p. 171-175.

**109. Esther A González**, Richard J Lund, Kevin J Martin, John E McCartney, M Mehrdad Tondravi, T Kuber Sampath and Keith A Hruska Treatment of a murine model of high-turnover renal osteodystrophy by exogenous BMP-7 *Kidney International* (2002) 61, p. 1322-1331.

**110.Hruska KA**, Teitelbaum S: New features of renal osteodystrophy. *N Engl J Med* (1995) 333 p. 166-174.

**111.Hruska KA:** Pathophysiology of renal osteodystrophy. *Pediatr Nephrol* (2000) 14: 636-640.

**112.Lund RJ** et al (2004) Successful treatment of an adynamic bone disorder with bone morphogenetic protein-7 in a renal ablation model *J Am Soc Nephrol.* 2004 ;15(2):p. 359-69.



**113. Tyson KL**, Reynolds JL, McNair R, Zhang Q, Weissberg PL, Shanahan CM. Osteo/chondrocytic transcription factors and their target genes exhibit distinct patterns of expression in human arterial calcification. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* (2003). ; 23 p. 489–494.

**114. Komori T**, Yagi H, Nomura S, Yamaguchi A, Sasaki K, Deguchi K, Shimizu Y, Bronson RT, Gao Y-H, Inada M, Sato M, Okamoto R, Kitamura Y, Yoshiki S, Kishimoto T. Targeted disruption of *Cbfa1* results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell*. 1997; 89 p. 755–764.

**115. Akiyama Y**, Akiyama H, Rowitch DH, deCrombrughe B. Sox9 is required for determination of the chondrogenic cell lineage in the cranial neural crest. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100 p. 9360–9365.

**116. Karaplis, AC**. Embryonic development of bone and the molecular regulation of intramembranous and endochondral bone formation. In: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA, eds. *Principles of Bone Biology*. San Diego: Academic Press; 2002 p. 33–58.

**117. Nakaoka T**, Gonda K, Ogita T, Otawara-Hamamoto Y, Okabe F, Kira Y, Hari K, Miyazone K, Takuwah Y, Fujita T. Inhibition of rat vascular smooth muscle proliferation in vitro and in vivo by bone morphogenetic protein-2. *J Clin Invest*. 1997; 100 p. 2824–2832.

**118.Wong GA**, Tang V, El-Sabeawy F, Weiss RH. BMP-2 inhibits proliferation of human aortic smooth muscle cells via p21. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2003; 284: p. 972–979.

**119.Proudfoot D**, Skepper JN, Hegyi L, Bennett MR, Shanahan CM, Weissberg PL. Apoptosis regulates human vascular calcification in vitro: evidence for initiation of vascular calcification by apoptotic bodies. *CircRes.* (2000) p.12-21.

**120.Schoppet M**, Al Fakhri N, Franke FE, Katz N, Barth PJ, Maisch B, Preissner KT, Hofbauer LC. Localization of osteoprotegerin, tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand, and receptor activator of nuclear factor- $\kappa$ B ligand in Monckeberg's sclerosis and atherosclerosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89: p. 4104–4112.

**121.Hruska K.**, et al Bone morphogenetic proteins in vascular calcification *Circulation Res.*(2005) 95 p. 105-114.

**122.Zebboudj AF**, Shin V, Boström K. Matrix GLA protein and BMP-2 regulate osteoinduction in calcifying vascular cells. *J Cell Biochem.* 2003; 90 p.756–765.

**123. CM, Cary NRB**, Salisbury JR, Proudfoot D, Weissberg PL, Edmonds ME. Medial localization of mineralization-regulating proteins in association with Monckeberg's sclerosis: Evidence for smooth muscle cell-mediated vascular calcification. *Circulation.* 1999; 100 p. 2168–2176.

**124. Dorai H, Sampath TK.** Bone morphogenetic protein-7 modulates genes that maintain the vascular smooth muscle cell phenotype in culture. *J Bone and Joint Surg.* 2001, 83: p.70–78.

**125. Towler DA,** Bidder M, Latifi T, Coleman T, Semenkovich CF. Diet-induced diabetes activates an osteogenic gene regulatory program in the aortas of low density lipoprotein receptor-deficient mice. *J Biol Chem.* 1998; 273 p.30427–30434.

**126. Davies MR,** Lund RJ, Mathew S, Hruska KA. Low turnover osteodystrophy and vascular calcification are amenable to skeletal anabolism in an animal model of chronic kidney disease and the metabolic syndrome. *J Am Soc Neph.* 2005 16 p.917–928.

**127. Yang H,** Curinga G, Giachelli CM. Elevated extracellular calcium levels induce smooth muscle cell matrix mineralization in vitro. *Kidney Int.* 2004, 66 p. 2293–2299.

**128. Manson S.,** et al The BMP-7–Smad1/5/8 pathway promotes the repair of the kidney following obstruction-induced renal injury\_ *J. Urol.*(2011) 185 (6) p.2523-2530

**129. Abboud HE.** Growth factors in glomerulonephritis. *Kidney Int* 1993; 43 p.252-267.

**130. Sanjeevkumar R. Patel1** and Gregory R. Dressler . BMP-7 signaling in renal development and disease. *TRENDS in Molecular Medicine.* 2005,11 p.512-518.

**131. Bramlage C.**, et al Bone- morphogenetic protein-7 (BMP-7) is decreased in hypertensive nephrosclerosis BMC Nephrology (2011) 121(6) p.2471-2479.

**132. Bramlage C.**, et al The role of BMP-5 in human nephrosclerosis J. Nephrol (2011) 24 (5) p.647-655.

**133. Lin J**, Patel SR, Cheng X, Cho EA, Levitan I, Ullenbruch M, Phan SH, Park JM, Dressler GR. Kielin chordin protein a novel enhancer of BMP signaling attenuates renal fibrotic disease Nat Med. 2005 11(4) p.387-393.

**134. Zhang Y**, Zhang Q BMP-7 and Gremlin new emerging therapeutic targets in diabetic nephropathy Biochem Biophys Res Commun.(2009) May 22;383(1) p.1-3.

**135. Tanaka M**, Endo S, Okuda T, Economides AN, Valenzuela DM, Murphy AJ, Robertson E, Sakurai T, Fukatsu A, Yancopoulos GD, Kita T, Yanagita Expression of BMP-7 and USAG-1 (a BMP antagonist) in kidney development and injury Kidney Int.(2008) 73 (2) p.181-191.

**136. Yanagida M** et al Uterine sensitization-associated gene-1 (USAG-1), a novel BMP antagonist expressed in the kidney, accelerates tubular injury J. Clin. Invest.(2006) 116(1) p.70-79.

**137. Dendooven A**, van Oostrom O, van der Giezen DM, Leeuwis JW, Snijckers C, Joles JA, Robertson EJ, Verhaar MC, Nguyen TQ,

Goldschmeding R Loss of endogenous BMP-6 aggravates renal fibrosis Am J Pathol. (2011) 178(3)p.1069-79.

